

A

Αρ. εიც.: 472 2004



420

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ**

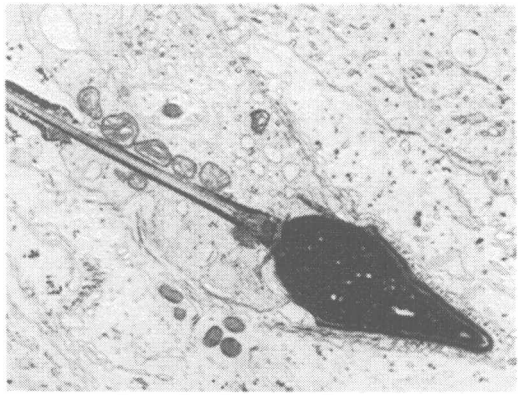
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Δ. Ε. ΛΩΛΗΣ

ΟΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. Κ. ΓΙΑΝΝΑΚΟΠΟΥΛΟΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ ΤΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ
ΣΕ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΟΡΧΕΩΝ**



ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Μ. ΜΠΑΛΤΟΓΙΑΝΝΗΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΟΥΡΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2000





ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΔΙΔΑΚΤΙΚΩΝ ΒΙΒΛΙΩΝ (ΙΤΥΣΕ)

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

171/2001



ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

« 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 »

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Λώλης,

Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Επιβλέπων

Ξενοφών Γιαννακόπουλος,

Επίκουρος Καθηγητής Ουρολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Μέλος

Ιωάννης Γεωργίου,

Επίκουρος Καθηγητής Γενετικής – Μαιευτικής και Γυναικολογίας
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Μέλος

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Λώλης,

Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Επιβλέπων

Επαμεινώνδας Τσιάνος,

Καθηγητής Παθολογίας, Γαστρεντερολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Μέλος

Ιωάννης Χατζής,

Καθηγητής Δερματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Μέλος

Ξενοφών Γιαννακόπουλος,

Επίκουρος Καθηγητής Ουρολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Μέλος

Ιωάννης Γεωργίου,

Επίκουρος Καθηγητής Γενετικής – Μαιευτικής και Γυναικολογίας
Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων. Μέλος

Κωνσταντίνος Ζηκόπουλος,

Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων. Μέλος

Γεώργιος Μακρυδήμας,

Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων. Μέλος

SEM ERENA

SEM ALM

SEM JONAS HOU

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι ερευνητές υπογραμμίζουν αρχικά την αξία της εξωσωματικής γονιμοποίησης και ιδιαίτερα στην σημερινή εποχή την μικρογονιμοποίηση στο να υπερβεί τα προβλήματα της ανδρικής υπογονιμότητας, αλλά τονίζουν ότι πρέπει να διενεργείται διαβαθμιζόμενος έλεγχος του ανδρικού παράγοντα.

Η μορφολογία των σπερματοζωαρίων σύμφωνα με αυστηρά κριτήρια έχει πλέον αποκτήσει παγκόσμια εμβέλεια αλλά οι ανωμαλίες που χαρακτηρίζουν τα σπερματοζωάρια έχουν μόνο κατά ένα τμήμα διευκρινισθεί πλήρως.

Η υποβοηθούμενη γονιμότητα στην Ελλάδα τα τελευταία χρόνια έχει εξελιχθεί τόσο όσο και σε άλλες χώρες του εξωτερικού. Στον τομέα αυτό πρωτοπόρος υπήρξε η Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με την δημιουργία, ήδη από το 1992, του Τμήματος Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής όπου εκτελείται σημαντικό ερευνητικό και κλινικό έργο πάνω σε αυτό το τόσο εξειδικευμένο όσο και σπουδαίο αντικείμενο.

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στο τμήμα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κατά το χρονικό διάστημα από Ιανουάριο 1996 έως και Απρίλιο 2000.

Το θέμα αφορά στην μελέτη της χρωματίνης των σπερματοζωαρίων σε παθολογικές καταστάσεις των όρχεων.

Τα δείγματα που ελήφθησαν προήλθαν από ασθενείς που παρακολουθούνταν στην Ουρολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Στο σημείο αυτό θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Διευθυντή της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Καθηγητή κ. Δημήτριο Λώλη που με τίμησε με την ανάθεση του θέματος αυτής της μελέτης, αλλά και με την

βαθιά επιστημονική του γνώση και πείρα καθώς και την παιρική του καθοδήγηση με βοήθησε στην διαδικασία της ολοκλήρωσης.

Ευχαριστώ θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή Γενετικής – Μαιευτικής και Γυναικολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Ιωάννη Γεωργίου που, ως μέλος της τριμελούς επιτροπής, στάθηκε ακούραστα δίπλα μου και με την πλατειά του κατάρτιση στο αντικείμενο αλλά και με την ειλικρινή και φιλική του διάθεση με στήριξε στην εκτέλεση της μελέτης.

Θερμές ευχαριστίες ανήκουν επίσης και στον Επίκουρο Καθηγητή και Διευθυντή της Ουρολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Ξενοφώντα Γιαννακόπουλο που, ως μέλος της συμβουλευτικής επιτροπής, συνέβαλε τα μέγιστα στην προσπάθεια μου, στην καθοδήγηση και του σχεδιασμό της μελέτης. Η ειλικρινή αγάπη και η εμπιστοσύνη που έδειξε από την αρχή της ειδίκευσης μου, οι πολύτιμες συμβουλές και οι χρήσιμες οδηγίες του θα αποτελούν για μένα ανεκτίμητα εφόδια για την μετέπειτα πορεία μου.

Ευχαριστώ επίσης θερμά τον Καθηγητή Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Γρηγόριο Αντωνιάδη για την βοήθεια του στην αναζήτηση δειγμάτων σπάνιων περιστατικών που συμπεριλαμβάνονται στην μελέτη.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Καθηγητή Ουρολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Νικόλαο Σοφικίτη για τις πολύτιμες υποδείξεις και εξειδικευμένες επισημάνσεις του.

Επιπρόσθετα, ευχαριστώ θερμά την εξαιρετη συνάδελφο και φίλη κα. Παναγιώτα Ζαγοριανάκου Ιατρό του Παθολογοανατομικού Τμήματος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε για την αξιολόγηση των δειγμάτων.

Ακόμη θέλω να ευχαριστήσω την κα. Αλεξάνδρα Μπέλλου βοηθό και παρασκευάστρια του Τμήματος Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων η οποία συνέβαλε, με μεγάλη υπομονή, στην επεξεργασία και διατήρηση των δειγμάτων.

Τελειώνοντας θέλω να ευχαριστήσω και την κα. Αφροδίτη Κατσαράκη υπεύθυνη της στατιστικής υπηρεσίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, η οποία με βοήθησε σημαντικά τόσο στην στατιστική ανάλυση όσο και στην αξιολόγηση των διαφόρων παραμέτρων των δειγμάτων της μελέτης.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	21
ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΑΝΔΡΑ	25
ΟΡΧΕΙΣ	29
Εμβρυολογία	29
Ανατομία	37
Σχήμα - Θέσεις - Σχέσεις	37
Αγγεία - Νεύρα	40
Υφή	42
Ιδίως χιτώνας του όρχι	42
Παρέγχυμα	43
Στρώμα	55
Κύτταρα διάμεσου χώρου	55
Φυσιολογία	57
Παθολογία	67
Ορχίτιδα	67
Επιδιδυμίτιδα	67
Κρυπορχία	68
Συστροφή	71
Κιρσοκήλη	73
Υδροκήλη	75
Ελεφαντίαση	77
Γάγγραινα Di Fournier	77
Νεοπλάσματα	78
ΣΠΕΡΜΑ	83
Φυσιολογία	83
Ανάλυση του σπέρματος	89
Μακροσκοπική ανάλυση	90
Μικροσκοπική ανάλυση	92
Βιοχημική ανάλυση	106
Ανοσοβιολογική ανάλυση	109
Δοκιμασία διαπίδυσης τραχηλικής βλέννας	110
Δοκιμασία διεϊσδυσης σε ετερόλογο ωάριο	111

Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ - ΜΕΘΟΔΟΣ	113
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	119
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	125
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	137
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	139
SUMMARY	141
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	143

ΕΡΓΟ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια σχεδόν όλοι οι ερευνητές που ασχολούνται με την αξιολόγηση της ποιότητας του σπέρματος, έδειξαν μεγάλη ευαισθησία στη σωστή εκτίμηση της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων, επειδή κατανοήθηκε σημαντικά ο σπουδαιός ρόλος της παραμέτρου αυτής στη γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος. Η ευαισθησία αυτή και η δυνατότητα χρησιμοποίησης ηλεκτρονικών υπολογιστών και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου οδήγησαν στην παροχή πολλών πληροφοριών όσον αφορά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των σπερματοζωαρίων (1, 2, 3).

Η μορφολογία των σπερματοζωαρίων θεωρείται σήμερα μια από τις σημαντικότερες παραμέτρους στην εκτίμηση της δυνητικής γονιμότητας ενός δείγματος σπέρματος. Η σπουδαιότητα της παραμέτρου αυτής φαίνεται από το γεγονός ότι οι υπογόνιμοι άνδρες παρουσιάζουν πολύ υψηλότερη εκατοστιαία αναλογία σπερματοζωαρίων με παθολογική μορφολογία από ότι οι γόνιμοι άνδρες. Τα σπερματοζωάρια με παθολογική μορφολογία εξάλλου εμφανίζουν διαταραχές της κινητικότητας, δεν μπορούν να περάσουν με ευκολία την ωοθυλακιορρηκτική τραχηλική βλέννα και το γυναικείο γεννητικό σύστημα, και παρουσιάζουν ελαττωμένη διεισδυτική ικανότητα στα κατάλληλα προετοιμασμένα ωάρια από Hamsters. Η μορφολογία των σπερματοζωαρίων επιπλέον, παρουσιάζει την υψηλότερη θετική συσχέτιση με το ποσοστό επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης των ωαρίων από ότι οι άλλες παράμετροι του σπέρματος. Τέλος σε περίπτωση εγκυμοσύνης από σπέρμα με πολύ αυξημένη αναλογία σπερματοζωαρίων με παθολογική μορφολογία τα ποσοστά αυτόματων αποβολών είναι ιδιαίτερα υψηλά (4, 5).

Το σπερματοζωάριο με παθολογική μορφολογία μπορεί να παρουσιάζει ανωμαλία στην κεφαλή, τον αυχένα και την ουρά, να έχει πρωτοπλασματικό υπόλειμμα ή πολλαπλές μορφολογικές ανωμαλίες. Στις μορφολογικές ανωμαλίες της κεφαλής για παράδειγμα

περιλαμβάνονται η μεγάλη, η μικρή, η επιμηκυνσμένη, η άμορφη, η διπλή και η απιοειδής κεφαλή. Πρόσφατες μελέτες προτείνουν ότι η συγκέντρωση της χρωματινής στα σπερματοζώαρια είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί σαν παράγοντας εκτίμησης της μορφολογίας του σπέρματος. Για να αναδειχθούν αυτές οι βλάβες στα σπερματοζώαρια στο εργαστήριο έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες χρωστικές. Η ικανότητα σύνδεσης αυτών των χρωστικών φαίνεται να αντανakλά ανωμαλίες στην στοίβαση της χρωματινής. Όσο πιο χαλαρή είναι η στοίβαση αυτής της χρωματινής τόσο ευκολότερη είναι η προσκόλληση των ειδικών χρωστικών. Αντιθέτως ο ώριμος πυρήνας στα σπερματοζώαρια έχει χαμηλή χημική συγγένεια με τις χρωστικές. Είναι γνωστό επίσης ότι οι κύριες παράμετροι που σχετίζονται με την ποιότητα του σπέρματος, τον βαθμό και το στάδιο ωρίμανσης του είναι η κινητικότητα, η μορφολογία και ο αριθμός των σπερματοζωαρίων. Είναι ακόμη γνωστό ότι πολύ μεγαλύτερο ρόλο παίζει η μορφολογία των σπερματοζωαρίων (6, 7, 8).

Η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε για να εκτιμηθεί αυτή η μορφολογία των σπερματοζωαρίων όχι από δείγματα σπέρματος φαινομενικά φυσιολογικά και χωρίς υπόστρωμα κάποιας παθολογίας του οργάνου παραγωγής των σπερματοζωαρίων αλλά όλα τα δείγματα της μελέτης έχουν ληφθεί από άνδρες όπου παρουσίαζαν κάποιου τύπου παθολογία των όρχεων.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων μετά από τον κλασικό και τυπικό έλεγχο του σπερμοδιαγράμματος και την χρώση δειγμάτων με κατάλληλες χρωστικές ουσίες ώστε να αποτιμηθεί τελικά ο βαθμός των αλλοιώσεων στα διάφορα στάδια της σπερματογένεσης.

Στο γενικό μέρος γίνεται ανασκόπηση των σύγχρονων βιβλιογραφικών δεδομένων για την λειτουργική ανατομική, την φυσιολογία και τις διάφορες παθολογικές καταστάσεις των όρχεων. Στην συνέχεια γίνεται ανάλυση σε ότι αφορά το σπέρμα, τις διάφορες τεχνικές ανάλυσης του και προσέγγισης παθολογικών ευρημάτων.

Στο ειδικό μέρος παρατίθεται το υλικό των ασθενών που υποβλήθηκαν σε αυτήν την μελέτη, οι τεχνικές που ακολουθήθηκαν

στην προετοιμασία και αξιολόγηση των δειγμάτων σπέρματος με συγκεκριμένες χρωστικές τεχνικές.

Τέλος ακολουθεί η συζήτηση και ο συσχετισμός των ευρημάτων με τα Διεθνή και τα Ελληνικά Βιβλιογραφικά δεδομένα ως προς την μελέτη της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων, η διατύπωση των συμπερασμάτων καθώς και οι βιβλιογραφικές αναφορές.

ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΑΝΔΡΑ

Το γεννητικό σύστημα του άνδρα αποτελείται από τους γονάδες (όρχεις), τις σπερματικές οδούς, από μερικούς αδένες προσαρτώμενους και από τα έξω γεννητικά όργανα (9).

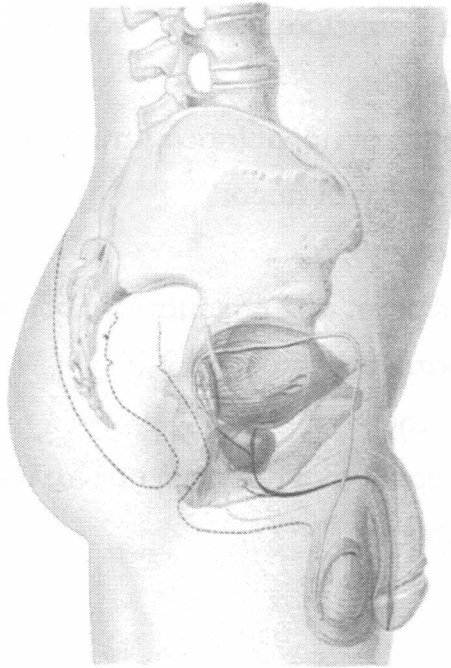
Αυτό το σύστημα έχει ως εξής (φωτογραφία 1):

- I. Γονάδες ή όρχεις
- II. Σπερματικοί οδοί
 1. Ευθεία – εσπειραμένα σωληνάρια και μεσαύλιο
 2. Επιδιδυμίδες
 3. Εκφορητικοί πόροι (σπερματικοί τόνοι)
 4. Εκσπερματικοί πόροι
 5. Κοινή ουρήθρα
- III. Αδένες προσαρτώμενοι στις σπερματικές οδούς
 1. Σπερματοδόχες κύστεις
 2. Προστάτης
 3. Βολβουρηθραιοί αδένες ή αδένες του Cowper
- IV. Έξω γεννητικά όργανα
 1. Πέος
 2. Όσχεο
- V. Εμβρυϊκά υπολειπόμενα όργανα
 1. Απόφυση του όρχι ή υδατίδα κύστη του Morgani
 2. Απόφυση της επιδιδυμίδας ή μισχωτή κύστη επιδιδυμίδας
 3. Παραεπιδιδυμίδα ή όργανο του Giraldes
 4. Πλανητικοί πόροι (σωληνάρια ή σωματία)

Οι όρχεις τοποθετημένοι μέσα στο όσχεο και έξω από την κοιλιακή κοιλότητα έχουν διπλή λειτουργία, να παράγουν γεννητικά κύτταρα (σπερματοζώαρια) και να εκκρίνουν ανδρικές ορμόνες (ανδρογόνα).

Οι σπερματικοί οδοί ξεκινούν από τον όρχι με τα ευθεία και εσπειραμένα σωληνάρια και το μεσαύλιο, συνεχίζουν με την επιδιδυμίδα, τον σπερματικό τόνο, τον εκσπερματικό πόρο και τέλος την

ουρήθρα, η οποία αντιπροσωπεύει εκτός από το αρχικό τμήμα της ένα πόρο κοινό και για τις σπερματικές οδούς και για το ουροποιητικό σύστημα. Οι σπερματικές οδοί εκτός να επιτρέπουν και να διευκολύνουν την διέλευση των σπερματοζωαρίων από την περιοχή παραγωγής των (όρχεις) προς τα έξω, συμμετέχουν και στην παραγωγή του σπερματικού υγρού μέσω της χαρακτηριστικής εκκριτικής λειτουργίας του επιθηλίου αυτών.



Φωτογραφία : 1

Γεννητικό σύστημα του άνδρα (Balboni 1982).

Οι προσαρτώμενοι στις σπερματικές οδούς αδένες, δηλαδή, οι σπερματοδόχες κύστεις, ο προστάτης και οι βολβουρηθραιοί αδένες (αδένες του Cowper), είναι οι κύριοι υπεύθυνοι για την παραγωγή του σπερματικού υγρού το οποίο αποτελεί ένα φυσικό μέσο της μεταφοράς, της επιβίωσης και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων. Το σπερματικό υγρό στο σύνολο μαζί με τα σπερματοζωάρια αποτελεί το σπέρμα.

Τα έξω γεννητικά όργανα τέλος, αντιπροσωπεύονται από όργανο της συνουσίας (πέος), όπου στην κορυφή του (βάλανος) εκφύεται η ουρήθρα και από το όσχεο στο οποίο είναι τοποθετημένοι οι όρχεις και μέρος των σπερματικών οδών.

Στον όρχι και στο αρχικό τμήμα των σπερματικών οδών μπορεί να υπάρχουν και μικροί σχηματισμοί (υπολειπόμενα όργανα) εμβρυϊκής προέλευσης, τα συνηθέστερα εκ των οποίων είναι η απόφυση μισχωτή ή όχι του όρχι (κύστη Morgani) και της επιδιδυμίδας, η παραδιδυμίδα (όργανο του Giraldes) και οι πλανητικοί πόροι (σωληνάρια ή σωμάτια).

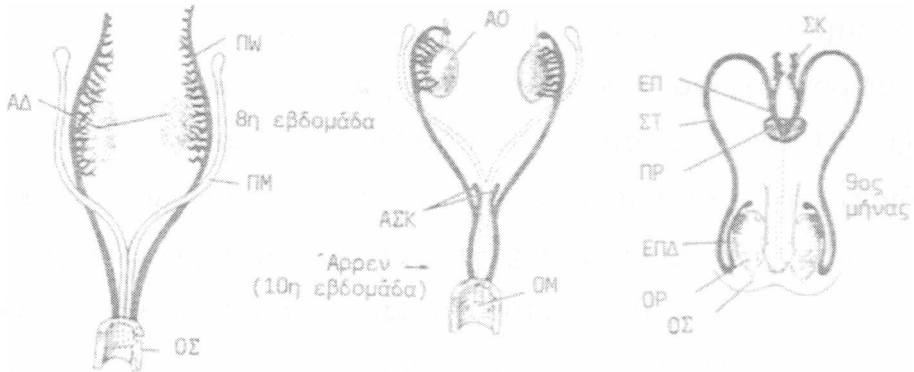
ΟΡΧΕΙΣ

ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ

Τα περισσότερα από τα στοιχεία τα οποία απαρτίζουν το γεννητικό σύστημα, εμβρυολογικά προέρχονται από άλλα συστήματα. Η διαφοροποίηση και προσαρμογή της λειτουργίας των στη νέα αποστολή είναι δευτερογενής και εμφανίζεται σε σχετικά καθυστερημένο στάδιο ανάπτυξης. Η ανάπτυξη στα αρχικά στάδια των στοιχείων αυτών, αφού έχουν διαφορετική αποστολή, είναι ανεξάρτητη του φύλου, εκτός όμως από αυτό και το έμβρυο επίσης, στα στάδια αυτά μορφολογικά είναι αμφίφυλο και περιέχει όλα τα στοιχεία και για τα δύο φύλα. Η ανάπτυξη των αρρένων στοιχείων και η ατροφία των θηλέων ή το αντίθετο εξαρτώνται από την γενετική καταβολή της αμφιφύλου γονάδας. Η αδιαφοροποίητη γονάδα είναι μία σύνθετη κατασκευή η οποία περιέχει τόσο στο φλοιό όσο και στο μυελό στοιχεία που αφορούν και τα δύο φύλα και τα οποία έχουν εναλλακτικό ρόλο στη γοναδογένεση. Η φυσιολογική διαφοροποίηση συμπεριλαμβάνει την προοδευτική υπερίσχυση του ενός στοιχείου σε βάρος του άλλου, το οποίο και ατροφεί (9, 10, 11).

Κατά την 5^η – 6^η εμβρυϊκή εβδομάδα κοιλιακά στο μεσόνεφρο, παρατηρούμε την αρχική καταβολή των γεννητικών αδένων με τη μορφή δύο λευκών ταινιών (γεννητικές ταινίες), οι οποίες παράγονται από πάχυνση του επιθηλίου της έσω επιφάνειας του οπίσθιου τοιχώματος του σπλαχνικού κοιλώματος (σπλαγχοπλευρικό μεσόδερμα). Οι επιθηλιακές αυτές ταινίες εκτείνονται κατ' αρχήν κατά μήκος του κορμού, έχουν όμως μήκος λίγο μικρότερο από τον μεσόνεφρο. Κατόπιν το κεφαλικό και το ουραίο τμήμα αυτών εξαφανίζονται, έτσι ώστε μόνο τα $\frac{3}{4}$ αυτών, το μέσο μέρος, που βρίσκεται στην πλευρά του μεσόνεφρου, παραμένει το κυρίως πεδίο ανάπτυξης του γεννητικού αδένου. Η γεννητική ταινία αποτελεί την καταβολή του ουδέτερου γεννητικού αδένου (γονάδας), κατά την 6^η εμβρυϊκή εβδομάδα αποτελείται από δύο

τιμήματα, το επιφανειακό γεννητικό επιθήλιο και το υπόστρωμα ή βλάστημα. Το βλάστημα προέρχεται κυρίως από πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των κυττάρων της ταινίας. Μετά την 6^η εβδομάδα το επιφανειακό επιθήλιο πολλαπλασιαζόμενο δίνει προεκβολές, οι οποίες αποχωρίζονται από αυτό, προς το υπόστρωμα (12, 13) (φωτογραφία 2).



Φωτογραφία : 2

Προοδευτική εξέλιξη του γεννητικού συστήματος (σχέδιο R.D. Smith τροποποιημένο). ΠΩ = Πόρος του Wolf. ΑΔ = Αδιαφοροποίητοι γεννητικοί αδένες. ΠΜ = Πόρος του Muller. ΟΣ = Ουρογεννητικός σωλήνας. ΑΟ = Αρχέγονος όρχις. ΑΣΚ = Αρχέγονες σπερματοδόχες κύστεις. ΟΜ = Ογκωμα του Muller. ΣΚ = Σπερματοδόχες κύστεις. ΕΠ = Εκοσπερματικοί πόροι. ΣΤ = Σπερματικός τόνος. ΠΡ = Προστάτης αδένας. ΕΔΠ = Επιδιδυμίδα. ΟΡ = όρχις . ΟΣ = Ορχικός σύνδεσμος.

Η διαφοροποίηση της γονάδας, η οποία εξαρτάται μάλλον από τη φυλετική χρωματίνη των πρωτογενών μεταναστευτικών κυττάρων, αρχίζει συνήθως κατά την 7^η εμβρυϊκή εβδομάδα. Η διαφοροποίηση αυτής σε ωθήκη συμβαίνει λίγο αργότερα (77^η - 84^η ημέρα) από την διαφοροποίηση σε όρχι. Γενικά, ο καθοριστικός ρόλος στην διαφοροποίηση της γονάδας σε όρχι εξαρτάται από την ύπαρξη του «Y» χρωμοσώματος, το οποίο φέρει το ειδικό για τον παράγοντα TDF (Testis Determining Factor) γονίδιο στο βραχύ σκέλος. Σε μη ύπαρξη αυτού του χρωμοσώματος η γονάδα διαφοροποιείται σε ωθήκη. Παραλλαγές στα παραπάνω παρατηρούνται στον αληθή ερμαφροδιτισμό και σε ασθενείς με δυσγενεσία της γονάδας. Κατά τις τελευταίες απόψεις πολλών

ερευνητών σε στάδιο 12 mm (42 ημερών) τα έξω γεννητικά όργανα του εμβρύου είναι αμφίφυλα και η αναγνώριση αυτών είναι δυσχερής. Στο στάδιο αυτό συνήθως βρίσκονται περίπου 400 – 1200 μεγάλα κύτταρα μέσα στον αδιαφοροποίητο αδένα. Αυτά εξελίσσονται στη συνέχεια σε ωογόνια ή σπερμογόνια. Εάν ατροφήσουν, δεν υπάρχει περαιτέρω εξέλιξη σε γονάδα. Κατά το στάδιο αυτό υπό την επίδραση κωδικοποιημένων στη δημιουργία ανδρικού φύλου πληροφοριών από γονύλλιο το οποίο βρίσκεται στο «Υ» χρωμόσωμα, η αδιαφοροποίητη γονάδα εξελίσσεται περαιτέρω σε όρχι (43^η – 50^η ημέρα). Τα κύτταρα του Leydig εμφανίζονται την 60^η ημέρα και τα έξω γεννητικά όργανα την 65^η – 77^η ημέρα. Τελευταία πιστεύεται ότι η διαφοροποίηση πιθανόν να είναι αποτέλεσμα ορμόνης η οποία βρίσκεται στο «Υ» χρωμόσωμα. Τα γεννητικά κύτταρα που υπάρχουν μέσα στις ταινίες ονομάζονται μεταναστευτικά, γιατί η περισσότερο παραδεκτή σήμερα άποψη είναι ότι αυτά είναι κύτταρα κατά κάποιο τρόπο εξωεμβρυϊκά από την εποχή της διαφοροποίησης των πρώτων κυττάρων του εμβρύου, δηλαδή του σχηματισμού του εμβρυϊκού κόμβου (εμβρυοβλάστης) (14, 15).

Ορισμένοι συγγραφείς θεωρούν ότι αυτά προέρχονται από το σπλαγχοπλευρικό έξω εμβρυϊκό μεσόδερμα του σάκου του Yolk. Τα κύτταρα αυτά, εμφανίζονται στη βάση του μίσχου του αλλαντοειδούς και ομφαλοεντερικού πόρου (ομφαλικού κυστιδίου ή λεκιθικού ασκού), με την εξέλιξη του εμβρυϊκού σώματος μετακινούνται με αμοιβαδοειδείς κινήσεις κατά μήκος του αρχέγονου μεσεντερίου (βλαστική τροχιά), και φθάνουν στις μη διαφοροποιημένες ακόμη γεννητικές ταινίες. Έτσι εμφανίζονται στο γεννητικό αδένα τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα, τα οποία ανάλογα με το φύλο εξελίσσονται σε σπερμογόνια ή ωογόνια (16, 17).

Εάν ο γεννητικός αδένας διαφοροποιηθεί σε όρχι, κατ' αρχήν αυξάνει σε μέγεθος, στη συνέχεια δε μικραίνει σε πλέον συμπαγές όργανο. Έτσι μοιάζει με ατρακτοειδές μόρφωμα του οπισθίου σπλαχνικού κοιλώματος, το οποίο εκτείνεται από το πρωτογενές διάφραγμα μέχρι το τέλος του ουραίου τμήματος του εμβρύου, οδηγούμενο παράλληλα προς το μεσόνεφρο. Η ευρεία σύνδεση αυτού με

το μεσόνεφρο μετατρέπεται με την εξέλιξη του εμβρύου σε ένα ορχικό μεσεντέριο, γνωστό σαν μεσόρχιο (σύνδεσμος). Στην συνέχεια τα κύτταρα του γεννητικού επιθηλίου, τα οποία βλασταίνουν μέσα στο υπόστρωμα, σχηματίζουν επιθηλιακές δοκίδες, ονομάζονται και γεννητικές δοκίδες, οι οποίες καταδυόμενες αναστομώνονται μεταξύ των και σχηματίζουν κατά κάποιον τρόπο ένα δίκτυο. Οι δοκίδες αυτές κατόπιν οδηγούνται με σχηματισμό ακτινών και με φορά προς το μεσόρχιο όπου αναπτύσσεται η συμπαγής περιοχή του υποστρώματος, η οποία και θα αποτελέσει την καταβολή του μεσαυλίου ή ιγμορείου σώματος. Κατά την φάση της διάπλασης οι γεννητικές δοκίδες αποκτούν αυλό και σχηματίζουν έτσι τα πρωτογενή εσπειραμένα σωληνάρια, τα οποία στη συνέχεια διαιρούνται σε 3 – 4 θυγατρικά (18, 19).

Συγχρόνως με τα παραπάνω στην καταβολή του ιγμορείου σώματος αναπτύσσεται ένα δίκτυο από κυτταρικές ταινίες, οι οποίες είναι συνεχόμενες με τις γεννητικές δοκίδες και αποκτούν επίσης αυλό (δίκτυο του Haller ή Αλλήρειο δίκτυο). Τα σωληνάρια αυτά του δικτύου του Haller, στην διάρκεια της διάπλασης ενώνονται μαζί με τα μεσονεφρικά σωληνάρια, τα οποία σχηματίζουν την αποχετευτική μοίρα του γεννητικού συστήματος. Με τη συμπλήρωση της ανάπτυξης των πρωτογενών εσπειραμένων σωληναρίων κάτω από το επιφανειακό επιθήλιο αναπτύσσεται ένας μεσεγχυματογενής υμένας, ο ινώδης χιτώνας του όρχι, ο οποίος ξεχωρίζει τις παραπάνω δοκίδες από το επιθήλιο και αναστέλλει έτσι την περαιτέρω αναγέννηση τους (20).

Κάθοδος των όρχεων

Εκτός της ουραίας μετανάστευσης, ο όρχις σε ένα προχωρημένο κάπως στάδιο, βρίσκεται οπισθοπεριτοναϊκά, όπου και προβάλλει στην περιτοναϊκή κοιλότητα, εγκαταλείπει την κοιλία και κατέρχεται στο όσχεο. Ειδικότερα κατά τον τρίτο μήνα της εμβρυϊκής ζωής ο όρχις βρίσκεται οπισθοπεριτοναϊκά σε έναν χώρο ο οποίος ονομάζεται «ψευδοπύελος». Κατά το στάδιο αυτό αναπτύσσεται επίσης μια ινωμυώδης ταινία, η οποία εκτείνεται από τον κάτω πόλο του όρχι, δια μέσου των αναπτυσσομένων μυών του προσθίου κοιλιακού τοιχώματος, μέχρι και τον υποδόριο ιστό του οσχεϊκού ογκώματος (Cubernaculum -

σύνδεσμος του όρχι). Εκτός από το κύριο στέλεχος, η ταινία αυτή εμφανίζει επίσης προεκβολές, οι οποίες καταλήγουν στην περιοχή γύρω από αυτόν τον σύνδεσμο (22, 21).

Κατά την φάση της διάπλασης, κάτω από τον κάτω πόλο του όρχι το τμήμα του περιτοναίου το οποίο τον καλύπτει, σχηματίζει μια εκκολπωματώδη προεκβολή, η οποία με την μορφή κήλης κατέρχεται κατά μήκος και μπροστά από την ινωμύωδη ταινία μέχρι τον οσχεϊκό σάκο. Το εκκόλπωμα αυτό (Processus Vaginalis) διέρχεται δια μέσου του σχηματιζόμενου προσθίου κοιλιακού τοιχώματος, ο σχηματιζόμενος δε αυλός αποτελεί την καταβολή του βουβωνικού πόρου. Ο όρχις παραμένει στο έσω στόμιο του βουβωνικού πόρου μέχρι και τον 7^ο εμβρυϊκό μήνα. Στην συνέχεια διέρχεται μεταξύ του περιτοναϊκού εκκολπώματος και των μυών, έτσι ώστε το οπίσθιο τοίχωμα του εκκολπώματος καλύπτει μόνο την πρόσθια επιφάνεια αυτού και κατά το τέλος του 8^{ου} μήνα φθάνει στο όσχεο. Μετά την γέννηση, ο όρχις αναπτύσσεται αργά μέχρι την ηβική ηλικία, οπότε μετά μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα αυξάνει γρήγορα στο φυσιολογικό του μέγεθος (21).

Μηχανισμοί καθόδου των όρχεων

Πρώτος ο Hunter το 1841 περιέγραψε τον πιθανό μηχανισμό της καθόδου των όρχεων. Από τότε έχουν προταθεί διάφορες θεωρίες για να εξηγήσουν τον παραπάνω μηχανισμό (22) (φωτογραφία 3).

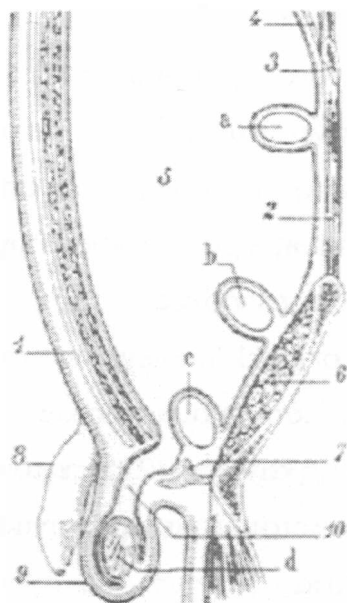
Η κάθοδος μπορεί να οφείλεται είτε σε μηχανικά αίτια είτε σε ορμονικά, είτε σε ενδογενή ορχικά αίτια.

Μηχανικά αίτια:

Θεωρία της έλξης. Σύμφωνα με αυτή, η κάθοδος των όρχεων στο όσχεο πραγματοποιείται από την ενεργό έλξη που ασκεί ο οίακας, ο κρεμαστήρας μυς ή και τα δύο μαζί στους όρχεις. Παρατηρήσεις σε αρκετά είδη ζώων έδειξαν ότι βλάβη του οίακα δεν αποτρέπει την φυσιολογική κάθοδο του όρχι. Επιπροσθέτως έχει παρατηρηθεί ότι ο οίακας στα ανθρώπινα έμβρυα δεν αποτελεί ισχυρό σύνδεσμο ικανό να ασκεί έλξη στον όρχι. Όσον αφορά δε τον κρεμαστήρα μυ είναι γνωστό ότι η μόνη λειτουργία του είναι η έλξη και η ελαφρά ανύψωση του όρχι στο όσχεο (20).

Θεωρία της ανάπτυξης. Κατά την θεωρία αυτή ο οίακας δεν ακολουθεί την κεφαλοουριαία ανάπτυξη του σώματος κατά το τελευταίο τρίμηνο της εγκυμοσύνης με αποτέλεσμα την παθητική έλξη του όρχι μέσα στο όσχεο. Ωστόσο αποδείχτηκε ότι ο οίακας αυξάνει σε μέγεθος ακολουθώντας την αύξηση του σώματος, πριν την κάθοδο του όρχι, θέτοντας έτσι αμφιβολίες για την ισχύ της θεωρίας αυτής (23).

Θεωρία της ενδοκοιλιακής πίεσης. Η αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης είναι η κύρια δύναμη ώθησης του όρχι διαμέσου του βουβωνικού πόρου στο όσχεο. Η θεωρία αυτή έχει επιβεβαιωθεί και από άλλους ερευνητές και φαίνεται ότι παίζει κάποιο ρόλο (24).



Φωτογραφία : 3

Ουραία μετανάστευση του όρχι. Οι συνήθειες θέσεις του όρχι σε κρυφορχία είναι α = οσφυϊκή, β = Λαγόνιος, c = Βουβωνική, d = φυσιολογική (Testut-Jacob). 1 = Πρόσθιοι κοιλιακοί μύες, 2 = Οσφυϊκοί μύες, 3 = 12^η πλευρά, 4 = Διάφραγμα, g = Περιτοναϊκή κοιλότητα, 6 = Λαγόνιος βόθρος, 7 = Αψίς, 8 = Πέος, 9 = Όσχεο, 10 = Εκκολπωματώδης προεκβολή του περιτοναίου.

Θεωρία της διαφοροποίησης της επιδιδυμίδας. Αναπτύχθηκε από τον Hadziselimovicz (1981) και σύμφωνα με αυτή η διαφοροποίηση και

ωρίμανση της επιδιδυμίδας προάγει την κάθοδο του όρχι. Η θεωρία αυτή μελετήθηκε σε βάθος από άλλους ερευνητές χωρίς να επιβεβαιωθεί η αρχική της αξία (25).

Παρόλο που είναι δύσκολο να απορριφθούν οι παραπάνω μηχανικές θεωρίες, γιατί προφανώς έχουν κάποια υπόσταση, είναι γενικά αποδεκτό ότι οι ενδοκρινείς παράγοντες παίζουν σαφώς μεγαλύτερο ρόλο στη διαδικασία της καθόδου των όρχεων στο όσχεο.

Ορμονικά αίτια:

Ο Englezz πρώτος το 1932 κατάφερε χορηγώντας γοναδοτροπίνες να προάγει την κάθοδο των όρχεων σε πιθήκους αποδεικνύοντας την συμβολή των ορμονών στο φαινόμενο. Παρόμοια συμβολή στην κάθοδο των όρχεων βρέθηκε ωστόσο να έχει και η χορήγηση της τεστοστερόνης, αν και όπως αποδείχτηκε αργότερα η κύρια ανδρογόνος δράση προερχόταν από την διυδροτεστοστερόνη, προϊόν της αναγωγής της τεστοστερόνης από την 5α-αναγωγή. Η χορήγηση αναστολέων της 5α-αναγωγής ή αντιανδρογόνων σε πειραματόζωα αποδείχθηκε πως προκαλεί κρυφορχία (26).

Η παρατήρηση ότι η ανεπάρκεια του άξονα υποθάλαμος - υπόφυση - όρχεις αποτελεί έναν από τους κύριους παράγοντες της κρυφορχίας φαίνεται από το γεγονός ότι σε πολλά κλινικά σύνδρομα, στα οποία υπάρχει ορμονική δυσλειτουργία, το ποσοστό της νόσου είναι αυξημένο. Στο σύνδρομο του Kallmann (συγγενής υπογοναδοτρόπος υπογοναδισμός), σε ανεγκεφαλία ή ανωμαλίες της υπόφυσης όπως απλασία ή υποπλασία, σε συγγενείς διαταραχές σύνθεσης ή / και δράσης των ανδρογόνων καθώς και σε ασθενείς με διαταραχή της 5-α αναγωγής τα ποσοστά κρυφορχίας είναι αρκετά υψηλά (27).

Επιβεβαίωση της δυσλειτουργίας του άξονα υποθάλαμος - υπόφυση - όρχεις σαν αίτιο κρυφορχίας, αποτελούν και οι παρατηρήσεις αρκετών μελετητών ότι τα επίπεδα της LH και της τεστοστερόνης είναι χαμηλότερα σε βρέφη και παιδιά με κρυφορχία και ότι η μειωμένη έκκριση των ορμονών αυτών παρατηρείται μόνο στην αρχή της εφηβείας ενώ τείνουν σε φυσιολογικά όρια στο τέλος αυτής. Τα επίπεδα της FSH παραμένουν σε φυσιολογικά επίπεδα εκτός εάν

υπάρχει βλάβη των σπερματικών σωληναρίων (28).

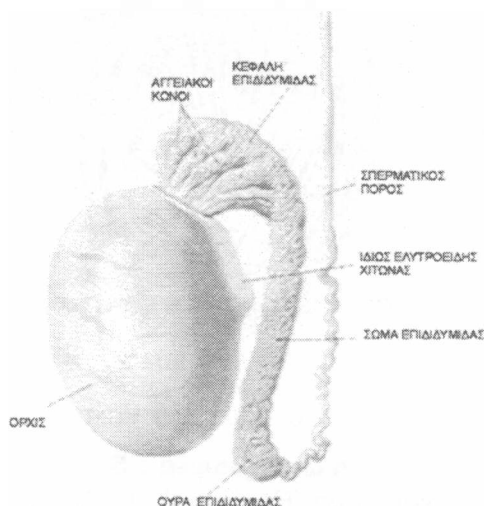
Παρόλη των πληθώρα των βιβλιογραφικών αναφορών όμως, ο ακριβής ρόλος των ανδρογόνων στην κάθοδο των όρχεων δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί. Οι νεώτερες παρατηρήσεις, τόσο σε πειραματικό επίπεδο όσο και σε έμβρυα, αποδεικνύουν ότι ο οίακας είναι στενά συνδεδεμένος με το φαινόμενο αυτό. Το 1988 ο George και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν υποδοχείς της διυδροτεστοστερόνης DHT σε οίακες ποντικών και υπέθεσαν ότι ο οίακας είναι το όργανο στόχος των ανδρογόνων που προκαλεί την κάθοδο των όρχεων. Η ισχύς της παραπάνω θεωρίας αυξάνεται και από την παρατήρηση ότι πυρήνες των κυττάρων τον εμβρυϊκού αιδοιομηριαίου νεύρου, το οποίο νευρώνει τον οίακα, επηρεάζονται από την δράση των ανδρογόνων (29).

Από τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι ανεξάρτητα από τις θεωρίες που μέχρι τώρα έχουν διατυπωθεί και αφορούν την κάθοδο των όρχεων είτε είναι μηχανικές είτε είναι ορμονικές ο οίακας είναι αυτός που κύρια ευθύνεται για την εξέλιξη του φαινομένου.

ΑΝΑΤΟΜΙΑ

Σχήμα - θέση - σχέσεις

Ο όρχις είναι ένα όργανο ζυγό με ελλειψοειδές σχήμα, ελαφρώς συμπιεσμένο κατά τον επιμήκη άξονα, τοποθετημένο κάτω από το πέος μεταξύ των μηρών. Περιέχεται σε ένα δερματικό σάκο, τον οσχεϊκό σάκο, και κρέμεται από την κατώτερη άκρη του αντίστοιχου σπερματικού τόνου. Κάθε όρχις είναι υπερβολικά ευκίνητος, και μπορεί και κινείται προς όλες τις διευθύνσεις, και η θέση του εξαρτάται από την κατάσταση της σύσπασης ή της χαλάρωσης του κρεμαστήρα μυ και του τοιχώματος του οσχεϊκού σάκου. Οι δυο όρχις είναι χωρισμένοι ο ένας από τον άλλο με το οσχεϊκό διάφραγμα, και συνήθως ο αριστερός όρχις έχει μια θέση λίγο πιο χαμηλή από τον δεξιό (9, 30) (φωτογραφία 4).

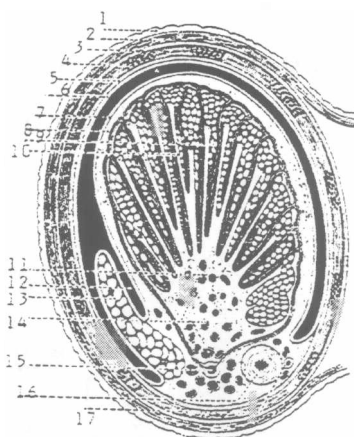


Φωτογραφία : 4

Όρχις με τα εξαρτήματά του.

Ο μεγαλύτερος άξονας του οργάνου έχει μια διεύθυνση λοξή προς τα κάτω και προς τα πίσω και στον ενήλικα έχει μήκος περίπου 4 - 4.5 cm, η προσθιοπίσθια διάμετρος έχει μήκος κατά μέσο όρο 3 cm και η κάθετη 2.5 cm. Το βάρος κάθε όρχι διαφέρει αρκετά και στον ενήλικα

κυμαίνεται από 14 έως 20 gr (συμπεριλαμβανομένου και της επιδιδυμίδας). Η εσωτερική πλευρά, προς το οσχεϊκό διάφραγμα είναι σχεδόν πάντα επίπεδη ενώ η πλάγια πλευρά είναι πιο κυρτή και από πίσω είναι καλυμμένη από την επιδιδυμίδα από την οποία ξεχωρίζει με μια σχισμή (πύλη της επιδιδυμίδας) στην οποία διεισδύει ένα μικρό τμήμα από τον ελυτροειδή χιτώννα. Το εμπρόσθιο κείλος είναι κυρτό και βλέπει προς τα εμπρός και προς τα κάτω. Το οπίσθιο κείλος στρέφεται προς τα πίσω και επάνω, είναι σχεδόν πάντα ευθύγραμμο και καλύπτεται από την επιδιδυμίδα σε όλο το μήκος του η οποία προσκολλάται στενά στο πάνω και στο κάτω άκρο, εσωτερικά της επιδιδυμίδας περνά το αρχικό τμήμα του σπερματικού τόνου.



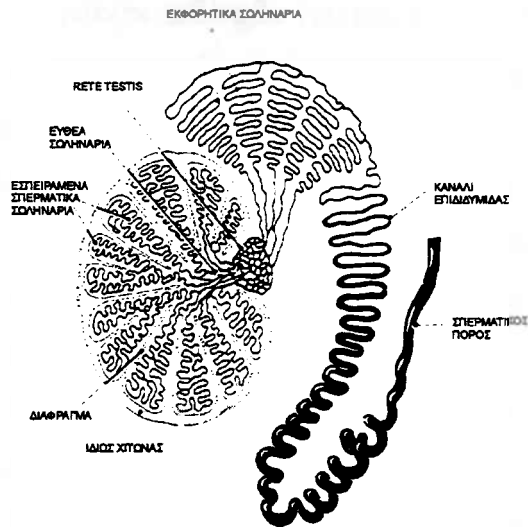
Φωτογραφία : 5

Εγκάρσια διατομή οσχεού-όρχι (Harrington). 1= Δέρμα, 2 = Δαρτός, 3 = Έξω σπερματική περιτονία, 4 = Κρεμαστήρας μυς, 5 = Έσω σπερματική περιτονία, 6 = Περίτονο πέταλο ελυτροειδούς, 7 = Περίσπλαχνο πέταλο ελυτροειδούς, 8 = Ιδίως ελυτροειδής χιτώννας, 9 = Ορχικά λοβίδια, 10 = Διαφράγματα, 11 = Μεσαύλιο, 12 = Ορχεο-επιδιδυμική αύλακα, 13 = Επιδιδυμικό φλεβίδιο, 14 = Δίκτυο ορχικό, 15 = Σπερματικός πόρος, 16 = Αρτηρία σπερματικού πόρου, 17 = φλέβα σπερματικού πόρου.

Στο ύψος του οπισθίου κείλους βρίσκεται η πύλη του όρχι δια της οποίας διέρχονται τα απαγωγά σωληνάρια, τα αιμοφόρα αγγεία, λεμφαγγεία και τα νεύρα. Ο άνω πόλος του όρχι καλύπτεται από την κεφαλή της επιδιδυμίδας και συχνά παρουσιάζει μια μικρή στρογγυλή

προεξοχή (απόφυση του όρχι ή υδατίδα κύστη του Morgani) χωρίς μίσχο. Ο κάτω πόλος πιο οξύς από τον άνω συνδέεται με μια ινωμυώδη μεμβράνη (οσχεϊκός σύνδεσμος) η οποία συνδέει τον όρχι με τον οσχεϊκό σάκο και είναι μάλλον εμβρυϊκό υπόλειμμα του οίακα (Gubernaculum testis) (30) (φωτογραφία 5).

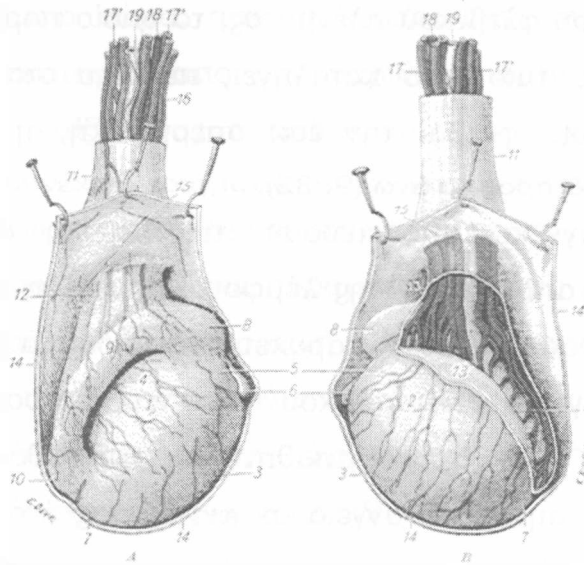
Η εξωτερική επιφάνεια του όρχι περιβάλλεται σχεδόν ολόκληρη από έναν ορογόνο υμένα με διπλό τοίχωμα, ιδίως ελυτροειδής χιτώνας, ο οποίος προέρχεται από το περιτονιακό εκκόλπωμα. Ο ιδίως ελυτροειδής χιτώνας αποτελείται από δυο πέταλα, το περίσπλαχνο και το περίτονο πέταλο, τα οποία σχηματίζουν μια κοιλότητα, την κοιλότητα του ιδίου ελυτροειδή όπου περιέχει μια μικρή ποσότητα ορώδους υγρού. Το περίσπλαχνο πέταλο είναι σε στενή επαφή στην εξωτερική επιφάνεια του όρχι και λέγεται ελυτροειδής χιτώνας, ενώ το περίτονο πέταλο βρίσκεται στην εσωτερική επιφάνεια του οσχεϊκού σάκου και λέγεται κοινός ελυτροειδής χιτώνας. Το περίσπλαχνο πέταλο, ξεκινώντας από πρόσθιο χείλος καλύπτει όλες τις πλευρές του όρχι, στην δε πλάγια πλευρά εισέρχεται στην πύλη της επιδιδυμίδας, περνάει κατόπιν την ίδια τη επιδιδυμίδα και στο ύψος του έσω χείλους ανακάμπτει στο περίτονο πέταλο. Στην έσω πλευρά το περίσπλαχνο πέταλο αφού φθάσει στο οπίσθιο χείλος του όρχι, το ξεπερνά προς τα επάνω καλύπτοντας για 1 cm περίπου τον σπερματικό τόνο, έπειτα ανακάμπτει και αυτό στο περίτονο πέταλο. Προς τα κάτω το περίσπλαχνο πέταλο περνάει από πρόσθιο χείλος του όρχι στον οσχεϊκό σύνδεσμο, τον καλύπτει προς τα εμπρός και στα πλάγια και κατόπιν ανακάμπτει συνεχίζοντας με το περίτονο πέταλο. Προς τα επάνω, αφού έχει καλύψει την κεφαλή της επιδιδυμίδας, συνεχίζει για ένα σύντομο τμήμα επί της πρόσθιας πλευράς του σπερματικού τόνου και κατόπιν ανακάμπτει στο περίτονο πέταλο. Υπάρχει λοιπόν, μεταξύ περίσπλαχνου και περίτονου πετάλου του ιδίου ελυτροειδή χιτώνα μια γραμμή ανάκαμψης η οποία αντιστοιχεί περίπου στο οπίσθιο χείλος του όρχι χωρίς ορώδη κάλυψη (31), (φωτογραφία 6).



Φωτογραφία : 6
Εγκάρσια διατομή όρχι.

Αγγεία - νεύρα

Ο όρχις αγγειώνεται από την έσω σπερματική (κλάδος της αορτής), από την τονική (έξω σπερματική) και την εκφορητική αρτηρία. Ειδικότερα η έσω σπερματική αρτηρία εκφύεται από την αορτή, αμέσως κάτω από τη νεφρική αρτηρία και αφού δώσει κλάδο για την αγγείωση ουρητήρα, στη διασταύρωση με αυτόν, εισέρχεται κατόπιν στο σπερματικό τόνο δια μέσου του έσω στομίου του βουβωνικού πόρου. Εξερχόμενη από τον πόρο φέρεται προς τα έσω του σώματος της επιδιδυμίδας και πριν εισέλθει στον όρχι, χορηγεί μικρό κλάδο στην κεφαλή της επιδιδυμίδας. Η εκφορητική αρτηρία εκφύεται από την έσω λαγόνιο ή την κάτω κυστική πολλές φορές. Πορεύεται κοντά στον σπερματικό πόρο μέχρι την ουρά της επιδιδυμίδας, όπου διακλαδιζόμενη ευρέως αγγειώνει την ουρά και το σώμα της επιδιδυμίδας. Αναστομώνεται επίσης στην επιδιδυμίδα με την έσω σπερματική. Η κρεμαστήριος ή έξω σπερματική αρτηρία εκφύεται από την κάτω επιγάστριο αρτηρία και εισερχόμενη στο σπερματικό τόνο φθάνει δια μέσου του βουβωνικού πόρου στον ελυτροειδή, όπου αναστομώνεται με κλάδους των άλλων αγγείων (31), (φωτογραφία 7).



Φωτογραφία : 7

Δεξιός όρχις με τον σπερματικό τόνο, τα αγγεία αυτού και τον ίδιο χιτών (Testut). 1 = πλάγια πλευρά, 2 = έσω πλευρά, 3 = έσω χείλος, 4 = ραχιαίο χείλος, 5 = άνω πόλος, 6 = κύστης Morgani, 7 = κάτω πόλος, 8 - 9 - 10 = κεφαλή / σώμα / ουρά επιδιδυμίδας, 11 - 12 = σπερματικός τόνος, 13 - 14 = ελυτροειδής χιτώνας, 15 = ανάκαμψη περιτονίου / περίσπλαχνου πετάλου, 16 = αιμοφόρα αγγεία τόνου, 17 - 17' = πρόσθιο και οπίσθιο φλεβικό πλέγμα, 18 = ορχική αρτηρία, 19 = σπερματικός πόρος.

Οι φλέβες συνοδεύουν τις αρτηρίες. Η δεξιά σπερματική φλέβα εκβάλλει στην κάτω κοίλη, η αριστερή δε στη νεφρική υπό ορθή γωνία. Λεπτομερειακά το φλεβικό σύστημα του όρχι και της επιδιδυμίδας αποτελείται από το εν τω βάθει ή κύριο και το επιπολής ή δευτερεύον σύστημα. Το κύριο αποτελείται από την έσω σπερματική, την έξω σπερματική και την εκφορητική. Το δευτερεύον συνίσταται από την επιπολής και εν τω βάθει κάτω επιγάστριο φλέβα, την επιπολής έσω περισπωμένη φλέβα και τους οσχεϊκούς κλάδους της επιπολής και εν τω βάθει έξω και έσω αιδοϊκής φλέβας. Οι φλέβες αυτές επικοινωνούν ελευθέρα και διάχυτα μεταξύ τους, όπως επίσης και με το κύριο σύστημα. Η επικοινωνία με το κύριο σύστημα γίνεται δια μέσου φλεβικών κλάδων, οι οποίοι αποχετεύουν το αίμα του κρεμαστήρα μυ προς την έξω σπερματική φλέβα στο ύψος περίπου του έξω στομίου του βουβωνικού πόρου. Οι φλέβες του κυρίου συστήματος σχηματίζουν ένα

είδος εσπειραμένου φλεβικού πλέγματος, το οποίο πορευόμενο προς τα άνω με το σπερματικό τόνο καταλήγει, περίπου στο έσω βουβωνικό στόμιο, στην κύρια φλέβα, την έσω σπερματική, η οποία συνεχίζει οπισθοπεριτοναϊκά προς τα άνω (9, 32).

Τα λεμφαγγεία αποχετεύουν τη λέμφο στα προαορτικά λεμφογάγγλια. Η αποχέτευση της λέμφου έχει σχέση με την εμβρυϊκή θέση του όρχι. Αναστομώσεις ή παροχετεύσεις προς τα βουβωνικά ή έσω λαγόνια λεμφογάγγλια δεν υπάρχουν. Τα νεύρα προέρχονται από το ακτινωτό πλέγμα του ορθοσυμπαθητικού και φθάνουν στον όρχι ακολουθώντας τα αιμοφόρα αγγεία σχηματίζοντας ένα πλούσιο ορχικό πλέγμα, το οποίο δέχεται επίσης και τμήμα παρασυμπαθητικού από το εκφορητικό πλέγμα (9, 30, 31).

Υφή

Ο όρχις αποτελείται από ένα ινώδη σκελετό (ιδίως χιτώνας του όρχι και τα εξαρτήματα του), από ένα παρέγχυμα (σπερματικά σωληνάρια) και από ένα στρώμα το οποίο περιβάλλει τα σπερματικά σωληνάρια και περιέχει μικρά σύνολα κυττάρων με ενδοκρινή δράση, τα ενδιάμεσα κύτταρα (Leydig).

Ιδίως χιτώνας του όρχι

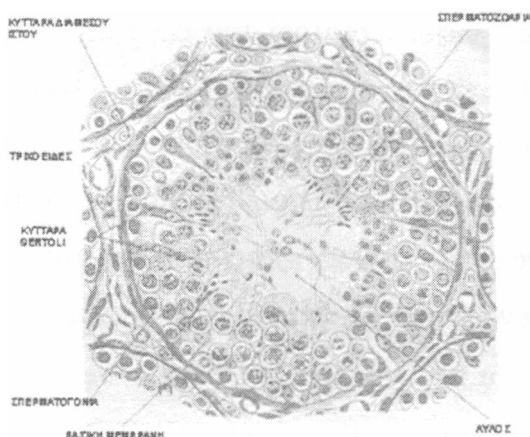
Είναι μια μεμβράνη πολύ ανθεκτική, μη ελαστική πάχους 0.5 – 1 cm η οποία περιβάλλει όλον τον όρχι. Εξωτερικά καλύπτεται από περίσπλαχνο πέταλο του ιδίου ελυτροειδή χιτώνα, αποτελούμενη από απλό πλακώδες επιθήλιο (μεσοθήλιο) και από μια λεπτή βασική μεμβράνη συνδετικού τύπου η οποία αποτελεί συνέχεια του ιδίου χιτώνα. Αυτή η τελευταία αποτελείται από πυκνό συνδετικό ιστό όπου οι κολλαγενείς δέσμες περιπλέκονται με ποικίλο τρόπο διατηρώντας όμως πάντα μια κατεύθυνση παράλληλη με την επιφάνεια του οργάνου. Από την εσωτερική επιφάνεια του ιδίου χιτώνα, η οποία είναι πολύ καλά αιματούμενη (αγγειώδης χιτώνας), ξεκινούν παρά πολλοί σχηματισμοί (διαφράγματα) οι οποίοι διατρέχουν ακτινοειδώς τον όρχι από την περιφέρεια προς το κέντρο, όπου καταλήγουν, ενώνονται δε μεταξύ τους και σχηματίζουν ένα σφηνοειδές ινώδες σώμα, το οποίο ονομάζεται

μεσαύλιο ή ιγμόρειο σώμα, αυτό βρίσκεται στην πύλη του όρχι και περιέχει ένα σύστημα από πολυάριθμα σωληνάκια τα οποία αναστομώνονται μεταξύ τους σχηματίζοντας το λεγόμενο δίκτυο του Haller και στην συνέχεια σχηματίζουν το ορχικό δίκτυο (rete testis). Η παρουσία των διαφραγμάτων διαιρεί τον όρχι σε 250 – 300 κοιλότητες περίπου και οι οποίες έχουν ένα πυραμοειδές σχήμα με την βάση προς την περιφέρεια και τον ίδιο ελυτροειδή ενώ η κορυφή τους στέφεται προς την πύλη του όρχι και το μεσαύλιο. Τα διαφράγματα και το μεσαύλιο έχουν την ίδια σύσταση με τον ίδιο χιτώνα του όρχι και γι' αυτό αποτελούν τα λεγόμενα του εξαρτήματα (9, 30, 33).

Παρέγχυμα

Το ορχικό παρέγχυμα έχει σύσταση μαλακή, χρώμα ερυθροκιτρινωπό και γεμίζει τις κοιλότητες οι οποίες δημιουργούν άλλα τόσα λοβίδια επαναλαμβάνοντας και το σχήμα και την τοποθέτηση τους. Κάθε λοβίδιο αποτελείται από 1 – 4 σωληνάκια, τα σπερματικά σωληνάκια τα οποία ξεκινούν από την περιφέρεια του λοβιδίου με ένα άκρο ελαφρώς διατεταμένο και τυφλό πυθμένα, πορεύονται σπειροειδώς και αναδιπλώνονται επί του εαυτού τους με ένα σύνθετο τρόπο. Στην κορυφή του λοβιδίου, τα σπερματικά σωληνάκια αλλάζουν την υφή τους και συρρέουν σε ένα ευθύ σωληνάριο (ευθεία σωληνάκια). Κάθε ευθύ σωληνάριο εξέρχεται από την κορυφή της κάθε κοιλότητας του και εισέρχεται στο μεσαύλιο, εδώ τα ευθεία σωληνάκια αναστομώνονται μεταξύ τους και σχηματίζουν το ορχικό δίκτυο ή rete testis. Τα σπερματικά σωληνάκια με την χαρακτηριστική πορεία τους μπορούν να περιέχονται σε ένα μικρό χώρο αν και το μήκος των είναι περίπου από 30 – 180 cm ενώ η εξωτερική τους διάμετρο είναι 150 – 250 μm και απαριθμούν περίπου από 600 έως 1200. Το τοίχωμα των σπερματικών σωληναρίων αποτελείται από ένα επιθήλιο με πολλές στοιβάδες – στρώματα (βλαστικό επιθήλιο) και από μια βασική μεμβράνη. Το βλαστικό επιθήλιο βρίσκεται επάνω σε μια βασική μεμβράνη, πάχους περίπου 80 nm η οποία σε κάποια τμήματα της φαίνεται να αποτελείται από δυο στοιβάδες και εμφανίζει εσοχές οι οποίες βυθίζονται για 1 – 2 μm μεταξύ των επιθηλιακών κύτταρων. Στο βλαστικό επιθήλιο

μπορούμε να ξεχωρίσουμε δυο ειδών κύτταρα: τα κύτταρα του Sertoli και τα γεννητικά κύτταρα (9, 34), (φωτογραφία 8).



Φωτογραφία : 8
Σπερματικό σωληνάριο.

α) Τα κύτταρα του Sertoli έχουν προέλευση από το μεσόδερμα και παράγονται από την αναπαραγωγή του επιθηλίου του κοιλώματος, και μετά την διαφοροποίηση τους χάνουν την ικανότητα της διαίρεσης. Είναι πολύ ψηλά κύτταρα (πάνω από 60 μm), και εκτείνονται σε όλο το πάχος του επιθηλίου του κοιλώματος, έχοντας ένα σχήμα ακανόνιστα κωνοειδές με την βάση πεπλατυσμένη και η οποία έρχεται σε επαφή με την βασική μεμβράνη, ενώ η κορυφή τους βλέπει προς τον αυλό του σωληναρίου. Τα περίξ των κύτταρων στοιχεία είναι υπερβολικά ανώμαλα λόγω των στενών σχέσεων που καθορίζονται με τα εκάστοτε σπερματικά κύτταρα ανάλογα με τον βαθμό διαφοροποίησης των, ιδίως οι κεφαλές των σπερματιδών κατά την διάρκεια την ωρίμανσης συγκεντρώνονται σε κυτταροπλασματικές βαθιές εσοχές της κορυφής. Ο πυρήνας, μετατοπισμένος προς τον πόλο της βάσης, είναι ογκώδης με σχήμα σφαιρικό ή ωοειδές και χαρακτηρίζεται από αρκετά βαθιές εσοχές. Περιέχει πυρηνικό πλάσμα ομογενές και ένα ευδιάκριτο πυρήνιο στο οποίο συνυπάρχουν δυο μικρές μάζες χρωματινης. Στο κυτταρόπλασμα

το οποίο είναι οξεόφιλο υπάρχουν λιπιδικά σταγονίδια, λεπτές ίνες, κατά το πλείστον επιμήκης διεύθυνσης, και πολλές φορές ένα σωματίο με κρυσταλοειδή μορφή και με ατρακτοειδές σχήμα (σωμάτιο του Charcot-Böttcher) τοποθετημένο κοντά στον πυρήνα και μήκους μέχρι 20 μm. Στην υπερδομή του πρωτοπλάσματος, το ενδοπλασματικό δίκτυο, κυρίως μη κοκκιοματώδες, φαίνεται αρκετά ανεπτυγμένο, ενώ το σύστημα Golgi εκτείνεται σημαντικά και συχνά συνοδεύεται με ένα ζευγάρι από κεντρίδια. Στο κυτταρόπλασμα διαφαινονται μιτοχόνδρια, πολυάριθμα μικροσωληνάρια και μικρές ίνες, λισσοσωμάτια, και υπολείμματα και κόκκοι γλυκόζης και λιπιδίων σε διάφορες ποσότητες. Τα κρυσταλοειδή σωματίδια του Charcot-Böttcher, άγνωστης προέλευσης και σημασίας παρουσιάζουν στην υπερδομή του πρωτοπλάσματος μια δομή ινώδους τύπου (30).

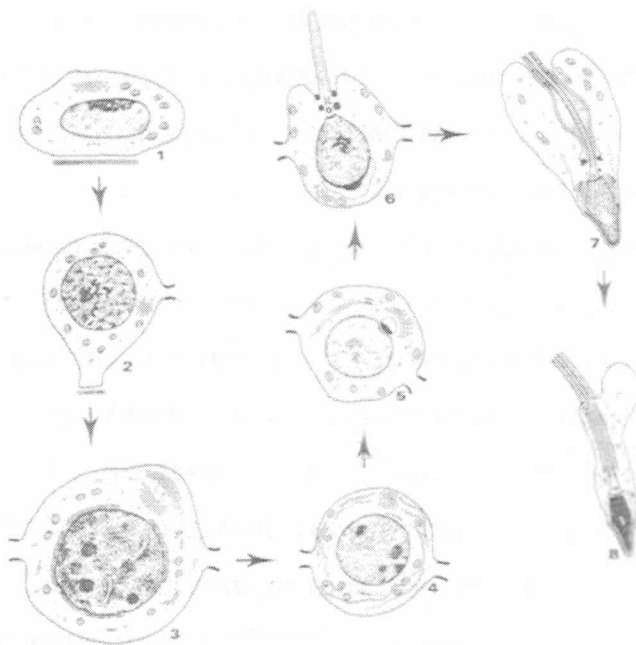
Η παρουσία στενών διασυνδέσεων μεταξύ γειτονικών κύτταρων Sertoli σχηματίζει στο σύνολο του γεννητικού επιθηλίου δυο χωρίσματα, ένα εξωτερικό μεταξύ της βασικής μεμβράνης και των συνδέσεων, που περιέχει τα σπερματογόνια και ένα εσωτερικό που εκτείνεται μεταξύ συνδέσεων και αυλού το οποίο περιέχει τα σπερματοκύτταρα, τις σπερματίδες και τα σπερματοζώαρια. Ενώ τα γεννητικά κύτταρα τα οποία περιέχονται στο πρώτο χώρισμα μπορούν να έρθουν σε άμεση επαφή με τις θρεπτικές ουσίες οι οποίες έχουν διαπεράσει την βασική μεμβράνη και προέρχονται από τα περισωληναριακά τριχοειδή αγγεία, εκείνα τα οποία βρίσκονται στο εσωτερικό χώρισμα είναι απομονωμένα από αυτήν την επαφή διαμέσου των σύνθετων και πολύπλοκων συνθέσεων που υπάρχουν μεταξύ των κύτταρων του Sertoli (αιματορχικός φραγμός) (35, 36).

β) Τα γεννητικά κύτταρα ή σπερματικά είναι τοποθετημένα σε περισσότερα επίπεδα (4 - 8) μεταξύ των κύτταρων του Sertoli, τα πιο περιφερικά έρχονται σε επαφή με την βασική μεμβράνη, ενώ τα πιο κεντρικά είναι σε επαφή με την κορυφή των διαφόρων στηρικτικών στοιχείων των κύτταρων Sertoli και προβάλλουν στον αυλό των σπερματοφόρων σωληναρίων. Τα κύτταρα αυτά αντιπροσωπεύουν τα διάφορα στάδια ωρίμανσης διαμέσου των οποίων, μετά την εφηβεία, από

τα σπερματογόνια (αρχέγονα γεννητικά κύτταρα) προέρχονται τα σπερματοζώαρια. Το σύνολον αυτών των σταδίων, κατά την διάρκεια των οποίων τα κυτταρικά στοιχεία μετατίθενται σταδιακά από το βάθος του επιθηλίου προς τον αυλό του σωληναρίου, ονομάζεται σπερματογένεση. Κατά την διάρκεια αυτής συμβαίνουν διάφορα φαινόμενα διαφοροποίησης και διαμέσου της μείωσης, πραγματοποιείται μια μείωση των χρωματοσωμάτων από τον διπλοειδή τύπο (46 χρωματοσώματα) σε απλοειδή τύπο (23 χρωματοσώματα). Κατά την σπερματογένεση, η οποία διάρκεια της είναι περίπου 64 ημέρες μπορούν να ξεχωρίσουν 3 φάσεις: α) σπερματογονιογένεση, β) σπερματοκυττογένεση ή φάση της μείωσης και γ) την σπερμιογένεση ή φάση της σπερμιοστογένεσης (37).

Η πρώτη φάση χαρακτηρίζεται από το πολλαπλασιασμό των αρχέγονων γεννητικών κυττάρων (σπερματογονίων) η οποία σε αντίθεση από ότι συμβαίνει στην γυναίκα, συνεχίζει για όλη την διάρκεια της ζωής, από την τελευταία διαίρεση των σπερματογονίων όπου προέρχονται τα αρχέγονα σπερματοκύτταρα. Κατά την δεύτερη φάση πραγματοποιείται η μειωτική μείωση του αριθμού των χρωματοσωμάτων, όπου από τα σπερματοκύτταρα 1^{ης} τάξης σχηματίζονται τα σπερματοκύτταρα 2^{ης} τάξης και από αυτά οι σπερματίδες. Στην διάρκεια της τρίτης φάσης δεν υπάρχει αριθμητική αύξηση των κυτταρικών στοιχείων, αλλά η διαφοροποίηση κάθε σπερματίδας σε ένα σπερματοζώαριο. Τα σπερματογόνια είναι αρχέγονα γεννητικά κύτταρα και βρίσκονται στο περιφερικό τμήμα του σπερματικού σωληναρίου, επί της βασικής μεμβράνης, μεταξύ των βάσεων των στηρικτικών κυττάρων όπου και έχουν σχέσεις. Αναπαράγονται με κατανάλωση ενέργειας δια της μίτωσης μέχρι να δώσουν τα αρχέγονα σπερματοκύτταρα. Τα σπερματογόνια έχουν σχήμα πολυεδρικό ή κυκλικό και μια διάμετρο περίπου 15 μm, με φτωχό κυτόπλασμα με λίγα σωμάτια. Σχετικά με τα χαρακτηριστικά του πυρήνα, ο οποίος είναι ογκώδης, μπορούν να ξεχωρίσουν δυο κύριοι τύποι σπερματογονίων, ο τύπος Α (σπερματογόνια «σκοτισμένα») με πυρήνα ο οποίος περιέχει ένα υλικό χρωματίνης λεπτομερώς διάσπαρτο, και ένα τύπο Β (σπερματογόνια με κρουστά) και

πυρήνα ο οποίος περιέχει υλικό χρωματίνης συμπυκνωμένο σε ζώνες συχνά κοντά στο πυρηνικό έλυτρο. Ο τύπος Α είναι ο σχηματισμός ο πιο αδιαφοροποίητος των σπερματογονίων και έχει την ικανότητα να ανανεώνεται συνεχώς δια μιτωτικών διαιρέσεων (βασικά ή στελεχιαία αρχέγονα κύτταρα ή σπερμογόνια ή Stem cells), ενώ ο τύπος Β αντιπροσωπεύει έναν σχηματισμό πιο διαφοροποιημένο ο οποίος προέρχεται από την διαίρεση των σπερματογονίων τύπου Α και είναι ικανός να παράγει σπερματοκύτταρα (φωτογραφία 9). Με άλλα λόγια τα σπερματογόνια τύπου Α διαιρούμενα δίνουν προέλευση σε καινούργια σπερματογόνια τύπου Α όπως επίσης και σε σπερματογόνια τύπου Β, τα οποία έχουν σκοπό περαιτέρω ανάπτυξης.



Φωτογραφία : 9

Σχηματική αναπαράσταση των φάσεων της σπερματογένεσης. 1 = σπερματογόνιο τύπου Α (η γραμμή δείχνει την βασική μεμβράνη του σπερματικού σωληναρίου), 2 = σπερματογόνιο τύπου Β, 3 = σπερματοκύτταρο 1^{ης} τάξης, 4 = σπερματοκύτταρο 2^{ης} τάξης, 5 = σπερματίδα: είναι ο αρχικός σχηματισμός του ακροσωμικού κυστιδίου και της νηματοειδούς έκφυσης, 6 - 7 = σπερματίδες σε φάση διαφοροποίησης, 8 = ώριμη σπερματίδα (μετά την αποβολή του υπολειπόμενου σωματιδίου σχηματίζεται το σπερματοζώαριο).

Με την σειρά τους τα σπερματογόνια τύπου Α μπορούν να διαχωριστούν σε ένα τύπο ωχροό ο οποίος χαρακτηρίζεται από ένα πυρήνα ελαφρά χρωματιζούμενο και ένα τύπο σκούρο, όπου ο πυρήνας περιέχει χρωματίνη πάντα διασκορπισμένη λεπτομερώς αλλά πιο χρωματιζούμενη. Σε κανονικές συνθήκες τα σπερματογόνια τύπου Α σκούρα, σπανίως έχουν μιτωτικές διαιρέσεις και γι' αυτό τον λόγο αποτελούν μια αληθινή δεξαμενή κυττάρων, ενώ εκείνα τύπου Α ωχρά κύτταρα, αναπαράγονται ενεργά και αντιπροσωπεύουν έτσι τα στοιχεία που έχουν σκοπό την εξέλιξη. Τα σπερματογόνια τύπου Β διαιρούνται μόνο μια φορά με μίτωση, δίνοντας προέλευση σε αρχέγονα σπερματοκύτταρα ή ανάπαυσης τα οποία στην συνέχεια αυξάνουν σε όγκο και παίρνουν το όνομα σπερματοκύτταρα 1^{ης} τάξης. Στην διαίρεση των σπερματογονίων, όπως επίσης και στις επόμενες διαιρέσεις δεν πραγματοποιείται μια ολοκληρωμένη κυττοδιαίρεση και γι' αυτό τα θυγατρικά κύτταρα παραμένουν ενωμένα με κυτταροπλασματικές γέφυρες λίγο πολύ ανεπτυγμένες και εξαφανίζονται μόνον κατά την διάρκεια της σπερματογένεσης (38).

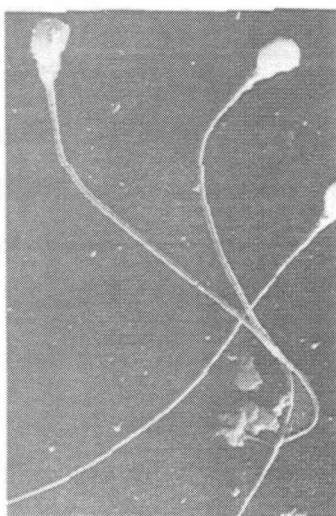
Τα σπερματοκύτταρα 1^{ης} τάξης είναι τα πιο μεγάλα κύτταρα της γεννητικής γραμμής, όσον αφορά το γεννητικό επιθήλιο αυτά καταλαμβάνουν μια θέση ενδιάμεση, σε σχέση με τις πλάγιες επιφάνειες των στηρικτικών κυττάρων. Ο πυρήνας τους αποτελείται από ένα ογκώδες πυρήνιο και το κυτταρόπλασμα τους περιέχει αρκετά μιτοχόνδρια. Τα σπερματογόνια 1^{ης} τάξης μετά από τον διπλασιασμό του DNA, ακολουθεί η μείωση όπου στην συνέχεια από αυτά σχηματίζονται 2 σπερματογόνια 2^{ης} τάξης και κατόπιν 4 σπερματίδες. Κατά την μειωτική διαίρεση τα κύτταρα μειώνουν τον όγκο τους και μετατοπίζονται σταδιακά προς το κεντρικό τμήμα των σπερματικών σωληναρίων, αποκτώντας σχέσεις, όλο και πιο στενές, με τα κύτταρα στηρικτικού τύπου. Κατά την μακρά πρόφαση, της πρώτης μειωτικής διαίρεσης μπορεί να ξεχωρίσουν 5 στάδια: α) λεπτοταινιώδες, όπου τα χρωματοσώματα εμφανίζονται σαν λεπτά ινίδια σχηματίζοντας μια δέσμη, β) ζυγοταινιώδες, όπου έχουμε ζευγάρι των ομόλογων χρωματοσωμάτων και τα γεννητικά χρωματοσώματα (X και Y) συσσωρεύονται σε μια μικρή μάζα

ονομαζόμενη γεννητικό κυστίδιο, γ) παχυταινιώδες, όπου συμβαίνει σύντηξη των ζευγαρωμένων χρωματοσωμάτων με την ανταλλαγή γεννητικού υλικού. Επειδή κάθε χρωματόσωμα αποτελείται από 2 χρωματίδες (δισθενή χρωματοσώματα) τα ζεύγη των χρωματοσωμάτων ονομάζονται τετράδες. δ) διπλοταινιώδες, με αρχικό ξεχώρισμα των χρωματοσωμάτων όσον αφορά το κάθε ζευγάρι και εμφάνιση των χιασμάτων, ε) διακινησία, με πλήρη ξεχώρισμα των ομόλογων χρωματοσωμάτων. Μετά την εξαφάνιση του πυρηνικού ελύτρου, τα χρωματοσώματα τοποθετούνται στο ισημερινό επίπεδο του κυττάρου (μετάφραση 1^α) και στην συνέχεια μεταναστεύουν προς τους 2 πόλους του κυττάρου (ανάφαση 1^α) για να ανακατασκευάσουν τους πυρήνες των 2 θυγατρικών κυττάρων (τελόφαση 1^α), με αυτόν τον τρόπο έχουμε σχηματισμό 2 σπερματοκυττάρων 2^{ης} τάξης, όπου περιέχουν ένα νούμερο χρωματοσωμάτων απλοειδές, το καθένα εκ των οποίων, εν τω μεταξύ, είναι δισθενές αφού αποτελείται από 2 χρωματίδες. Μετά από μια σύντομη διακινητική περίοδο, κατά την διάρκεια της οποίας δεν πραγματοποιείται σύνθεση DNA, αρχίζει η δεύτερη μειωτική διαίρεση, όπου τα στάδια της είναι τυπικά μιας κλασικής μίτωσης (προ-, μετά-, ανα-, τελόφαση 2^α), και ιδίως οι 2 χρωματίδες από καθένα χρωματόσωμα διαχωρίζονται και μεταναστεύουν προς τους αντίθετους πόλους του κυττάρου για να σχηματίσουν τους πυρήνες των θυγατρικών κύτταρων που ονομάζονται σπερματίδες (9, 39).

Οι σπερματίδες οι οποίες είναι ακόμη συνδεδεμένες σε ομάδες από κυτταροπλασματικές γέφυρες, έχουν σχέση με την κορυφή των σθηρικτικών κυττάρων Sertoli, στοιβαγμένες σε βαθιές εσοχές της επιφάνειας των. Το σύνολο από ένα σθηρικτικό κύτταρο Sertoli και τις σπερματίδες που είναι σε σχέση με αυτό σχηματίζουν το σπερματοβλαστίδιο ή σπερματοφόρο. Οι σπερματίδες είναι μικρά κύτταρα, με σφαιροειδές σχήμα και περιέχουν ένα πυρήνα διαμέτρου 5 – 6 μm με την χρωματίνη τοποθετημένη σε μικρούς σβώλους. Το σύστημα Golgi είναι συμπυκνωμένο σε έναν πόλο του πυρήνα, ενώ μιτοχόνδρια, στοιχεία του λείου ενδοπλασματικού δικτύου, ριβοσωμάτια, και λισσοσωμάτια είναι διάσπαρτα στο κυτταρικό σώμα. Τα κεντρίδια,

τοποθετημένα αρχικά κοντά στο σύστημα του Golgi, μεταναστεύουν στη συνέχεια στον αντίθετο πόλο του κυττάρου (38, 39).

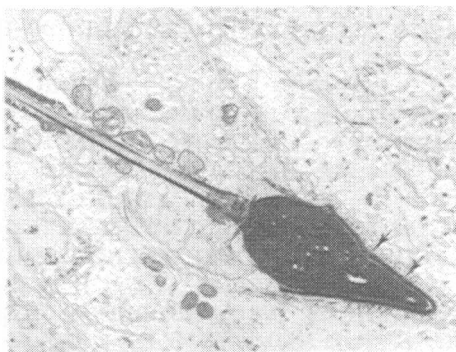
Οι σπερματίδες είναι κύτταρα που δεν έχουν την ικανότητα διαίρεσης, και οι οποίες ακολουθούν σύνθετα φαινόμενα διαφοροποίησης (σπερμιογένεση) που καθορίζουν την μεταμόρφωση τους σε σπερματοζωάρια. Τα κυριότερα φαινόμενα τα οποία συμβαίνουν κατά την διάρκεια της σπερμιογένεσης αντιπροσωπεύονται από: α) τον σχηματισμό του ακροσώματος, το οποίο έχει έναν σημαντικό ρόλο στην γονιμοποίηση του ωαρίου εξαιτίας της αυξημένης περιεκτικότητας υδρολυτικών ενζύμων. Το ακροσώμιο αρχικά σχηματίζεται σαν μια κύστη η οποία προέρχεται από το σύστημα Golgi, και περιέχει ένα υλικό PASpositive, μεσαίας σκιρότητας στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και το οποίο είναι επικολλημένο στο πυρηνικό έλυτρο. Η ακροσωμιακή κύστη έχει τάση διόγκωσης και συμπίεσης, καλύπτοντας περίπου τα $\frac{3}{4}$ του πυρήνα. β) συμπύκνωση του πυρηνικού υλικού, έτσι ώστε από τον πυρήνα των σπερματιδίων σχηματίζεται ένας μικρός πυρήνας, έντονα χρωματιζούμενος που καταλαμβάνει το μεγαλύτερο τμήμα της κεφαλής των σπερματοζωαρίων. γ) σχηματισμός ινιδίων τα οποία χορηγούν στα σπερματοζωάρια την ικανότητα αυτόνομης κίνησης. Τα ινίδια προέρχονται από τα ένα εκ των δυο κεντριδίων, αρχικά αυτά βρίσκονται κοντά στο σύστημα του Golgi, αλλά γρήγορα μετακομίζουν προς την αντίθετη πλευρά, αυξάνουν σε μήκος και εκβάλουν από την επιφάνεια του κυττάρου, καλυμμένα με την πλασματική μεμβράνη σχηματίζοντας έτσι την ουρά του σπερματοζωαρίου. Καθώς συμβαίνουν αυτά τα φαινόμενα, οι σπερματίδες μετακομίζουν όλο και πολύ προς την κορυφή των στηρικτικών κυττάρων του Sertoli, και οι κυτταροπλασματικές γέφυρες που ενώνονται μεταξύ τους καταρρέουν και από κάθε σπερματίδα αποσπάται μια μάζα από κυτταρόπλασμα (υπολειπόμενο σωματίο) στο οποίο η φαγοκυττάρωση γίνεται από τα κύτταρα του Sertoli. Τελικά, γίνονται πλέον σπερματοζωάρια χάνουν τις σχέσεις των με τα στηρικτικά κύτταρα και πέφτουν ελεύθερα στο αυλό των σπερματικών σωληναρίων (40, 41).



Φωτογραφία : 10

Σπερματοζώαρια, μεγέθυνση x 4000 (D.M. Philips).

Τα σπερματοζώαρια είναι κύτταρα πάρα πολύ καλά διαφοροποιημένα, και προέρχονται από το γεννητικό επιθήλιο, βρίσκονται ελεύθερα μέσα στο σπέρμα σε αριθμό που πλησιάζει σε φυσιολογικές συνθήκες περίπου τα 100 εκατομμύρια/ml, και είναι εφοδιασμένα με ικανότητα αυτόνομης κίνησης λόγω της μακριάς ουράς των με μια ταχύτητα μετακίνησης σε ιδανικές συνθήκες περίπου 3 mm/sec (φωτογραφία 10).



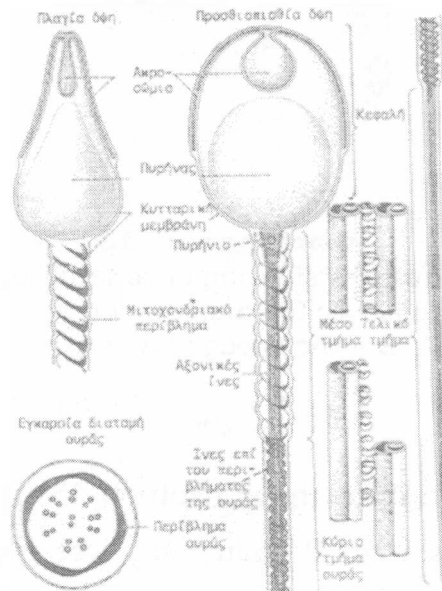
Φωτογραφία : 11

Σπερματοζώαριο σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση x 15000). Η σπερμιογένεση σχεδόν ολοκληρώθηκε, σχηματίσθηκε το ακρόσωμα (βέλη), και συμπυκνώθηκε το πυρηνικό υλικό. Αριστερά φαίνεται το αρχικό τμήμα της ουράς. Τα μιτοχόνδρια είναι τοποθετημένα γύρω από ενδιάμεσο τμήμα της ουράς και σχηματίζουν την χαρακτηριστική μιτοχονδριακή θήκη.

Τα σπερματοζωάρια, των οποίων η δομή ξεκαθάρισε με την βοήθεια του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου αποτελούνται από μια κεφαλή και από μια ουρά. Όπως όλα τα κύτταρα είναι επικαλυμμένα από πλασματική μεμβράνη η οποία με την σειρά της είναι καλυμμένη από ένα λεπτό γλυκοπρωτεϊνικό έλυτρο. Η κεφαλή, η οποία έχει συμπιεσμένο κωνοειδές σχήμα με διαστάσεις 4 – 5 μm μήκος, 3 μm πλάτος και 1 μm πάχος, καταλαμβάνεται δε σε μεγάλο τμήμα από τον πυρήνα, και είναι μερικώς καλυμμένη από το ακροσώμιο. Ο πυρήνας, οποίος καλύπτεται από μια διπλή μεμβράνη χωρίς πόρους, αποτελείται από ένα υλικό χρωματίνης πολύ συμπυκνωμένο στο οποίο υπάρχουν εκτός των άλλων και μικρά κενοτόπια. Το ακρόσωμα, με σχήμα κουκούλας, καλύπτει περίπου τα $\frac{3}{4}$ του προσθίου τμήματος του πυρήνα, είναι πιο παχύ στο ύψος της κορυφής της κεφαλής, ενώ λεπταίνει προς το πίσω τμήμα. Περιέχει μια ομογενή ουσία, αρκετά πυκνή, η οποία αποτελείται από γλυκοπρωτεΐνες και υδρολυτικά ένζυμα και είναι ολοκληρωτικά περικυκλωμένο από μια μεμβράνη που εξωτερικά είναι σε επαφή με την κυτταρική μεμβράνη και εσωτερικά με το πυρηνικό έλυτρο από το οποίο ξεχωρίζει με ένα πολύ λεπτό διάστημα υπό-ακροσωμιακό (9, 30, 42), (φωτογραφία 11).

Η ουρά, συνολικού μήκους 55 – 60 μm , αντιπροσωπεύει το κινητό τμήμα του σπερματοζωαρίου και είναι χωρισμένη σε ένα τμήμα τον αυχένα, σε ένα ενδιάμεσο ή σύζευξης, στο κυρίως τμήμα και στο τελικό. Αποτελείται από τις αξονικές ίνες, δηλαδή μια δέσμη από μικροσωληνάρια τοποθετημένα σύμφωνα με το κλασικό σχήμα 9 + 2 (9 εξωτερικά ζεύγη και 2 κεντρικά μικροσωληνάρια) τυπικό των παλλόμενων κροσσών. Στην περιφέρεια των εξωτερικών μικροσωληναρίων υπάρχουν 9 ινίδια (εξωτερικές ίνες) διαφόρου μήκους και διαμέτρου, αυτές εμφανίζονται εγκάρσια με γραμμώσεις και εκτείνονται από το ενδιάμεσο τμήμα μέχρι σχεδόν σε όλο το κυρίως τμήμα όπου και λεπταίνουν καταλήγοντας σε διαφορά ύψη. Ο αυχένος αντιπροσωπεύει το τμήμα ένωσης της ουράς στο οπίσθιο πόλο της κεφαλής, εκεί όπου υπάρχει μια εσοχή (εσοχή της ένωσης) στην οποία βρίσκεται μια μικρή πλάκα αποτελούμενη από ένα υλικό πυκνό και άμορφο (βασική πλάκα).

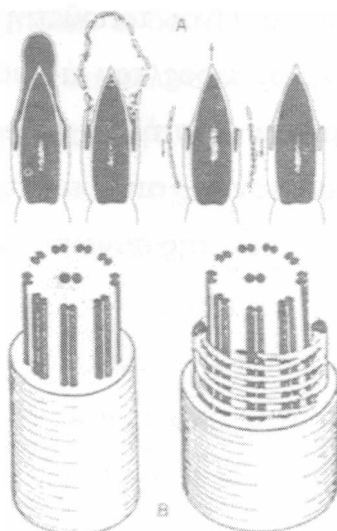
Κάτω από την βασική πλάκα είναι τοποθετημένο το εγγύς κεντρίδιο, προσανατολισμένο πλάγιως ως προς τον άξονα της ουράς. Επί πλέον ακόμη από κάτω βρίσκονται 9 στήλες με εγκάρσιες γραμμώσεις οι οποίες φαίνονται να προέρχονται από το περιφερικό κεντρίδιο και αποτελούν το ονομαζόμενο τμήμα της συνοχής (φωτογραφία 12).



Φωτογραφία : 12

Μορφολογία σπερματοζωαρίου (J. Schultz-Larsen)

Τον αυχένα ακολουθεί το ενδιάμεσο τμήμα μήκους περίπου 6 μm και ελάχιστα διογκωμένο, αποτελείται από τις αξονικές ίνες, από τις 9 εξωτερικές που αντιπροσωπεύουν την συνέχεια των γραμμωτών στηλών και από ένα περίβλημα, μιτοχονδριακό, σχηματισμένο από επιμηκυνσμένα μιτοχόνδρια τα οποία ακουμπούν με τα άκρα τους όπου παίρνουν ένα ελικοειδές σχήμα. Το μιτοχονδριακό περίβλημα εκτείνεται μέχρι έναν δακτύλιο πυκνά συμπυκνωμένο, επικολλημένο στην πλασματική μεμβράνη (δακτύλιος του Jensen) ο οποίος ορίζει τα όρια μεταξύ ενδιάμεσου τμήματος και του κυρίως τμήματος (43), (φωτογραφία 13).



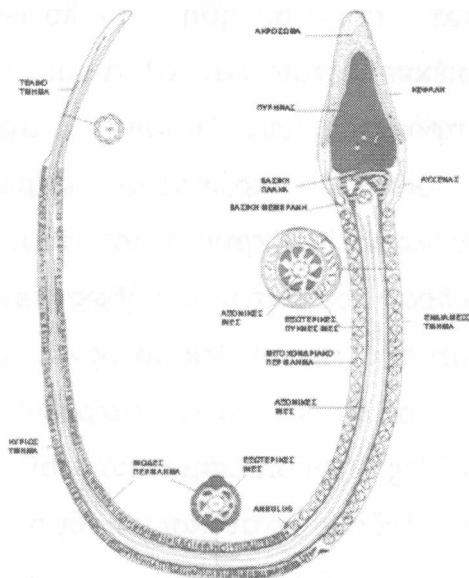
Φωτογραφία : 13

Σχηματική απεικόνιση σπερματοζωαρίου.

A = Μορφολογικές αλλαγές του ακροσωμίου πριν τη γονιμοποίηση,
B = της ουράς (fawcett).

Το κυρίως τμήμα έχει μήκος περίπου 45 μm και πάχος 0.5 μm , εδώ οι αξονικές ίνες και οι 9 εξωτερικές ίνες περιβάλλονται από ένα μακρύ ινώδες περίβλημα σχηματισμένο από λεπτά ινίδια κυκλικής ή ελικοειδούς διεύθυνσης, από την κοιλιακή και την ραχιαία πλευρά του ινώδους περιβλήματος φαίνεται πιο πεπαχυσμένο αποτελώντας τις λεγόμενες επιμήκεις στήλες (φωτογραφία 14). Το τελικό τμήμα είναι βραχύ και χωρίς το ινώδες περίβλημα και τις εξωτερικές ίνες, αποτελείται όμως μόνον από τις αξονικές ίνες οι οποίες περιβάλλονται από την πλασματική μεμβράνη. Στο άκρο της ουράς τα μικροσωληνάρια των αξονικών ινών κάνουν την κανονική τους διάταξη. Το ιδίως πέταλο των σπερματικών σωληναρίων, ξεχωρισμένο από το γεννητικό επιθήλιο δια της βασικής μεμβράνης παρουσιάζει μια ιδιόμορφη κατασκευή. Αποτελείται από πεπλατυσμένα κύτταρα τοποθετημένα σε περισσότερα επίπεδα διαχωρισμένα από ουσία διακυτταρική πλούσια σε ίνες κολλαγόνου. Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο στα πεπλατυσμένα κύτταρα παρατηρούνται, εκτός από πολυάριθμα μιτοχόνδρια και σωμάτια γλυκογόνου, μικρές δέσμες ινιδίων σταθεροποιημένα στην

πλασματική μεμβράνη δια συμπαγών σωμάτων (πλάκες ένωσης). Εξ αιτίας αυτής της μορφής αυτά τα κύτταρα ερμηνεύονται σαν συσταλτά στοιχεία. Στο περιφερικό μέρος το ιδίως πέταλο συνεχίζει με το διασωληναριακό στρώμα (44).



Φωτογραφία : 14

Σχηματική παράσταση σπερματοζωαρίου.

Στρώμα

Αποτελείται από φτωχό αραιό συνδετικό ιστό που καταλαμβάνει σε κάθε κοιλότητα τον χώρο που αφήνεται ελεύθερος από τα σπερματικά σωληνάκια και συνεχίζει και με την ιδίως μεμβράνη των σπερματικών σωληναρίων αλλά και με τον ινώδη σκελετό του όρχι. Στο στρώμα εκτός από κύτταρα ινώδους ιστού και τα λοιπά τυπικά κύτταρα του αραιού συνδετικού ιστού υπάρχουν και ιδιόμορφα άλλα στοιχεία πιθανής μεσεγχυματικής προέλευσης στα οποία αναγνωρίστηκε μια ενδοκρινής λειτουργία, και ονομάζονται κύτταρα του διαμέσου ιστού (Leydig) και στο σύνολο τους αποτελούν τον διάμεσο αδένιο του όρχι (9).

Κύτταρα του διαμέσου ιστού

Είναι αρκετά ογκώδη με διάμετρο μέχρι 20 – 25 μm και μπορούν να βρίσκονται μεμονωμένα ή σε μικρές ομάδες, στην πρώτη περίπτωση έχουν ένα σφαιροειδές σχήμα, ενώ στην δεύτερη έχουν πολυεδρικό σχήμα λόγω των στενών δεσμών που έχουν μεταξύ τους. Ο πυρήνας, πολλές φορές έκκεντρος είναι αρκετά μεγάλος και παρουσιάζει μια διάσπαρτη χρωματίνη, περιέχει δε ένα ή δυο πυρήνια. Το κυτταρόπλασμα, στα πιο συνήθη ιστολογικά παρασκευάσματα εμφανίζεται να περιέχει κενοτόπια, άλλα με κατάλληλες μεθόδους αποδεικνύεται ότι πρόκειται για λιπιδικά σταγονίδια. Είναι ακόμη εμφανείς μεγάλοι κόκκοι χρώματος κιτρινο-καφεοειδούς και σχηματισμοί κρυσταλλοειδείς (κρύσταλλοι του Reinke) σημαντικών διαστάσεων και διαφόρων σχημάτων συνήθως τύπου ραβδίου με λεπτά άκρα. Στην υπερδομή του πρωτοπλάσματος τα κύτταρα του διαμέσου ιστού εμφανίζουν τα χαρακτηριστικά των στεροειδογεννητικών στοιχείων: το μη κοκκιοματώδες ενδοπλασματικό δίκτυο είναι ιδιαίτερα ανεπτυγμένο, τα μιτοχόνδρια είναι πολυάριθμα και με σωληναριακές ακρολοφίες, το σύστημα του Golgi είναι αρκετά εμφανές, παρατηρούνται επίσης λιπιδικά σταγονίδια και ιδίως στους ηλικιωμένους ανευρίσκονται και κόκκοι λιποφουσκίνης. Τα κρύσταλλα του Reinke εμφανίζονται σχηματισμένα από μικροσωληνάρια τα οποία είναι πολύ στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους (9, 30, 44).

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Ο όρχις αποτελείται από σωληνάρια, τα οποία παράγουν σπερματοζώαρια και από διάμεσα κύτταρα, τα οποία παράγουν ανδρογόνες ορμόνες (έσω έκκριση). Τα σωληνάρια αντιπροσωπεύουν το 80 - 90% του όγκου του όρχι. Το μήκος του όρχι, όπως ήδη αναφέρθηκε, ανέρχεται σε 4 - 4.5 cm περίπου και το βάρος σε 14 - 20 gr. Τα σωληνάρια έχουν σχήμα U με τα δύο τους άκρα να καταλήγουν στο μεσαύλιο. Νεύρωση του όρχι με σωματικά νεύρα δεν έχει βρεθεί, το συμπαθητικό δε σύστημα (adrenergic) δεν παίζει και τόσο σημαντικό ρόλο. Από πλευράς αγγείωσης φαίνεται ότι υπάρχει μία ειδική πορεία και κατανομή των αγγείων του όρχι, η οποία αποσκοπεί στην πώση της θερμοκρασίας του αίματος. Γνωρίζουμε ότι οι όρχεις έχουν θερμοκρασία μικρότερη κατά 2 - 4°C από το ορθό. Οι όρχεις, έχουν και μια πλούσια λεμφική αποχέτευση. Τελευταία έχει αποδειχθεί ότι μεταξύ της λέμφου, δηλαδή των υγρών του ενδιαμέσου ιστού, και των ενδοαυλικών υγρών των σπερματικών σωληναρίων υπάρχει διαφορά. Διαφορά επίσης στη σύνθεση υπάρχει και μεταξύ των ενδοαυλικών αυτών υγρών και του αίματος. Επίσης πιστεύεται ότι τα ενδοαυλικά υγρά παράγονται από τα κύτταρα του Sertoli και αποχετεύονται προς το μεσαύλιο. Τα παραπάνω οδηγούν στο συμπέρασμα ότι, μεταξύ των ενδοαυλικών υγρών αφενός και του πλάσματος του αίματος αφετέρου υπάρχει ένας φραγμός (αιματορχικός φραγμός). Πιθανόν ο φραγμός αυτός να είναι αυτά τα ίδια τα κύτταρα του Sertoli με τις μεμβράνες των, πολλά από τα οποία συμπιέζονται μεταξύ των, ή να είναι τα μυϊκά στοιχεία της περισωληναριακής μεμβράνης (45).

Ο πραγματικός ρόλος των κυττάρων του Sertoli τα οποία βρίσκονται αμέσως επί τα εντός της βασικής μεμβράνης και δίνουν νημάτια προς τον αυλό, δεν έχει απόλυτα διευκρινισθεί. Πρόκειται περί υποστηρικτικών κυττάρων με σταθερό πληθυσμό, μη διαιρούμενα περαιτέρω. Παρουσιάζουν ισχυρές διασυνδέσεις μεταξύ τους ενισχυμένες και από μυϊκά κύτταρα τις περισωληναριακής στοιβάδας, σχηματίζοντας κατά κάποιον τρόπο ένα φραγμό μεταξύ του κυκλοφορούντος αίματος

και του αυλού των σωληναρίων. Ο φραγμός αυτός από ανοσολογικής πλευράς δημιουργεί ένα απομονωμένο περιβάλλον για την ανάπτυξη των σπερματοζωαρίων. Αυτά παράγονται κατά την ήβη, χρονικά πολύ μακριά από το χρόνο αυτο – αναγνώρισης των κυττάρων από το ανοσοβιολογικό σύστημα. Για το λόγο αυτό δεν αναγνωρίζονται ως ίδια κύτταρα του οργανισμού και η επικοινωνία θα τα κατέστρεφε ως «ξένο λεύκωμα». Φαίνεται ότι, εκτός από το φράγμα και τη δημιουργία ενός ιδιαίτερου ενδοαυλικού περιβάλλοντος, πιθανόν να επενεργούν και στη διαίρεση και προώθηση των γεννητικών κυττάρων. Έχουν επίσης παρατηρηθεί και φαγοκυτταρικές ιδιότητες των κυττάρων αυτών, εκτός από την εκκριτική τους ικανότητα. Τελευταία βρέθηκε μια πρωτεΐνη, η οποία μάλλον παράγεται από τα κύτταρα του Sertoli και δεσμεύει τα ανδρογόνα. Η παραγωγή ή η περισυλλογή και συγκέντρωση αυτής από τα κύτταρα του Sertoli, έχει σαν αποτέλεσμα κατ' επέκταση τη δέσμευση από αυτά μεγάλων ποσοτήτων ανδρογόνων, τα οποία εναποθηκεύουν και κατακρατούν μέσα στα σωληνάκια (androgen binding protein). Άλλες λειτουργίες των κυττάρων του Sertoli, είναι η παραγωγή ανασταλτικής της έκκρισης της FSH ουσίας, όπως είναι γνωστό, είναι ο πιθανός μεταβολισμός ορισμένων στεροειδών ορμονών και η διατήρηση ειδικών δεσμευτικών υποδοχέων της FSH στην επιφάνεια της κυτταρικής των μεμβράνης. Επειδή ο όρχις παράγει, σε αντίθεση με την ωοθήκη, πολλά εκατομμύρια σπερματοζώαρια ημερησίως και για πολλές δεκαετίες, πιστεύεται ότι υπάρχουν τα βασικά ή στελεχιαία αρχέγονα κύτταρα ή σπερμογόνα (Stem cells), τα οποία διαιρούμενα, είτε αναπαραγάγουν όμοια κύτταρα (ανανέωση στελεχιαίων κυττάρων), είτε παράγουν θυγατρικά κύτταρα, τα οποία εξελίσσονται περαιτέρω σε σπερματοζώαρια. Η υποφυσεκτομή προκαλεί ατροφία του σπερματικού επιθηλίου, των κυττάρων του Leydig και περισωληναριακή ίνωση. Τελευταία για την ομαλή λειτουργία της σπερματογένεσης πιστεύεται ότι, είναι απαραίτητος ο συνδυασμός αμφοτέρων των γοναδοτρόπων ορμονών (46, 47).

Η έσω έκκριση του όρχι αφορά στην έκκριση των ανδρογόνων ορμονών με κύριο αντιπρόσωπο την τεστοστερόνη. Η τεστοστερόνη

παράγεται από τα κύτταρα του Leydig κατά δόσεις ανάλογα με τις τιμές της LH, αποτέλεσμα αυτού είναι να παρουσιάζει αυξομειώσεις στην διάρκεια του 24ωρου. Αυξημένη έκκριση παρατηρείται κατά τις πρωινές ώρες, ενώ ελαττωμένη κατά τις βραδινές ώρες. Εκτός από την τεστοστερόνη, από τους όρχεις παράγονται και η διυδροτεστοστερόνη, η οιστραδιόλη, η οιστρόνη, η προγεστερόνη και άλλες. Η τεστοστερόνη αφενός μεν δρα στη φυσιολογική διαμόρφωση ορισμένων οργάνων του σώματος, αφετέρου δε στην ενεργοποίηση ορισμένων λειτουργιών αυτών ή άλλων οργάνων. Η τεστοστερόνη στη σπερματική φλέβα παρουσιάζει τιμές που φθάνουν τα 30 - 50 mg/100 mL, συγκέντρωση 75 φορές μεγαλύτερη των περιφερικών φλεβών, όπου η τιμή της είναι περίπου στα 600 ng/100 mL. Τα 600 ng/100 mL είναι το άθροισμα της ελεύθερης τεστοστερόνης και της συνδεδεμένης με τις πρωτεΐνες. Δεν συμπεριλαμβάνεται η χημικά συνδεδεμένη, όπως η γλυκουρονική ή θειική τεστοστερόνη, η οποία είναι ευδιάλυτη και μπορεί στους διαφόρους ιστούς, με την επίδραση διαφόρων ενζύμων, να μετασχηματίζεται. Στα φυσιολογικά αρρενα άτομα το 2% της τεστοστερόνης βρίσκεται σε ελεύθερη μορφή, το 44% είναι συνδεδεμένη με την τεστοστερόνη - οιστρογόνων δεσμευτική σφαιρίνη η οποία ονομάζεται και των φυλετικών ορμονών δεσμευτική σφαιρίνη (TeBG) και το 54% με λευκωματίνη ή άλλες λευκωματούχες ουσίες. Στα σπερματικά σωληνάρια, όπως γνωρίζουμε, συνδέεται με την παραγόμενη ή αθροιζόμενη από τα κύτταρα του Sertoli δεσμευτική των ανδρογόνων πρωτεΐνη (48).

Για πολλά χρόνια ήταν παραδεκτό ότι η δραστική τεστοστερόνη στα κύτταρα ήταν η ελεύθερη και όχι η συνδεδεμένη. Σήμερα οι απόψεις έχουν διαφοροποιηθεί, διότι η είσοδος της τεστοστερόνης μέσα στα κύτταρα είναι πολύπλοκη και πιθανόν πριν την είσοδο να δημιουργούνται και αποδεσμευτικές εξεργασίες από τη σφαιρίνη. Η δεσμευτική σφαιρίνη των φυλετικών ορμονών, φαίνεται ότι έχει μεγαλύτερη σχέση με την τεστοστερόνη παρά με την οιστραδιόλη. Η σφαιρίνη αυτή αυξάνεται με τη χορήγηση οιστρογόνων, ορμόνης του θυρεοειδούς, στην κίρρωση του ήπατος και μπορεί να ελαττωθεί με τη

χορήγηση ανδρογόνων ή αυξητικής ορμόνης (46, 48).

Τα αποβαλλόμενα ολικά 17-κεστοστεροειδή στα ούρα δεν αποτελούν τους μεταβολίτες, από τα διάφορα όργανα (ήπαρ, έντερο), μόνο της ελεύθερης τεστοστερόνης, αλλά αποτελούν και της παραγόμενης από τους όρχεις τεστοστερόνη. Συμμετέχουν επίσης και τα στεροειδή των επινεφριδίων, όπως και μη ανδρογόνα στεροειδή. Η τεστοστερόνη με την επίδραση της 5 α -reductase μετατρέπεται σε διυδροτεστοστερόνη, η οποία είναι ισχυρότερη της τεστοστερόνης. Στο αίμα η συγκέντρωση αυτής είναι μικρή και βρίσκεται στερεά συνδεδεμένη με τα λευκώματα, γι' αυτό η επίδρασή της στα δευτερεύοντα γεννητικά όργανα είναι αμελητέα. Σε αντίθεση προς την διυδροτεστοστερόνη η οποία κυκλοφορεί στο αίμα, η παραγόμενη μέσα στα δευτερεύοντα όργανα διυδροτεστοστερόνη, όπου υπάρχουν και αντίστοιχοι υποδοχείς, αποτελεί την κυρία δραστική ορμόνη για την ανάπτυξη και λειτουργία των οργάνων αυτών (49).

Εκτός από τις παραπάνω ορμόνες στο αίμα του άνδρα κυκλοφορεί και μια ποσότητα οιστρογόνων. Οι ορμόνες αυτές έχει σήμερα πλήρως αποδειχθεί ότι, παράγονται στους περιφερικούς ιστούς (λιπώδη ιστό πιθανόν) από μετατροπή της τεστοστερόνης και της ανδροστενεδιόνης σε εστραδιόλη και εστρόνη αντίστοιχα. Μικρές ποσότητες παράγονται και από τα κύτταρα του Sertoli και φαίνεται ότι, υπάρχει μια σχέση μεταξύ των παραγομένων από τα κύτταρα του Leydig και του Sertoli ορμονών. Η σχέση αυτή με την πάροδο του χρόνου διαταράσσεται, και για αυτό στους άνδρες, ηλικίας άνω των 50 ετών, παρατηρείται μια αύξηση του ολικού ποσού της εστραδιόλης και κυρίως της συνδεδεμένης με τα λευκώματα, ενώ η ελεύθερη παραμένει περίπου στα αυτά επίπεδα των προηγούμενων ηλικιών (50).

Η τεστοστερόνη η οποία κυκλοφορεί στο πλάσμα, όπως προαναφέρθηκε, είναι κατά 98% συνδεδεμένη με λευκώματα και 2% ελεύθερη. Οι πρωτεΐνες του πλάσματος που συνδέονται με τα στεροειδή είναι διάφορες λευκωματίνες, σφαιρίνες, γλυκοπρωτεΐνες κ.λ.π. Πολλές φορές μια ορμόνη δυνατόν να είναι συνδεδεμένη με διαφορετικές πρωτεΐνες. Η ολική ποσότητα των συνδεδεμένων με λευκώματα

στεροειδών εξαρτάται, αφενός μεν από την ειδική ικανότητα των στεροειδών να συνδέονται με ορισμένες πρωτεΐνες, αφετέρου δε από τη «χωρητικότητα» των πρωτεϊνών, η οποία είναι εξάρτηση της ποσότητας των πρωτεϊνών στο κυκλοφορούν πλάσμα. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι, στον προσάτη για παράδειγμα εισέρχεται ελεύθερη τεστοστερόνη, η ποσότητα όμως αυτής επηρεάζεται από τη συνδεδεμένη με τα λευκώματα. Έτσι η αύξηση ή μη της σύνδεσης επιδρά ρυθμιστικά και έμμεσα στη λειτουργία και ανάπτυξη των δευτερευόντων γεννητικών αδένων (51, 52).

Μετά από ορχεκτομή η ποσότητα της τεστοστερόνης, η οποία κυκλοφορεί στο αίμα, ελαττώνεται περίπου κατά 93% και φθάνει σχεδόν στα αυτά ποσά της μη εγκυμοσύνης της γυναίκας 43 ± 32 ng/100 mL. Σε ορχεκτομή η ανεύρεση ανδρογόνων σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες των προ της ήβης παιδιών, σημαίνει ότι υπάρχει έξω ορμική παραγωγή ανδρογόνων. Σε άτομα τα οποία υποβλήθηκαν σε ορχεκτομή τα ανδρογόνα-οιστρογόνα, η ηπατική λειτουργία και ο ρόλος αυτών στη ρύθμιση της λειτουργίας υπόφυσης-επινεφριδίων είναι αρκετά πολύπλοκος και σχεδόν αδιευκρίνιστος μέχρι σήμερα. Γεγονός πάντως παραμένει ότι, στα πειραματόζωα, τουλάχιστον μετά την ορχεκτομή, έχει παρατηρηθεί αύξηση της ACTH και υπερπλασία των επινεφριδίων, όπως και αύξηση της παραγωγής ανδρογόνων. Αντί της επινεφριδεκτομής σήμερα είναι δυνατόν φαρμακολογικά να γίνει αναστολή στην παραγωγή των ανδρογόνων από το επινεφρίδιο, σε ασθενείς με ορχεκτομή, με τη χορήγηση σε αυτούς είτε της Spirolactone, η οποία αναστέλλει τη δράση του ενζύμου 17,20-Lyase, είτε της Aminoglutethimide, η οποία επίσης είναι ενζυματικό ανασταλτικό (53, 54).

Το ποσόν της παραγόμενης τεστοστερόνης εξαρτάται από το ποσόν της βρισκόμενης σε κυκλοφορία ορμόνης LH της υπόφυσης. Αυτή η ίδια η τεστοστερόνη όμως, επενεργεί ανασταλτικά στην παραγωγή της LH. Σε ασθενείς με ορχεκτομή αυξάνονται σημαντικά οι ποσότητες στο αίμα τόσο της LH όσο και της FSH. Επίσης τα κύτταρα της υπόφυσης μετά ορχεκτομή υφίστανται ορισμένες διαφοροποιήσεις. Οι διαφοροποιήσεις αυτές αναστέλλονται εάν χορηγήσουμε τεστοστερόνη ή οιστρογόνα, όπως

επίσης και η σύνθεση και η κυκλοφορία των LH και FSH ορμονών. Ιδιαίτερα, χορήγηση 50 mg τεστοστερόνης προκαλεί σημαντική αναστολή της LH, ενώ η FSH επηρεάζεται σε πολύ μεγαλύτερες δόσεις, όπως δηλαδή σε 100 mg τεστοστερόνης. Σε αντίθεση με την τεστοστερόνη, τα οιστρογόνα προκαλούν συγχρόνως πτώση της κυκλοφορίας τόσο της LH όσο και της FSH και έτσι επηρεάζουν και τη σύνθεση της τεστοστερόνης έμμεσα, αν και υπάρχουν και αποδείξεις για άμεσο επηρεασμό της σύνθεσης της τεστοστερόνης με απευθείας επίδραση επί των ενζύμων που συνθέτουν αυτή. Από τις άλλες ορμόνες η προλακτίνη φαίνεται ότι αυξάνει τους υποδοχείς των γοναδοτροπινών. Τα κέντρα τα οποία υποδέχονται την ανασταλτική ενέργεια της τεστοστερόνης και των οιστρογόνων, όπως προαναφέρθηκε, βρίσκονται τόσο στον υποθάλαμο όσο και στην υπόφυση. Με χορήγηση εξωγενούς LH παρατηρείται ελάττωση των υποδοχέων της LH των κυττάρων, ενώ σε μεγάλες και συνεχείς, δόσεις της GnRH ή των αναλόγων αυτής ελαττώνονται και οι υποδοχείς των κυττάρων του Leydig και η έκκριση της LH. Τα σπερματοζώαρια στερούνται της ικανότητας διαιρέσεως, προκαλούν αλυσιδωτές αντιδράσεις στο ωάριο, κινούνται, στερούνται όμως αρκετών στοιχείων διατροφής. Γι' αυτό προσλαμβάνουν τα αναγκαία στοιχεία και από τα υγρά του προστάτη και των σπερματοδόχων κύστεων (55, 56).

Την ανάπτυξη των όρχεων (έσω-έξω λειτουργία) επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά διάφοροι παράγοντες, όπως οι ορμόνες της υπόφυσης και των επινεφριδίων, οι ορμόνες του θυρεοειδούς, οι βιταμίνες (A, B, C), η διατροφή και μάλιστα τα διάφορα λευκώματα, όπως η αργινίνη, η τρυπτοφάνη, η λυσίνη κ.λ.π. και τέλος το επίπεδο θερμοκρασίας του περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκονται (57).

Η ορμονική λειτουργία του όρχι εξαρτάται από τις ορμόνες της υπόφυσης και μάλιστα από την FSH (Follicle Stimulating Hormone) και την LH (Luteinizing Hormone). Όπως ήδη αναφέρθηκε, η κυκλοφορία των ορμονών αυτών ρυθμίζεται μερικώς από άλλο παράγοντα, την δεκατοπεπτιδίο LH Releasing Hormone, η οποία παράγεται στον υποθάλαμο και δια των αγγείων της υπόφυσης φθάνει στην υπόφυση. Υποφυσιακός Releasing παράγοντας δεν έχει βρεθεί για την FSH. Η

σύνθεση της τεστοστερόνης προάγεται δια της LH υποφυσιακής ορμόνης, αν και ο τρόπος δράσης αυτής δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος. Τα κύτταρα του Leydig στην επιφάνειά τους έχουν υποδοχείς, οι οποίοι υποδέχονται την LH ορμόνη. Η σύνδεση αυτή έχει σαν αποτέλεσμα την έντονη ενεργοποίηση του ενζύμου Adenyl Cyclase. Το ένζυμο αυτό επιταχύνει τη μετατροπή της Adenosine Triphosphate σε Cyclic 3' - 5' Adenosine Monophosphate. Η τελευταία προκαλεί μια ενεργοποίηση και αύξηση πολλών ενζύμων στο κύτταρο, τα οποία στη συνέχεια επιταχύνουν τη βιοσύνθεση των ανδρογόνων ορμονών. Τα κύτταρα των Leydig έχουν επίσης την ικανότητα, από διάφορες άλλες ουσίες (Cholesterol) να συνθέτουν στεροειδείς ορμόνες, όπως επίσης οι όρχεις μπορούν να εκκρίνουν διυδροτεστοστερόνη, υδροξυπρογεστερόνη και οιστραδιόλη. Η μεγαλύτερη ποσότητα η οποία βρίσκεται σε κυκλοφορία οιστραδιόλης, παράγεται στους περιφερικούς ιστούς, από ενζυματική μετατροπή της τεστοστερόνης. Οι όρχεις περιέχουν περίπου 350.000.000 κύτταρα του Leydig. Τα κύτταρα αυτά εμφανίζουν την πρώτη τους λειτουργικότητα κατά την ενδομήτριο ζωή, μεταξύ της 8^{ης} και 20^{ης} εβδομάδας και για ένα μικρό χρονικό διάστημα κατά τη νεογνική περίοδο. Μέχρι την ήβη παραμένουν λειτουργικά μη ενεργά. Πιθανόν να υπάρχουν διαφορετικές γενεές κυττάρων Leydig στο έμβρυο και στον ενήλικα (58).

Κατά ποιο τρόπο ελευθερώνονται τα ανδρογόνα από τα κύτταρα του Leydig και των επιθηλίων δεν είναι γνωστό πλήρως. Αυτά αυξάνουν κατά την ήβη και φθάνουν το μέγιστο (7 mg/day) μετά την ήβη. Στο περιφερικό αίμα οι φυσιολογικές τιμές της τεστοστερόνης ανέρχονται σε 300 ng/dL και της διυδροτεστοστερόνης σε 1200 ng/dL. Η μεγαλύτερη ποσότητα της διυδροτεστοστερόνης παράγεται στους περιφερικούς ιστούς από μετατροπή της τεστοστερόνης και δεν παράγεται από τα κύτταρα του Leydig. Τα 98% των ανδρογόνων στο αίμα βρίσκονται συνδεδεμένα με πρωτεΐνες και μάλιστα με ειδική πρωτεΐνη τη Β σφαιρίνη. Τελευταία έχει παρατηρηθεί ότι, και η FSH και η προλακτίνη συμμετέχουν στην προαγωγή της σύνθεσης της τεστοστερόνης από τα κύτταρα του Leydig. Η βιολογική δράση της τεστοστερόνης εξασκείται σε εκείνα μόνο τα

κύτταρα που είναι εφοδιασμένα με εκλεκτικό υποδοχέα των ανδρογόνων στην κυτταρική τους μεμβράνη. Η τεστοστερόνη εισερχόμενη στα υπό επίδραση κύτταρα μετατρέπεται με τη επίδραση του ενζύμου 5α-reductase στην ισχυρότερη διυδροτεστοστερόνη. Η διυδροτεστοστερόνη και πιθανόν μέρος της τεστοστερόνης συνδέονται με ειδική πρωτεΐνη και μεταφέρονται εντός του πυρήνα, όπου συνδέεται με ορισμένο γονύλλιο του χρωμοσώματος. Αποτέλεσμα της σύνδεσης αυτής είναι η δημιουργία ειδικού RNA (mRNA), ο οποίος μεταφέρεται εκτός του πυρήνα στα μιτοχόνδρια. Εκεί προσκομίζει πληροφορίες για τον ανδρογονικό τρόπο σύνθεσης πρωτεϊνών. Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι με τη δράση της η τεστοστερόνη στους υπό επίδραση ιστούς προκαλεί: α) ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροπινών (υποθάλαμος-υπόφυση), β) εκκίνηση και διατήρηση της σπερματογένεσης, γ) διαφοροποίηση των έξω γεννητικών οργάνων και δ) αρρενοποίηση του ατόμου (58, 59).

Ο ακριβής ρόλος της FSH δεν έχει καθορισθεί ακόμη, πάντως η σπερματογένεση απαιτεί την παρουσία της FSH και μεγάλες συγκεντρώσεις ανδρογόνων εντός του ορχικού ιστού. Η ύπαρξη στα ορχικά (σπερματικά) σωληνάρια υποδοχέων ανδρογόνων ενισχύει την άποψη ότι, για τη σπερματογένεση απαιτούνται μεγάλες ποσότητες ανδρογόνων. Εκτός από τα παραπάνω έχει αποδειχθεί ότι, η FSH κυρίως συνδέεται με τα κύτταρα του Sertoli και προάγει την παραγωγή ορισμένης πρωτεΐνης από τα κύτταρα αυτά, η οποία πρωτεΐνη, δεσμεύει τα ανδρογόνα. Η ενέργεια αυτή ρυθμίζεται επίσης από την Cyclic Adenosine Monophosphate. Αναφέρθηκε παραπάνω για την άμεση σχέση και λειτουργική αλληλεπίδραση των δύο βασικών τμημάτων του όρχι, των ενδιάμεσων κυττάρων και των σπερματικών. Η ορμόνη LH επηρεάζει τη σπερματογένεση έμμεσα, μετά από ερεθισμό των κυττάρων των Leydig για την παραγωγή τεστοστερόνης, η οποία τεστοστερόνη επιδρά επί των σπερματικών κυττάρων. Επίσης η FSH δρα κυρίως στα κύτταρα του Sertoli. Αυτό αποδεικνύεται από την ύπαρξη άφθονων εξειδικευμένων για την FSH ορμόνη υποδοχέων στην επιφάνεια των κυττάρων του Sertoli. Έτσι η τεστοστερόνη και η FSH είναι οι μόνες ορμόνες που επιδρούν άμεσα στα κύτταρα των σπερματικών σωληναρίων.

Αναφέρθηκε επίσης για τη δεσμευτική των ανδρογόνων πρωτεΐνη η οποία παράγεται από τα κύτταρα του Sertoli, και είτε μεταφέρει την τεστοστερόνη στα κύτταρα, είτε στους επιδιδυμικούς πόρους είτε την εναποθηκεύει, οπότε μεγάλες ποσότητες από την ορμόνη αυτή υπάρχουν στα σωληνάκια. Η αρχική εκκίνηση της σπερματογένεσης φαίνεται ότι είναι ανεξάρτητη της συνέχισης, διότι για την εκκίνηση απαιτούνται και η τεστοστερόνη και η FSH, ενώ για τη διατήρηση μόνο η τεστοστερόνη (60).

Η αναστολή έκκρισης της LH πραγματοποιείται από την σε κυκλοφορία βρισκόμενη ποσότητα τεστοστερόνης και οιστραδιόλης στο αίμα. Για την FSH, φαίνεται ότι υπάρχει ένας ειδικός αναστολέας, όχι στεροειδής φύσης, ο οποίος παράγεται από τα σπερματικά επιθήλια και μάλιστα από τα κύτταρα του Sertoli και είναι πρωτεϊνικής σύστασης. Ρυθμιστικά της έκκρισης της FSH θα πρέπει να θεωρούνται και οι γεννητικές ορμόνες. Η ηλικία επηρεάζει την ενδοκρινική και μη λειτουργία του όρχι και οι πλέον έντονες εκφυλιστικές αλλοιώσεις λόγω της ηλικίας είναι η πάχυνση της βασικής μεμβράνης των σπερματικών σωληναρίων και η ελάττωση του αριθμού των σπερμογονίων και των σπερματοκυττάρων. Παρόλο αυτά η γονιμότητα εξακολουθεί να υπάρχει, έχει αναφερθεί ακόμη και στην ηλικία των 94 ετών (61).

ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

Ορχίτιδα

Πολύ σπάνια, η ορχίτιδα παρουσιάζεται σαν ανεξάρτητη φλεγμονή. Στις περισσότερες περιπτώσεις και σε ένα μεγάλο ποσοστό, ο όρχις προσβάλλεται είτε από επέκταση μιας φλεγμονής της επιδιδυμίδας (ορχεοεπιδιδυμίτιδα) είτε κατά την εξέλιξη μιας παρωτίτιδας, μιας βρουκέλλωσης κ.λ.π. Κλινικά, η ορχίτιδα εκδηλώνεται με διόγκωση και πόνο στον όρχι, ενώ το όσχεο εμφανίζεται οίδηματώδες και ερυθρό. Συχνά επίσης εμφανίζεται υψηλός πυρετός, ενώ υπάρχουν και υποξείες μορφές, όπου ο πυρετός λείπει και τα τοπικά συμπτώματα είναι ελαφρότερα (62).

Η διάγνωση της ορχίτιδας είναι εύκολη, πάντοτε όμως σε τέτοιες περιπτώσεις πρέπει να σκέπτεται κανείς τη διαφορική διάγνωση από τη φλεγμονώδη μορφή του νεοπλασματος του όρχι, που πολλές φορές μόνο με τη χειρουργική διάνοιξη είναι δυνατό να γίνει. Η θεραπεία της ορχίτιδας είναι ανάλογη με το αίτιο που προκαλεί τη φλεγμονή, οπωσδήποτε όμως πολλές περιπτώσεις (ιδίως παρωτιδικής ορχίτιδας) καταλήγουν τελικά σε ατροφία του όρχι και σε αμφοτερόπλευρες μορφές, σε στείρωση (30%) (63).

Επιδιδυμίτιδα

Διακρίνεται σε οξεία επιδιδυμίτιδα, που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή πόνο και οίδημα στην επιδιδυμίδα, και σε χρόνια με ήπιο πόνο στην επιδιδυμίδα και στον όρχι χωρίς όμως την παρουσία οιδήματος. Μέχρι πρόσφατα, ένα μεγάλο ποσοστό αποδίδεται σε ιδιοπαθή αίτια. Μια αμφισβητούμενη αιτιολογία είναι η παλινδρόμηση ούρων στον εκοπερματικό πόρο, και η κατάσταση της δυσενέργειας του έξω σφιγκτήρα της ουρήθρας. Οι επιδιδυμίτιδες που οφείλονται σε σεξουαλικά μεταδιδόμενους μικροοργανισμούς αφορούν άνδρες κάτω των 35 ετών, στην πλέον ενεργό σεξουαλική ηλικία. Οι συχνότερες αιτίες είναι ο γονόκοκκος και τα χλαμύδια, τα οποία προκαλούν ουρηθρίτιδα. Περίπου $\frac{3}{4}$ των ανδρών με επιδιδυμίτιδα έχουν ως αιτιολογικό

παράγοντα τα χλαμύδια. Αντίθετα, σε ηλικίες πάνω από 35 ετών, η πιο συχνή αιτία είναι το κολοβακτηρίδιο. Σπανιότερες αιτίες είναι ο αιμόφιλος της ινφλουέντσας, ο βάκιλος του Koch και η βρουκέλλα (64).

Η διάγνωση της νόσου γίνεται από την κλινική εξέταση, όπου παρατηρείται έντονη φλεγμονή που αρχίζει από την ουρά της επιδιδυμίδας και επεκτείνεται στο σώμα και την κεφαλή του οργάνου, ακόμη και στον όρχι. Ο σπερματικός τόνος είναι επώδυνος και οιδηματώδης. Ο μικροβιακός παράγοντας θα αναζητηθεί από την εξέταση του ουρηθρικού εκκρίματος και του δείγματος ούρων για κοινά μικρόβια. Η ανεύρεση των χλαμυδίων φθάνει στα δύο τρίτα των ασθενών. Η θεραπεία της οξείας επιδιδυμιτιδας καθορίζεται από τον αιτιολογικό παράγοντα. Τα γενικότερα μέτρα περιλαμβάνουν: ανάπαυση, αναλγητικά, ανύψωση του όσχεου που διευκολύνει τη λεμφική παροχέτευση. Όταν υπάρχει γονόκοκκος ή χλαμύδια, που αποτελούν το 30 – 50% των περιπτώσεων φάρμακο εκλογής είναι οι τετρακυκλίνες και τα παράγωγά τους. Η διήθηση του σπερματικού τόνου με ξυλοκαΐνη και η λήψη από το στόμα μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων βοηθούν αρκετά για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων (65).

Κρυπορχία

Είναι η πάθηση κατά την οποία ο όρχις δεν βρίσκεται στη φυσιολογική του θέση, δηλαδή στην οσχεϊκή κοιλότητα. Κατά την εμβρυϊκή ζωή, ο όρχις κατεβαίνει και, διαμέσου του βουβωνικού πόρου, καταλήγει, λίγο πριν από τη γέννηση, στην οσχεϊκή κοιλότητα. Η πορεία αυτή του όρχι πιστεύεται ότι βρίσκεται κάτω από τον ορμονικό έλεγχο της υπόφυσης (χοριακή γοναδοτροπίνη). Η ατελής κάθοδος του όρχι μπορεί να οφείλεται σε μηχανικά αίτια, όπως είναι το μικρό μήκος του σπερματικού πόρου ή των σπερματικών αγγείων, τα στενώματα και οι συμφύσεις του βουβωνικού πόρου, ενδοπεριτοναϊκές συμφύσεις του όρχι και άλλα. Συνήθως όμως, τα αίτια είναι λειτουργικά και μάλιστα γενετικής φύσης. Πιστεύεται δηλαδή ότι ο όρχις έχει γενετική προδιάθεση ατελής ή ανώμαλης καθόδου. Επίσης πιστεύεται ότι οι ανωμαλίες που παρουσιάζει ο όρχις στην κρυπορχία, δηλαδή το ότι είναι

μικρός, ατροφικός και ιστολογικά ανώμαλος, είναι πρωτοπαθείς βλάβες και όχι δευτεροπαθείς, λόγω έκτοπης θέσης (24, 25, 26, 66).

Η κρυφορχία μπορεί να είναι ετερόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη. Συνήθως ο όρχις βρίσκεται καθηλωμένος σε ένα σημείο της πορείας που φυσιολογικά θα ακολουθούσε. Σε αυτή την περίπτωση, πρόκειται για "διακοπή της μετανάστευσης" και έχουμε πραγματική κρυφορχία. Ο όρχις βρίσκεται συνήθως σε κάποιο σημείο του βουβωνικού πόρου. Άλλοτε όμως ο όρχις δεν ακολουθεί το φυσιολογικό δρόμο και απομακρύνεται από το βουβωνικό πόρο, οπότε μπορεί να βρεθεί σε διάφορες ασυνήθεις θέσεις, όπως είναι η περιτοναϊκή κοιλότητα, το περίνεο, ο χώρος πίσω από την ουροδόχο κύστη, η έσω επιφάνεια των μηρών, το αντίθετο όσχεο κλπ. Σε αυτή την περίπτωση, πρόκειται για «άτυπη μετανάστευση» και ταιριάζει ο όρος της ορχικής εκτοπίας (67, 68).

Η διάγνωση είναι εύκολη και η απουσία του όρχι από το όσχεο κατευθύνει τη σκέψη του γιατρού στην πάθηση. Η προσεκτική ψηλάφηση του βουβωνικού πόρου αποκαλύπτει συχνά συνύπαρξη βουβωνοκήλης. Ακόμα, πρέπει να γίνεται συστηματική κλινική εξέταση, που μπορεί να απομακρύνει και άλλες διαταραχές ή ανωμαλίες, ορμονικής ή γενετικής φύσης. Μερικές φορές παρά την επισταμένη και επίμονη εξέταση, ο όρχις δε βρίσκεται. Τότε μπορεί να είναι στην περιτοναϊκή κοιλότητα ή να είναι μικρός και να γλιστράει μέσα στο υποδόριο λίπος, ή και να λείπει τελείως. Στις περιπτώσεις αυτές κρίνεται σκόπιμο να γίνει φλεβογραφία που μπορεί να εντοπίσει τον όρχι. Η υπερηχοτομογραφία και η υπολογιστική τομογραφία μπορούν συχνά να εντοπίσουν ένα μη ψηλαφητό όρχι. Χρησιμοποιείται επίσης και η μέθοδος της λαπαροσκοπίας για τους ενδοκοιλιακούς όρχεις καθώς και το σπινθηρογράφημα με Tc^{99} Pertechnetate.

Όσον αφορά την αντιμετώπιση της κρυφορχίας μπορεί ακολουθηθεί η παρακάτω θεραπευτική αντιμετώπιση:

1. Ορμονοθεραπεία: χορηγείται χοριακή γοναδοτροπίνη σε διάφορα σχήματα. Σε ένα από αυτά, δίνονται 1.500 μονάδες την εβδομάδα, για 3 εβδομάδες. Η χορήγηση πρέπει να είναι μικρής

χρονικής διάρκειας. Τελευταία, χορηγείται και η LHRH, με τη μορφή spray (400 µg σε κάθε ρώθωνα, 3 φορές την ημέρα για ένα μήνα). Θεωρητικά, η ορμόνη μπορεί να βοηθήσει την κάθοδο του όρχι. Στην πραγματικότητα όμως, φαίνεται να επιταχύνει την κάθοδο ενός όρχι, που θα κατέβαινε και χωρίς καμιά θεραπεία. Μερικοί πιστεύουν ότι η ορμονοθεραπεία διευκολύνει τη χειρουργική επέμβαση (69, 70).

2. Χειρουργική: Σε αυτή, αφού εκτιμηθεί η θέση του όρχι, γίνεται τομή βουβωνική και αποκαλύπτεται το όργανο. Μπορεί να υπάρξουν δυσκολίες, λόγω του μικρού μεγέθους του οργάνου. Ακολουθεί η απελευθέρωση του σπερματικού πόρου και των αγγείων. Είναι βασικός χρόνος της επέμβασης και θα πρέπει να απομακρυνθεί κάθε ινώδης ή μυϊκή ταινία (διατομή των κρεμαστήρων). Μερικές φορές, επιβάλλεται επέκταση της τομής, απολίνωση των επιγάστριων αγγείων και διάνοιξη του περιτοναίου. Χρειάζεται μεγάλη προσοχή, για να μην τραυματιστούν τα λεπτά σπερματικά αγγεία και ο σπερματικός πόρος. Η κινητοποίηση και, στη συνέχεια, η καθήλωση του όρχι χωρίς τάση, αποτελεί βασική προϋπόθεση της επέμβασης. Ακολουθεί διόρθωση της κήλης, αν συνυπάρχει (απολίνωση του σάκου, πλαστική των τοιχωμάτων). Τέλος, παρασκευάζεται το εσωτερικό του όσχεου και γίνεται καθήλωση του όρχι σε αυτό. Παλαιότερα, συνιστούσαν την εγχείρηση μεταξύ 6 και 10 ετών. Σήμερα όμως, πιστεύεται ότι η χειρουργική επέμβαση πρέπει να γίνεται μέχρι την ηλικία των 2 ετών (71, 72).

Η ορχεκτομή επιβάλλεται μετά την εφηβεία, όταν ο όρχις είναι βέβαιο ότι είναι λειτουργικά ανεπαρκής, και πριν από την εφηβεία, όταν πρόκειται για μικρό όρχι εμφανώς ατροφικό, ή όταν η ιστολογική εξέταση δείχνει πλήρη ατροφία. Στις περιπτώσεις ορχεκτομής, μπορεί να τοποθετηθεί στο όσχεο τεχνητή πρόθεση για ψυχολογικούς λόγους. Μετά την ορχεκτομή, πρέπει να παρακολουθείται το μέγεθος και η κατάσταση του όρχι για το ενδεχόμενο της ανάπτυξης καρκινώματος. Μερικοί συνιστούν τη βιοψία του όρχι που έχει καθηλωθεί μετά από χρόνια, και προτείνουν την ορχεκτομή στις περιπτώσεις που η εξέταση αποκαλύπτει μη αναστρέψιμες ιστολογικές αλλοιώσεις (73).

Συστροφή του όρχι

Συστροφή του όρχι, ή ορθότερα συστροφή του σπερματικού τόνου, είναι η στροφή του οργάνου γύρω από τον άξονα του. Παρατηρείται κυρίως σε παιδιά και εφήβους. Συνήθως παρουσιάζεται μια ψευδής και απατηλή κλινική εικόνα οξείας επιδιδυμίτιδας. Εξαιτίας της ισχαιμίας, ο όρχις, μέσα σε διάστημα λίγων ωρών, νεκρώνεται. Ο μόνος τρόπος διάσωσης του είναι η άμεση, χωρίς την παραμικρή καθυστέρηση, χειρουργική επέμβαση, σε κάθε περίπτωση επώδυνης διόγκωσης του όσχεου στα παιδιά, έστω και αν υπάρχουν μόνο υπόνοιες συστροφής (74).

Στην τυπική της μορφή, η κλινική εικόνα είναι αρκετά χαρακτηριστική. Πρόκειται για ένα παιδί ή έφηβο, που ξαφνικά αισθάνθηκε οξύ και ανυπόφορο πόνο στο όσχεο. Πολύ γρήγορα, το όσχεο διογκώνεται, γίνεται οίδηματώδες και σκληρό. Η ψηλάφηση και η κλινική εκτίμηση της κατάστασης του όρχι και της επιδιδυμίδας είναι αδύνατη, λόγω του πολύ δυνατού πόνου. Σχηματίζεται μια συμπαγής μάζα. Ο όρχις φαίνεται τραβηγμένος προς το έξω στόμιο του βουβωνικού πόρου και ο σπερματικός τόνος είναι διογκωμένος σκληρός και επώδυνος. Εκείνο που προκαλεί εντύπωση είναι ότι, παρά τα όσα έντονα και τυπικά σημεία οξείας φλεγμονής, η θερμοκρασία, τουλάχιστον τις πρώτες ώρες, είναι φυσιολογική ή ελαφρά ανεβασμένη. Επιπλέον, ο άρρωστος δεν αναφέρει καμιά διαταραχή της ούρησης και δεν υπάρχει κανένα σημείο ουρογεννητικής λοίμωξης και τα ούρα είναι τελείως διαυγή (75).

Όταν η κλινική εικόνα είναι τυπική, η διάγνωση είναι σχετικά εύκολη. Πάντως, και σε αυτές ακόμη τις περιπτώσεις μπορεί να συμβεί σοβαρό διαγνωστικό λάθος, να εκληφθεί δηλαδή η συστροφή ως κοινή επιδιδυμίτιδα, πράγμα που έχει σαν συνέπεια την μη αναστρέψιμη βλάβη του όρχι. Διαγνωστικές δυσχέρειες υπάρχουν στις άτυπες και παραπλανητικές μορφές: Συστροφή κατά την εξέλιξη μιας λοιμώδους νόσου (παρωτίτιδα, οστρακιά, ίωση), οπότε υπάρχει ο κίνδυνος η πάθηση να εκληφθεί ως οξεία ορχίτιδα, συστροφή με ταυτόχρονη αύξηση της θερμοκρασίας οπότε δίνει τυπική εικόνα οξείας επιδιδυμίτιδας,

συστροφή σε έκτοπο όρχι, και ιδιαίτερα ενδοκοιλιακό όπου δίνει την εικόνα της οξείας χειρουργικής κοιλίας (το άδειο όσχεο μπορεί να βοηθήσει στη διάγνωση), συστροφή που εμφανίζεται μετά από τραυματισμό του όσχεου (είναι απλή και τυχαία σύμπτωση, που συχνά αναφέρεται από το μικρό άρρωστο και μπορεί να οδηγήσει στη διάγνωση της κάκωσης, του αιματώματος κλπ.), συστροφή σε νεογνό (που μπορεί να εκληφθεί ως αιμάτωμα λόγω μαιευτικού τραυματισμού, περισφιγμένη κήλη ή φλεγμονή), συστροφή του όρχι που έχει καρκίνο, συστροφή που υποδύεται τον καρκίνο του όρχι (ο όρχις είναι διογκωμένος, σκληρός και επώδυνος, κυρίως παρατηρείται σε παραμελημένες καταστάσεις), συστροφή σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας στα οποία συνυπάρχουν και παθήσεις του ουροποιητικού, συστροφή που υποδύεται την εικόνα της συστροφής της υδατίδας του Morgani (ο πόνος είναι μικρός σε ένταση, δε διαρκεί πολύ, και ο όρχις είναι φυσιολογικός). Σε όλες αυτές τις άτυπες μορφές η κλινική διάγνωση είναι σχεδόν αδύνατη, γι' αυτό μπορούμε να πούμε σαν κανόνα ότι: σημασία έχει να υπάρξει απλή υποψία οπότε η χειρουργική διερεύνηση του όσχεου πρέπει να γίνει όσο το δυνατόν γρηγορότερα. Η χειρουργική επέμβαση ενώ δεν επιβραδύνει καθόλου την εξέλιξη μιας κοινής φλεγμονής, είναι ικανή, όταν είναι έγκαιρη, να σώσει τον όρχι. Το σπινθηρογράφημα, η υπερηχοτομογραφία, και η θερμογραφία του όρχι μπορούν να βοηθήσουν, αρκεί να μη καθεί πολύτιμος χρόνος για την επέμβαση. Σε σπάνιες περιπτώσεις παρατηρείται αυτόματη ανάταξη. Συνήθως όμως πολύ γρήγορα, μέσα σε λίγες ώρες, επέρχεται ισχαιμική νέκρωση του όρχι (76, 77).

Κλινικά, τα τοπικά ευρήματα υποχωρούν σιγά-σιγά, ανεβαίνει η θερμοκρασία, ο όρχις γίνεται σκληρός, και σε λίγες εβδομάδες μετατρέπεται σε ένα μικρό ατροφικό όρχι. Άλλοτε, ο νεκρωμένος όρχις παθαίνει διαπύηση, το όσχεο φλεγμαίνει, συρριγγοποιείται και από το συρίγγιο βγαίνουν τα υπολείμματα του νεκρωμένου οργάνου. Αν δεν έχει περάσει μεγάλο χρονικό διάστημα, η προσπάθεια ανάταξης με χειρισμούς στο όσχεο μπορεί να έχει επιτυχία. Η θεραπεία όμως είναι βασικά μία και μόνη: η χειρουργική επέμβαση. Σε αυτή, αφού γίνει τομή πάνω στο όσχεο, αποκαλύπτεται ο σπερματικός τόνος, ο όρχις και

η επιδιδυμίδα. Όταν η συστροφή είναι έξω από τον ίδιο ελυτροειδή, αναγνωρίζεται εύκολα, ενώ, όταν είναι μέσα στον ίδιο ελυτροειδή, είναι δυνατόν μια επιπόλαιη ψηλάφηση να είναι αρνητική. Γι' αυτό επιβάλλεται να ανοίγεται συστηματικά ο ιδίως ελυτροειδής. Μετά την ανάταξη του όρχι, απαιτείται αναμονή και παρακολούθηση του οργάνου, που το περιβάλλουμε με χλιαρό ορό ή ξυλοκαΐνη. Άλλοτε, η αγγειακή κυκλοφορία επανέρχεται και αποκαθιστάται η όψη, η χροιά και η σύσταση του όρχι. Σε αυτές τις περιπτώσεις, το όργανο διατηρείται και καθλώνεται στο όσχεο, για το φόβο της υποτροπής. Άλλοτε, παρά τις προσπάθειες, ο όρχις παραμένει ισχαιμικός, μελανής χροιάς και σκληρός, οπότε η ορχεκτομή είναι υποχρεωτική. Ακόμη είναι ανάγκη να γίνει ορχεοπηξία στον αντίθετο όρχι, που μπορεί να έχει και αυτός τον κίνδυνο της συστροφής (74, 77).

Κιρσοκήλη

Χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό κιρσοειδών διευρύνσεων των φλεβών του σπερματικού τόνου. Η κιρσοκήλη στην πλειονότητα των περιπτώσεων, εμφανίζεται αριστερά, ενώ η δεξιά της εντόπιση είναι σχετικά σπάνια. Ακόμα πιο σπάνια είναι η εμφάνιση της και στις δύο πλευρές. Ο σχηματισμός των κιρσοειδών ανευρύνσεων αποδίδεται κυρίως στην ανεπάρκεια των βαλβίδων της έσω σπερματικής φλέβας, συχνά όμως στην εμφάνιση της κιρσοκήλης συμμετέχουν και άλλες φλέβες, και ιδίως η κρεμαστήρια. Η συχνότερη, εξάλλου, εντόπιση στην αριστερή πλευρά οφείλεται στο ότι η αριστερή έσω σπερματική φλέβα εκβάλλει κάθετα στη σύστοιχη νεφρική φλέβα (ενώ η δεξιά λοξά στην κάτω κοίλη). Έτσι δημιουργούνται κακές συνθήκες για την ήδη επηρεασμένη (από την ανεπάρκεια ή την έλλειψη των βαλβίδων) αποχέτευση του αίματος από το σύστοιχο φλεβικό σύστημα. Η διαταραχή αυτή θεωρείται πολύ πιθανό ότι υποβοηθείται και από άλλους παράγοντες, και κυρίως από ανατομικές παραλλαγές που συνεπάγονται πίεση της νεφρικής ή της έσω σπερματικής φλέβας από άλλα αρτηριακά ή φλεβικά στελέχη (78).

Ανεξάρτητα από τα αίτια αυτά (πρωτοπαθή) η κιρσοκήλη είναι δυνατό να παρουσιαστεί και σαν επίκτητη κατάσταση, λόγω πίεσης της

έσω σπερματικής από όγκους του νεφρού ή του οπισθοπεριτοναϊκού χώρου. Στις περιπτώσεις αυτές, οι κισσοειδείς ανευρύνσεις των φλεβών εμφανίζονται δεξιά ή αριστερά, ανάλογα με την εντόπιση του όγκου, και συνήθως παρουσιάζονται σε άτομα στα οποία προηγουμένως δεν υπήρχε καμιά ένδειξη για την παρουσία της κισσοκήλης. Η ανεύρεση κισσοκήλης σε σειρά άτομα είναι αρκετά συχνή, τόσο που σήμερα θεωρείται σαν μια από τις πρώτες αιτίες που πρέπει να αναζητούνται σε κάθε περίπτωση ανδρικής στειρότητας. Παρόλα αυτά, θα πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν πολλά άτομα που έχουν κισσοκήλη χωρίς να παρουσιάζουν καμιά απολύτως διαταραχή της σπερματογένεσης, γεγονός που σημαίνει ότι μόνο η ανεύρεση της (κυρίως στα νεαρά άτομα που δεν παρουσιάζουν διαταραχές στο σπερμοδιάγραμμα) δεν αρκεί για να θεωρηθεί η πάθηση σαν μια αιτία πιθανής στειρότητας. Ελάχιστοι μόνο υποστηρίζουν, χωρίς να το έχουν αποδείξει, ότι μια κισσοκήλη, έστω και αν δεν παρουσιάζει στην αρχή καμιά διαταραχή, είναι δυνατόν, αν παραμείνει για μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς αντιμετώπιση, να προκαλέσει βλάβη του σπερματικού επιθηλίου (79).

Το γιατί μεταξύ των διαφόρων ατόμων υπάρχουν διαφορές των επιπτώσεων της κισσοκήλης στη γονιμότητά τους, είναι γενικά άγνωστο και υπό διερεύνηση. Η κισσοκήλη, πολλές φορές δε γίνεται καθόλου αντιληπτή από τον άρρωστο, εκτός αν είναι πολύ μεγάλη, οπότε είναι δυνατό να προκαλεί κάποιο αίσθημα βάρους στο όσχεο ή ακόμη να είναι και ορατή. Έτσι, στους περισσότερους αρρώστους, η πάθηση αποκαλύπτεται τυχαία σε κάποια εξέταση που γίνεται για άλλη αιτία ή για κάποιο πρόβλημα στειρότητας. Η διάγνωση είναι εύκολη και γίνεται με την ψηλάφηση του όσχεου (οι μεγάλες κισσοκήλες φαίνονται και με την επισκόπηση), στην οποία οι διευρυσμένες φλέβες γίνονται αντιληπτές μέσα στο όσχεο και πάνω από το σύστοιχο όρχι. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι ο άρρωστος να βρίσκεται σε όρθια στάση, επειδή, αντίθετο με την κατάκλιση, οι κισσοειδείς ανευρύνσεις εξαφανίζονται. Σε μικρές κισσοκήλες όπου η εξέταση δίνει αμφίβολα ευρήματα, με την αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης (που γίνεται αν ο άρρωστος πάρει μια βαθιά εισπνοή και προκαλέσει σύσπαση στα κοιλιακά του τοιχώματα)

κατορθώνεται η πλήρωση των φλεβών με περισσότερο αίμα, που τις κάνει να είναι πιο ψηλαφητές (80).

Τέλος, στις υποκλινικές μορφές (που η παρουσία τους ενδιαφέρει μόνο σε περιπτώσεις στειρότητας) η διάγνωση γίνεται με τη θερμογραφία του όσχεου με τη φλεβογραφία της έσω σπερματικής φλέβας, με το υπερηχογράφημα του όσχεου και, τέλος, με το σπινθηρογράφημα με Tc^{99m} . Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται στους αρρώστους που έχουν δεξιά κισσοκήλη (που σαν πρωτοπαθής είναι σχετικά σπάνια), ή στους οποίους συνυπάρχει κισσοκήλη (έστω και αριστερά), που προηγουμένως όμως δεν είχε γίνει αντιληπτή. Σε αυτούς είναι απαραίτητη μια ενδοφλέβια ουρογραφία, που θα αποκλείσει (ή θα επιβεβαιώσει) το ενδεχόμενο της πίεσης της έσω σπερματικής από κάποιο νεφρικό ή οπισθοπεριτοναϊκό νεόπλασμα. Η χειρουργική διόρθωση της κισσοκήλης είναι απαραίτητη μόνο όταν συνοδεύεται από διαταραχές στο σπερμοδιάγραμμα. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις σπάνια προκύπτει η ανάγκη εγχείρησης, εκτός αν ο άρρωστος ενοχλείται σοβαρά. Στην εγχείρηση, γίνεται απολίνωση της έσω σπερματικής φλέβας (συνήθως σε υψηλό επίπεδο) ώστε να σταματήσει η παλινδρόμηση και η στάση του αίματος στο φλεβικό δίκτυο του όρχι. Σε ορισμένες περιπτώσεις, στο σχηματισμό των κισσοειδών ανευρύνσεων, συμμετέχει και η παλινδρόμηση του αίματος από την κρεμαστήρια φλέβα, η οποία επίσης πρέπει να απολινωθεί κατά την διάρκεια της εγχείρησης (81).

Υδροκήλη

Είναι η συλλογή υγρού, συνήθως διαυγές, ανάμεσα στα δύο πέταλα του ιδίως ελυτροειδή χιτώνα. Ο όρχις και η επιδιδυμίδα εκτοπίζονται προς το πίσω και κάτω. Η συλλογή του υγρού είναι προοδευτική και ανώδυνη. Ο τύπος της υδροκήλης εξαρτάται από την κατάσταση του ελυτροπεριτοναϊκού πόρου, αν δηλαδή παραμένει ανοικτός ή κλειστός. Έτσι, διακρίνουμε την επικοινωνούσα υδροκήλη, όταν υπάρχει ελεύθερη επικοινωνία περιτοναϊκής και ελυτροειδούς κοιλότητας που παρατηρείται συνήθως στα παιδιά, και συχνά συνυπάρχει βουβωνοκήλη. Όταν ο ελυτροπεριτοναϊκός πόρος είναι

εντελώς κλειστός, παρατηρείται ο συνηθισμένος τύπος των ενηλίκων. Όταν όμως ο πόρος δεν έχει κλείσει καθόλο του το μήκος, μπορεί να παρατηρηθούν η δίλοβη υδροκήλη και η κύστη του σπερματικού τόνου (82).

Διακρίνουμε την ιδιοπαθή υδροκήλη, όταν δεν βρίσκεται κανένα συγκεκριμένο αίτιο, παρά τις αλληπάλληλες εξετάσεις, και τη δευτεροπαθή υδροκήλη, η οποία είναι αντιδραστική εκδήλωση σε οποιαδήποτε πάθηση του όρχι και της επιδιδυμίδας. Χρειάζεται λοιπόν προσοχή επειδή πίσω από μια υδροκήλη μπορεί να κρύβεται ένας καρκίνος. Είναι δυνατό να παρουσιαστεί υδροκήλη σε νεογνά αμέσως μετά τη γέννηση. Συνυπάρχει δε, με ανωμαλίες του ελυτροπεριτοναϊκού πόρου, βουβωνοκήλη, κρυσορχία ή άλλες συγγενείς ανωμαλίες. Ο ασθενής παραπονιέται για ομαλή προοδευτική διόγκωση του όσχεου, χωρίς άλλες κλινικές εκδηλώσεις, παρά μόνο ελαφρό βάρος στο όσχεο. Το δέρμα του όσχεου είναι φυσιολογικό, χωρίς σημεία φλεγμονής. Στην ψηλάφηση, βρίσκεται μάζα ανώδυνη, μαλακή που κλυδάζει. Η διαφανοσκόπηση που πρέπει να γίνεται σε σκοτεινό περιβάλλον, συνίσταται στην τοποθέτηση φωτεινής πηγής στη μια πλευρά του όσχεου και στον έλεγχο της διαφάνειας της διόγκωσης από την άλλη πλευρά. Η διάγνωση της είναι σχετικά εύκολη, δεν πρέπει όμως να διαφύγει άλλη πάθηση που είναι δυνατόν να κρύβεται από πίσω. Γι' αυτό, χρειάζεται προσεκτική εξέταση του σπερματικού τόνου, του όρχι, του προστάτη και των σπερματοδόχων κύστεων. Πρέπει να τονιστεί και πάλι εδώ, η σημασία της δακτυλικής εξέτασης. Η υπερηχοτομογραφία δίνει εντυπωσιακές εικόνες και επιτρέπει εύκολα τη διάγνωση. Η παρακέντηση της υδροκήλης αποτελεί προσωρινή λύση, η οποία ανακουφίζει πρόσκαιρα τον άρρωστο, επειδή το υγρό συλλέγεται και πάλι γρήγορα. Μπορεί να γίνει όμως όταν υπάρχουν διαγνωστικές αμφιβολίες που έχουν σχέση με την κατάσταση του όρχι και των επιδιδυμίδων. Η μόνη ριζική θεραπεία είναι η χειρουργική επέμβαση, στην οποία, ύστερα από τη διάνοιξη της κοιλότητας και το άδειασμα του υγρού, γίνεται εκτομή ή αναστροφή ή πτύκωση του ελυτροειδούς. Μεγάλη προσοχή χρειάζεται στη αιμόσταση, για να αποφευχθούν μετεγχειρητικά αιματώματα. Στη

νεογνική υδροκήλη δεν χρειάζεται τον πρώτο χρόνο της ζωής καμιά αντιμετώπιση, επειδή περίπου στο 50% υποχωρεί αυτόματα (83).

Ελεφαντίαση του όσχεου

Είναι σύννηθες επακόλουθο παρασιτικής νόσου των τροπικών χωρών και οφείλεται σε μαζική απόφραξη των λεμφαγγείων του όσχεου από το παράσιτο *Wuchereria Bancrofti*. Λόγω της απόφραξης γίνεται στάση και διάταση των λεμφαγγείων (λεμφικοί κίρσοι) που οδηγεί, βαθμιαία, σε τεράστια διόγκωση του όσχεου και διήθηση των βουβωνικών λεμφαδένων. Το όσχεο είναι οιδηματώδες και σκληρό. Τα λεμφαγγεία μπορεί να σπάσουν προς το δέρμα ή μέσα στην κοιλότητα του ελυτροειδούς (χυλώδης υδροκήλη), ή μέσα στην ουροδόχο κύστη, οπότε εκδηλώνεται σαν χυλουρία, ή ακόμα και μέσα στην περιτοναϊκή κοιλότητα (χυλοπεριτόνιο). Γίνεται εκτομή του όσχεου και πλαστική αποκατάσταση, με υγιείς κρημνούς από τις γύρω περιοχές (84, 85).

Κεραυνοβόλος γάγγραινα του όσχεου (νόσος του Fournier)

Μπορεί να παρατηρηθεί απότομα σε νέα άτομα με πολύ καλή γενική κατάσταση, χωρίς πάθηση του ουρογεννητικού συστήματος και χωρίς να έχει προηγηθεί ενδοσκοπική επέμβαση ή κάποιος άλλος χειρισμός. Γι' αυτό και χαρακτηρίζεται σαν κεραυνοβόλος (86, 87). Συχνά όμως παρατηρείται σε άτομα κάποιας ηλικίας, διαβητικά, με επηρεασμένη γενική κατάσταση και ύστερα από ενδοσκοπικούς χειρισμούς ή σε πάσχοντες από προστατο-αυχενικό κάλυμα ή στενώματα της ουρήθρας. Πρόκειται για ένα είδος γαγγραινώδους λεμφαγγειίτιδας, που οφείλεται συνήθως σε αναερόβια μικρόβια. Μπορεί όμως να οφείλεται και σε στρεπτόκοκκο ή κολοβακτηρίδιο. Στην αρχή μπορεί να περάσει απαρατήρητη, όταν η πρώτη εκδήλωση είναι μια μικρή πλάκα λεμφαγγειίτιδας. Ξαφνικά όμως, δημιουργεί μια βαριά γενική κατάσταση με κεφαλαλγίες, ρίγη, υψηλό πυρετό (39 - 40°C), καταβολή των δυνάμεων, οίδημα του πέους και, στη συνέχεια, σχηματισμό φλυκταινών, που σκεπάζουν όλα τα γεννητικά όργανα και σχηματίζουν εσχάρες που στο τέλος γίνονται μαύρες (88, 89).

Η πάθηση είναι σοβαρή και μπορεί να οδηγήσει στο θάνατο. Αν το άτομο επιζήσει, τότε γύρω στην 8^η μέρα, οι εσχάρες πέφτουν και αρχίζει η επούλωση που απαιτεί πολύ χρόνο. Στο τέλος, μπορεί να μείνουν ουλές. Η θεραπεία είναι άμεση και επείγουσα. Απαιτεί τόνωση της γενικής κατάστασης, όπως σε κάθε βαριά σηπτική κατάσταση με ενδοφλέβια χορήγηση υγρών, αντιβιοτικά ευρέως φάσματος, αντιγαγγραινικό ορό, απομόνωση του αρρώστου. Μπορούν επίσης να γίνουν σχάσεις του όσχεου, τομές, εκτομές των εσχάρων, τοπικές πλύσεις με διάφορα διαλύματα και τελικά πλαστικές επεμβάσεις για να αποκατασταθούν οι ουλές. Σήμερα, με την επιθετική χειρουργική αντιμετώπιση της νόσου η πρόγνωσή της είναι καλύτερη από ότι παλαιότερα (90, 91).

Νεοπλάσματα των όρχεων

Ο καρκίνος των όρχεων είναι σχετικά σπάνιος και αποτελεί περίπου το 2% των καρκίνων στον άνδρα. Όλοι, σχεδόν, οι κλινικά εμφανείς όγκοι των όρχεων είναι κακοήθεις και στην πλειονότητα τους (96%) αποτελούνται από βλαστικά κύτταρα. Πολύ μικρό ποσοστό αποτελούν οι όγκοι του γοναδικού στρώματος (κύτταρα Leydig και Sertoli). Ο καρκίνος των όρχεων αποτελεί το πιο σύνηθες κακόηθες νεόπλασμα στα αγόρια και στους νέους άνδρες ηλικίας 15 – 34 ετών και αποτελεί την τρίτη κατά σειρά αιτία θανάτου σε αυτές τις ηλικίες (92, 93, 94).

Παρόλο που η αιτιολογία του καρκίνου των όρχεων είναι άγνωστη, ωστόσο τόσο συγγενείς όσο και επίκτητοι παράγοντες έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη του όγκου. Έτσι, παράγοντες όπως η ηλικία, το τραύμα, οι επανειλημμένες φλεγμονές, ενδοκρινικές ανωμαλίες, όπως και η εξωγενής χορήγηση οιστρογόνων στη μητέρα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, έχουν ενοχοποιηθεί κατά καιρούς ότι διαδραματίζουν κάποιο ρόλο, όμως η πιο στενή σχέση που έχει βρεθεί, είναι η συσχέτιση κρυπορχίας και καρκίνου των όρχεων. Έχει παρατηρηθεί ότι ποσοστό 7 – 10% των ασθενών με καρκίνο των όρχεων είχαν ιστορικό κρυπορχίας. Οι πιθανοί παράγοντες που οδηγούν στην ανάπτυξη όγκου στον

κρυφόρχι είναι: α) η ανωμαλία στη μορφολογία των κυττάρων της γεννητικής σειράς, β) η αυξημένη θερμοκρασία, γ) οι ενδοκρινικές διαταραχές και δ) η δυσγενεσία των γονάδων. Η πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου στην κοιλιακή κρυφορχία είναι μεγαλύτερη (1:20) από ότι στη βουβωνική (1:80). Επίσης, η πιθανότητα παραμένει η ίδια, έστω και αν έχει προηγηθεί ορχεοπηξία ωστόσο η καθήλωση του όρχι διευκολύνει την εξέταση και αποκάλυψη του όγκου σε πρώιμα στάδια (95, 96).

Η παθολογοανατομική ταξινόμηση των όγκων του όρχι έχει ως ακολούθως (97, 98):

1. Όγκοι από βλαστικά κύτταρα:
 - Ενδοσωληνιακή νεοπλασία
 - Σεμίνωμα: α) κλασικό σεμίνωμα, β) αναπλαστικό σεμίνωμα, γ) σπερματοκυτταρικό σεμίνωμα
 - Εμβρυϊκό καρκίνωμα
 - Τεράτωμα α) ώριμο β) άωρο
 - Χοριοκαρκίνωμα
 - Όγκος λεκιθικού ασκού
 - Μικτοί κακοήθεις όγκοι βλαστικών κυττάρων
2. Όγκοι γεννητικής χορδής - Στρωματικοί όγκοι
 - Όγκος από κύτταρα Leydig, διαμεσίωμα
 - Όγκος από κύτταρα Sertoli
 - Κοκκιοκυτταρικός όγκος
3. Μικτοί από βλαστικό και στρωματιά κύτταρα όγκοι
 - Γοναδοβλάστωμα
4. Νεοπλάσματα του λεμφικού ιστού
5. Ραβδομυοσάρκωμα
6. Μεταστατικά νεοπλάσματα
7. Σπάνιοι όγκοι - ογκόμορφες αλλοιώσεις: α) καρκινοειδές, β) αδενοκαρκίνωμα του μεσαύλιου, γ) επιδερμοειδής κύστη, δ) μαλακοπλακία

Μετά τη νεοπλασματική εξαλλαγή το νεόπλασμα που περιορίζεται στα ορχικά σωληνάρια (*in situ*) διασπά τη βασική μεμβράνη και μπορεί

να αντικαταστήσει όλο το ορχικό παρέγχυμα. Ακολουθώς θα δώσει πρώτα μεταστάσεις στους λεμφαδένες και κατόπιν αιματογενείς μεταστάσεις κατά σειρά συχνότητας στους πνεύμονες, ήπαρ, εγκέφαλο, οστά, νεφρούς, επινεφρίδια, γαστρεντερικό σύστημα και σπλήνα. Το χοριοκαρκίνωμα, ειδικά, δίνει πρώιμες αιματογενείς μεταστάσεις κυρίως στους πνεύμονες. Επίσης έχει τάση για μεταστάσεις σε ασυνήθεις θέσεις όπως ο σπλήνας. Οι λεμφογενείς μεταστάσεις ακολουθούν συγκεκριμένη σειρά, διαφορετική στις δύο πλευρές. Από το δεξιό όρχι, η πρώτη μετάσταση γίνεται στους λεμφαδένες που βρίσκονται εμπροσθεν της κάτω κοιλής, οι προαορτικοί, οι δεξιοί κοινοί λαγόνιοι και οι δεξιοί έξω λαγόνιοι. Από τον αριστερό όρχι, πρώτα προσβάλλονται τα παραορτικά λεμφογάγγλια, κατόπιν τα προαορτικά, τα αριστερά κοινά λαγόνια και τα αριστερά έξω λαγόνια. Μεταστάσεις από δεξιά προς τα αριστερά είναι συχνές ενώ δεν συμβαίνουν από αριστερά προς τα δεξιά. Εάν πρώτα διηθηθούν από τον όγκο η επιδιδυμίδα ή ο σπερματικός τόνος η σειρά των μεταστάσεων αλλάζει και διηθούνται κατά σειρά τα θυροειδή και τα κοινά λαγόνια λεμφογάγγλια. Διήθηση των βουβωνικών λεμφαδένων γίνεται αν διηθηθεί πρώτα ο ιδίως ελυτροειδής χιτώνας ή έχει προηγηθεί επέμβαση στο όσχεο και το βουβωνικό πόρο (99, 100, 101).

Συνήθως ο καρκίνος του όρχι παρουσιάζεται σαν μια ανώδυνη σκληρή διόγκωση του όρχι, την οποία διαπιστώνει συχνά ο άρρωστος μόνος του, τυχαία ή μετά από τραυματισμό. Πρέπει να θεωρηθεί σαν καρκίνος μέχρις αποδείξεως του αντιθέτου. Σπάνιο σύμπτωμα είναι αίσθημα βάρους και πόνος, ο οποίος μπορεί να συμβεί απότομα λόγω αιμορραγίας ή εμφράκτου. Στην κλινική εξέταση, ο όρχις βρίσκεται σκληρός, διογκωμένος και ανώδυνος, ενώ τα υπόλοιπα στοιχεία του οσχέου, η επιδιδυμίδα και ο σπερματικός τόνος είναι φυσιολογικά. Η διάγνωση είναι κυρίως ιστολογική. Άλλες μορφές εμφάνισης είναι: α) φλεγμονώδης μορφή, β) μορφή που συνοδεύεται με υδροκήλη αντιδραστική από τον καρκίνο, γ) μορφή που αποκαλύπτεται από αιματοκήλη, ύστερα από τραυματισμό, δ) μορφή που αναπτύσσεται σε έκτοπο όρχι, ε) μορφή που αποκαλύπτεται από τις μεταστάσεις, ζ) μορφή που εμφανίζεται με γυναικομαστία, η) αμφοτερόπλευρη μορφή. Από τον

αιματολογικό έλεγχο μπορεί να βρεθεί αναιμία και από το βιοχημικό έλεγχο επηρεασμένη ηπατική (μετάσταση, ηπατίτιδα) ή νεφρική λειτουργία (αύξηση της ουρίας και κρεατινίνης λόγω απόφραξης των ουρητήρων από οπισθοπεριτοναϊκούς λεμφαδένες). Κατά τη διάρκεια των τελευταίων χρόνων αποδείχθηκε ότι τα κύτταρα του καρκίνου του όρχι παράγουν ειδικές πρωτεΐνες, που μπορεί να εντοπίζονται στα κύτταρα αυτά αλλά και να μετρούνται στον ορό των ασθενών. Οι δείκτες αυτοί είναι χρήσιμοι στη σταδιοποίηση, την ανίχνευση μεταστάσεων, τον έλεγχο της θεραπείας και τον καθορισμό της πρόγνωσης των ασθενών με καρκίνο του όρχι. Μεταξύ αυτών η AFP (α-φετοπρωτεΐνη) και η hCG (ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη) έχει αποδειχθεί ότι είναι οι πιο αξιόπιστοι δείκτες. Ο απεικονιστικός έλεγχος για την εντόπιση και παρακολούθηση της εξέλιξης του καρκίνου του όρχι περιλαμβάνει την ακτινογραφία θώρακα, την υπερηχοτομογραφία, την ενδοφλέβια ουρογραφία, την υπολογιστική τομογραφία και την λεμφαγγειογραφία. (101, 102).

Διάφορα θεραπευτικά σχήματα έχουν εμφανισθεί κατά καιρούς για την αντιμετώπιση και την θεραπεία, συνήθως ακολουθείται το ακόλουθο σχήμα: (103, 104, 105, 106):

- Χαμηλού σταδίου σεμίνωμα: Το σεμίνωμα είναι εξαιρετικά ακτινοευαίσθητο, 95% των σεμίνωμα των σταδίου I θεραπεύονται με ορχεκτομή και ακτινοβολία των οπισθοπεριτοναϊκών λεμφαδένων (2.500 – 3.000 cGy).
- Υψηλού σταδίου σεμίνωμα: Σε ασθενείς με σεμίνωμα και οπισθοπεριτοναϊκούς λεμφαδένες > 5 cm χορηγείται χημειοθεραπεία. Το 90% των ασθενών με σεμίνωμα σταδίου III θα έχουν πλήρη ανταπόκριση με τη χημειοθεραπεία (5ετής επιβίωση 80%).
- Χαμηλού σταδίου μη σεμινωματώδεις όγκοι: Παλαιότερα η θεραπεία εκλογής ήταν ο οπισθοπεριτοναϊκός λεμφαδενικός καθαρισμός. Σήμερα ποιοι ασθενείς έχουν αυξημένη πιθανότητα υποτροπής με βάση τα παρακάτω στοιχεία: Διήθηση αγγείων από τον όγκο, διήθηση επιδιδυμίδας, διήθηση ινώδους χιτώνα, διήθηση σπερματικού τόνου, αναλογία εμβρυϊκού καρκινώματος > 50%. Ασθενείς με τουλάχιστον ένα

από αυτούς τους παράγοντες χρειάζονται συμπληρωματική θεραπεία μετά την ορχεκτομή. Προτιμάται η χορήγηση δύο κύκλων χημειοθεραπείας. Ασθενείς σταδίου A στους οποίους παραμένουν θετικοί οι δείκτες μετά την ορχεκτομή θα υποβληθούν σε τρεις κύκλους χημειοθεραπείας. Ασθενείς χωρίς τα παραπάνω χαρακτηριστικά έχουν < 15% πιθανότητα υποτροπής και μπορεί να τεθούν σε παρακολούθηση. Η 5ετής επιβίωση των ασθενών με χαμηλού σταδίου μη σεμινωματώδεις όγκους είναι 90%.

- Υψηλού σταδίου μη σεμινωματώδεις όγκοι: Χορηγούνται τέσσερις κύκλοι χημειοθεραπείας (Bleomycine – Etoposide – Cis – Platinum) – (5ετής επιβίωση 50 – 90%).

ΣΠΕΡΜΑ

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Ο όγκος του σπέρματος φυσιολογικά ανέρχεται σε 3,5 mL κατά μέσο όρο, από τα οποία 2 έως 2,5 mL προέρχονται από τις σπερματοδόχες κύστεις, 0,5 mL από τον προστάτη και το 0,1 έως 0,2 mL από τους αδένες του Cowper και Littre. Το αρχικό μέρος, της εκσπερμάτισης περιέχει μικρό όγκο υγρών προερχόμενο από τον εκσπερματιστικό πόρο, πλούσιο σε σπερματοζωάρια. Το 60% των υγρών προέρχεται από τις σπερματοδόχες κύστεις και το 20% από τον προστάτη. Τα υγρά των σπερματοδόχων κύστεων, περιέχουν φρουκτόζη, για τη διατροφή των σπερματοζωαρίων, προσταγλανδίνες, φωσφορυλχολίνη και παράγοντες πήξης (107).

Σε σχέση με τα άλλα υγρά του σώματος το σπέρμα παρουσιάζει ενδιαφέρον, γιατί περιέχει μεγάλες ποσότητες καλίου, ψευδαργύρου, κιτρικού οξέος, φρουκτόζης, φωσφορυλχολίνης, σπερμίνης ελευθέρων αμινοξέων, προσταγλανδίνες και ένζυμα όπως όξινης φωσφατάση, διαμίνη, οξιδάση, Β-γλυκουρονιδάση, γαλακτική διϋδρογενάση, Α-αμυλάση και σπερματική πρωτεΐνάση (πίνακας 1). Η μεγάλη ποσότητα του ψευδαργύρου στο σπέρμα προέρχεται κυρίως από τον προστατικό αδένα. Η ύπαρξη των μεγάλων ποσοτήτων του ψευδαργύρου δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως όσον αφορά στην αποστολή του. Πιθανόν να παίζει κάποιο ρόλο, γιατί πολύ εύκολα συνδέεται με τα λευκώματα και έχει επίσης αντιμικροβιακή αποστολή. Η μέση φυσιολογική τιμή του ψευδαργύρου στο σπέρμα είναι 14 mg/100 mL, και μπορεί να κυμαίνεται από 5 έως 23 mg/100 mL. Από τα ανιόντα του σπέρματος το κυριότερο στοιχείο είναι το κιτρικό οξύ με μέση τιμή 376 mg/100 mL, κυμαίνεται δε από 96 -1430 mg/100 mL. Η κυρία πηγή του είναι ο προστάτης και παίζει ρόλο στην οσμωτική σταθερότητα του σπέρματος και έχει μεγάλη ικανότητα δέσμευσης μεταλλικών ιόντων (108).

Η κυρία πηγή της φρουκτόζης που περιέχεται στο σπέρμα είναι οι

σπερματοδόχες κύστεις. Οι σπερματοδόχες κύστεις εκκρίνουν επίσης γλυκόζη, σορβιτόλη, ριβόζη, αλλά σε πολύ μικρές ποσότητες λιγότερο των 10 mg/100 mL. Η μέση τιμή στο σπέρμα της φρουκτόζης είναι 222 mg/100mL, κυμαίνεται δε από 40 – 638 mg/100 mL. Τα επίπεδα της φρουκτόζης ρυθμίζονται με τις ανδρογόνες ορμόνες, επηρεάζονται όμως και από άλλους παράγοντες, όπως η συχνότητα των εκοπερματίσεων, η ποσότητα του σακχάρου του αίματος, η διατροφή κ.λ.π. Η φρουκτόζη παράγεται στις σπερματοδόχες κύστεις από τη γλυκόζη (σορβιτόλη – κετόνη) και αποτελεί πηγή ενεργείας για τα σπερματοζώαρια (109).

α/α	ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΣΥΝΗΘΕΙΣ ΤΙΜΕΣ	ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΜΟΝΑΔΕΣ
1	Όγκος	1.5-5.0 mL	0.0015-0.005 L
2	Αριθμός Σπερματοζωαρίων	60-150x10 ⁶ /mL	60-150x10 ⁹ /L
3	PH	>7.0 (MT:7.7)	>7.0 (MT:7.7)
4	Κινητικότητα	>60%	Ποσοστό αριθ.:>0.60
5	Μορφολογία Σπερματοζωαρίων	>70% ώριμα φυσιολογικά σπερματοζώαρια	Ποσοστό αριθ.:>0.70 ώριμα φυσιολογικά σπερματοζώαρια
6	Ρευστοποίηση	Μέσα σε 20 min	Μέσα σε 20 min
7	Φρουκτόζη	150-500 mg/dL	1500-5000 mg/l
8	Όξινη Φωσφατάση	170-1210 U/L	170-1210 U/L
9	Κιτρικό Οξύ	>3 mg/mL	>3x10 ³ mg/L
10	Ίνοσιτόλη	>1 mg/mL	>10 ³ mg/L
11	Ψευδάργυρος	>75 µg/mL	>75x10 ³ µg/L
12	Μαγνήσιο	>70 µg/mL	>70x10 ³ µg/L
13	Προσταγλανδίνες	30-200 µg/mL	30-200x10 ³ µg/L
14	Γλυκερυλοφωσφορυλοχολίνη	>650 µg/mL	>650x10 ³ µg/L
15	Καρνιτίνη	105-480 mmol/L	105-480 mmol/L

Πίνακας : 1

Συστατικά και φυσιολογικές τιμές του σπερματικού υγρού.

Άλλη ουσία, σε αρκετή ποσότητα στο σπέρμα, είναι η χολίνη. Η μέση τιμή αυτής είναι 315 mg/100 mL με διακυμάνσεις από 250 – 380

mg/100mL. Η φωσφορική χολίνη είναι ειδικό υπόστρωμα τρόπου τινά της προστατικής όξινης φωσφατάσης, και για αυτό σαν αποτέλεσμα της ενζυματικής ενέργειας της όξινης φωσφατάσης, αυτή γρήγορα μετατρέπεται στο σπέρμα σε χολίνη και αποδίδει φώσφορο. Ο ρόλος της χολίνης είναι άγνωστος, δεν μεταβολίζεται δε από τα σπερματοζώαρια. Η μέση τιμή της σπερμίνης στο σπέρμα ανέρχεται σε 273 mg/100 mL, κυμαινόμενη μεταξύ 50-350 mg/100 mL και η κυρία πηγή της είναι ο προστάτης αδένας. Η σπερμίνη είναι μια αλειφατική πολυαμίνη, η οποία έχει την ικανότητα να συνδέεται με ισχυρούς δεσμούς με όξινες ή ουδέτερες μοριακές ουσίες, όπως τα φωσφορικά ιόντα, φωσφορολιποειδή, πυρηνικά οξέα κλπ. Η ενζυματικά υδρολυόμενη φωσφορική χολίνη από την όξινο φωσφατάση, δημιουργεί, ελεύθερα ιόντα ανόργανου φωσφόρου, τα οποία αντιδρούν με τη σπερμίνη και σχηματίζουν διαφανείς κρυστάλλους από φωσφορική σπερμίνη (110).

Είναι γνωστόν ότι, οι πολυαμίνες έχουν κάποια σχέση με την αύξηση των κυττάρων, παρόλα ταύτα όμως ο ρόλος της σπερμίνης δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως. Οι πολυαμίνες στο σπέρμα μπορούν να διασπασθούν από το ένζυμο Diamine Oxidase, το οποίο βρίσκεται στο σπέρμα, και να σχηματίσουν μια αλδεύδη, στην οποία οφείλεται και η οσμή του σπέρματος. Οι αλδεύδες αυτές είναι τοξικές και προς τα σπερματοζώαρια και προς τα μικρόβια και πιθανόν, σαν αποτέλεσμα αυτού, η σπερμίνη να έχει και προστατευτική αποστολή κατά των μικροβίων (πίνακας 2). Η μεγαλύτερη πηγή προσταγλανδινών στον οργανισμό είναι οι σπερματοδόχες κύστεις. Οι φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται από 100 έως 300 mg/mL και βρίσκονται σε όλους τους ιστούς του οργανισμού, αλλά σε μικρές ποσότητες. Στο σπέρμα έχουν βρεθεί περίπου 15 διαφορετικές προσταγλανδίνες, τις οποίες μπορούμε να ταξινομήσουμε σε 4 μεγάλες κατηγορίες A, B, E και F. Από αυτές η ομάδα E προέχει κυρίως στο ανδρικό γεννητικό σύστημα, ενώ η F στο γυναικείο. Στις προσταγλανδίνες έχουν αποδοθεί αρκετές φαρμακολογικές ενέργειες. Το πλάσμα του σπέρματος περιέχει επίσης 185 mg/100 mL λιπίδια, 103 mg/100 mL χοληστερόλη και 83 mg/100 mL φωσφορολιπίδια (κυρίως σφιγγομυελίνη, εθανολαμίνη, Plasmalogen

και η Phosphatidyl Serine). Πιστεύεται ότι η σχέση χοληστερόλης και φωσφορολιπιδίων στο σπέρμα μεταβάλλεται με σκοπό την προφύλαξη των σπερματοζωαρίων από τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και γενικά του περιβάλλοντος. Μέρος της χοληστερόλης και των φωσφορολιπιδίων παράγεται στον προστάτη αδένα (111).

α/α	ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ-ΔΡΑΣΗ
1	Όξινος φωσφατάση	Υδρόλυση φωσφοριλχολίνης
2	Κιτρικό οξύ	Δεσμοί ιόντων Πρόληψη προστατικής λιθίασης Διατήρηση οσμωτικής ισορροπίας
3	Ψευδάργυρος	Βακτηριδιοστατική Σταθεροποίηση DNA σπερματοζωαρίων
4	Σεμινίνη	Πρωτεΐνάση Ρευστοποίηση του σπερματικού πήγματος
5	Σπερμίνη	Βακτηριδιοστατική Έλεγχος ανάπτυξης προστατικού ιστού Ρύθμιση προστατικής έκκρισης Αλληλεπίδραση DNA σπερματοζωαρίων
6	Μαγνήσιο-Ασβέστιο	Πήξη - ρευστοποίηση σπέρματος
7	Αμυλάση-Λυσοζύμα	ρευστοποίηση σπέρματος ?
8	IgA-IgG-IgM- ' C3	Αλληλεπίδραση DNA σπερματοζωαρίων
9	Προσταγλανδίνες	? ? ?

Πίνακας : 2

Σπουδαιότερα συστατικά του προστατικού εκκρίματος και σχετική λειτουργία επί του προστάτη και μέσα στο σπέρμα.

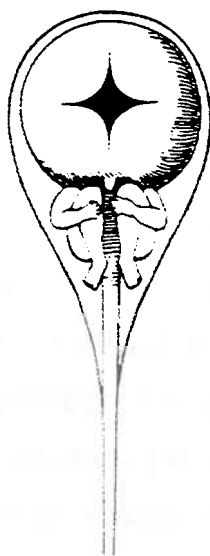
Το σπέρμα μετά την εκοπερμάτιση, και περίπου μέσα σε 5 λεπτά της ώρας, αυτόματα πήζει, (θρομβώνεται) και στη συνέχεια, στα επόμενα 5 έως 20 λεπτά ρευστοποιείται. Ουσίες οι οποίες επηρεάζουν ή αναστέλλουν την θρόμβωση του αίματος δεν έχουν καμία επίδραση στο σπέρμα. Είναι δύο διαφορετικά φαινόμενα. Για την πήξη του σπέρματος είναι υπεύθυνες ουσίες των σπερματοδόχων κύστεων, ενώ για τη ρευστοποίηση ουσίες από τον προστάτη και τον αδένα του Cowper. Οι ουσίες οι οποίες προκαλούν τη ρευστοποίηση είναι η Seminine και οι Plasminogen Activators (112).

Οι τελευταίοι αυτοί παράγοντες πιστεύεται ότι προέρχονται από τον προστάτη αδένα, έχουν απομονωθεί και το μοριακό των βάρους ανέρχεται

σε 70.000 και 74.000 και πιθανόν να υπάρχει κάποια συγγένεια με την ουροκινάση. Η σεμίνη επίσης φαίνεται ότι προέρχεται από τον προστάτη, αποτελεί δε πρωτεολυτικό ένζυμο με μοριακό βάρος 30.000. Το σπέρμα επίσης περιέχει και άλλα πρωτεολυτικά ένζυμα, όπως Pepsinogen, λυσοζύμη, Α-αμυλάση και υαλουρονιδάση. Ο ρόλος της πήξης και ρευστοποίησης δεν έχει απολύτως διευκρινισθεί. Επίσης στο πλάσμα του σπέρματος έχουν βρεθεί ανοσοσφαιρίνες, κυρίως βρέθηκε η IgG (7 - 22 mg/100 mL) και η IgA (0 - 6 mg/100 mL). Σε ποιο σημείο παράγονται αυτές και εάν υπάρχει διαπίδυση αυτών προς το αίμα, δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί πλήρως (113, 114).

ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

Η πρώτη παρατήρηση του σπερματοζωαρίου χρονολογείται ήδη από το 1677. Χρησιμοποιώντας ένα πιο βελτιωμένο μικροσκόπιο οι Leeuwenhoek και Hamm ήταν οι πρώτοι οι οποίοι είδαν τα ανθρώπινα σπερματοζώαρια αλλά αυτοί δεν καταλάβαιναν τον ρόλο του σπερματοζωαρίου στη γονιμοποίηση. Αυτοί πίστευαν ότι είχαν μια μικρογραφία ανθρώπου, και αυτό ήταν γνωστό σαν η «θεωρία του προσχηματισμού» : η ανθρώπινη μικρογραφία θα άρχιζε να αυξάνεται την στιγμή της διείσδυσης στο ωάριο (φωτογραφία 15). Νωρίτερα το 1675 ο Malpighi, κατά την διάρκεια παρατήρησης εκείνο το οποίο αυτός υπέθετε ότι ήταν ένα μη γονιποιημένο αυγό κότας, πρότεινε την ιδέα ότι το αυγό περιείχε μια μικρογραφία από κλωσσόπουλο. Αυτή η αμφισβητούμενη «θεωρία του προσχηματισμού» ανειράπη το 1775 όταν ο Spallanzani απέδειξε ότι το ωάριο και τα σπερματοζώαρια ήταν απαραίτητα για να δημιουργηθεί ένα «νέο άτομο». Το 1830 οι Prevost και Dumas μπορούσαν να αποδείξουν ότι το σπερματοζώαριο ήταν απαραίτητο για να γονιμοποίηση και το 1841 ο Von Kolliker απέδειξε ότι εκείνα τα σπερματοζώαρια ήταν το τελικό αποτέλεσμα κυτταρικών διαιρέσεων στα σπερματικά σωληνάρια του όρχι (115).



Φωτογραφία : 15

Το 1878 ο Flemming ερευνώντας τα χρωματοσώματα κατανόησε ότι αυτά τα χρωματοσώματα είχαν κάποιον ρόλο στην γονιμοποίηση. Το 1883 ο Van Beneden απέδειξε ότι το ώριμο γεννητικό κύτταρο (γαμέτης) περιέχει έναν αριθμό μειωμένο σε χρωματοσώματα. Ήταν επίσης ο Van Beneden ο οποίος περιέγραψε την μείωση, την διαδικασία με την οποία ο αριθμός των χρωματοσωμάτων μειώνεται. Μόνον το 1956 ο αριθμός των χρωματοσωμάτων επιτέλους καθορίστηκε ότι είναι 46 (116).

Για την ανάλυση το σπέρμα συλλέγεται με αυνανισμό μετά από αποχή 3 – 5 ημερών. Λιγότερο από 3 ημέρες αποχή επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα των σπερματοζωαρίων, ενώ μεγαλύτερη των 5 ημερών δεν επιφέρει καμιά βελτίωση. Η εξέταση θα πρέπει να γίνεται μισή ώρα ή το αργότερο 2 ώρες μετά τη λήψη του σπέρματος. Το δοχείο που συλλέγεται το σπέρμα θα πρέπει να είναι ή γυάλινο ή πλαστικό με ευρύ στόμιο. Σε κάθε περίπτωση το δοχείο θα πρέπει να είναι καθαρό και αποστειρωμένο για να μπορούν να γίνουν και καλλιέργειες του σπέρματος για μικροβιολογικές εξετάσεις. Επί πλέον θα πρέπει να είναι ελεύθερο χημικών ουσιών και διαφόρων απορρυπαντικών πλυσίματος (117).

A. Μακροσκοπική εξέταση του σπέρματος

Η μακροσκοπική εξέταση περιλαμβάνει τον προσδιορισμό της χροιάς, της οσμής, του όγκου, του pH και της γλοιότητας του σπέρματος.

Όγκος

Η φυσιολογική ποσότητα του σπέρματος μετά από αποχή 3 – 5 ημερών κυμαίνεται μεταξύ 2 – 6 ml. Με την αύξηση της διάρκειας της σεξουαλικής αποχής αυξάνεται και η ποσότητα του σπέρματος, δηλαδή υπάρχει μία σταθερή σχέση μεταξύ της σεξουαλικής αποχής και της ποσότητας του σπέρματος. Η μέτρηση του όγκου του σπέρματος γίνεται μετά από πλήρη ρευστοποίησή του σε ειδικά αριθμημένους κυλίνδρους. Μικρές ποσότητες του σπέρματος (< 2ml, υποσπερμία), μπορεί να παρουσιασθεί σε διαταραχές του προστάτη αδένου, των σπερματοδόχων κύστεων, συγγενείς ανωμαλίες αυτών, παλινδρομη εκοπερμάτιση, απόφραξη των εκοπερματικών πόρων ακόμη και έλλειψη γοναδοτροπινών ή ανδρογόνων ορμονών. Αντίθετα δεν έχει διευκρινισθεί το γεγονός όταν η ποσότητα του σπέρματος είναι > 6 ml (υπερσπερμία),

παλαιές αναφορές απόδιδαν αυτό σε διαταραχές των επικουρικών γεννητικών αδένων (118).

Οσμή

Το σπέρμα έχει χαρακτηριστική οσμή, παρόμοια με την οσμή «βρασμένων κάστανων». Η οσμή αυτή του σπέρματος προέρχεται από τα εκκρίματα του προστάτη αδένου και απουσιάζει στην περίπτωση ατροφίας του. Φλεγμονές του προστάτη δίδουν στο σπέρμα μία χαρακτηριστική δυσοσμία. Άλλες διαφορετικές οσμές του σπέρματος δεν έχουν καμία διαγνωστική σημασία (118, 119).

Χροιά

Το φυσιολογικό φρέσκο σπέρμα έχει γαλακτώδη και λευκωπή, θολερή μέχρι γκριζοκίτρινη χροιά. Η θολερότητα του σπέρματος εξαρτάται από τον αριθμό των σπερματοζωαρίων. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη χροιά του σπέρματος είναι η διάρκεια της σεξουαλικής αποχής, το είδος της, διατροφής και ορισμένα φάρμακα. Όσο μεγαλύτερη είναι η σεξουαλική αποχή, τόσο πιο κίτρινη εμφανίζεται η χροιά του σπέρματος. Αντίθετα, επί σεξουαλικής αποχής μικρής διάρκειας το σπέρμα είναι πιο διαφανές και έχει έναν πιο γυαλιστερό τόνο. Στους ηλικιωμένους άνδρες το σπέρμα έχει πιο κιτρινωπή χροιά. Στην περίπτωση που το σπέρμα περιέχει πολλά λευκοκύτταρα, όπως αυτό συμβαίνει σε φλεγμονές των γεννητικών οργάνων, τότε το σπέρμα είναι πιο κιτρινωπό, ενώ προσμίξεις με αίμα δίνουν στο σπέρμα μία κοκκινωπή μέχρι καφέ χροιά (119).

Ρευστοποίηση

Το σπέρμα πήζει γρήγορα μετά την εκοπερμάτιση και εν συνεχεία ρευστοποιείται μέσα σε 10 έως 30 λεπτά της ώρας. Αυτή η διαδικασία είναι ανεξάρτητη από την ύπαρξη σε αυτό σπερματοζωαρίων. Τα πρωτεολυτικά ένζυμα, τα οποία προκαλούν τη ρευστοποίηση του σπέρματος, προέρχονται από τον προστάτη αδένου. Μη ρευστοποίηση του σπέρματος μπορεί να παρατηρηθεί μετά από φλεγμονές του προστάτη και των σπερματοδόχων κύστεων και σε ατροφία του προστάτη δηλαδή στις περιπτώσεις εκείνες όπου τα όργανα αυτά δεν είναι σε θέση να εκκρίνουν όλα τα φυσιολογικά συστατικά του σπέρματος (120).

Γλοιότητα

Η γλοιότητα του σπέρματος εκτιμάται μετά την πλήρη ρευστοποίηση του. Για την ακριβή εκτίμηση της γλοιότητας χρησιμοποιείται ένα γλοιόμετρο ή μια πιπέτα. Στην καθημερινή πράξη το ρευστοποιημένο σπέρμα αναμιγνύεται καλά με μια πιπέτα και εν συνεχεία μετριέται το μήκος του αραχνοειδούς νήματος που σχηματίζεται.

Φυσιολογική γλοιότητα προκαλεί μήκος αραχνοειδούς νήματος 1 cm για 10 - 15 sec, σε μειωμένη γλοιότητα δεν σχηματίζεται καθόλου σπερματικό νήμα, ενώ σε αυξημένη το μήκος του νήματος ανέρχεται σε μερικά cm (121).

pH

Η μέτρηση του pH του σπέρματος γίνεται με ειδικό χαρτί - δείκτη (π.χ. Fa Madaus) το οποίο περιέχει μια ανιούσα χρωματική κλίμακα με τιμές pH οι οποίες κυμαίνονται από 6.4 - 8.0. Το pH εξαρτάται από την αναλογία του αλκαλικού εκκρίματος των σπερματοδόχων κύστεων και των όρχεων και των όξινων εκκριμάτων του προστάτη και των επιδιδυμίδων. Στο ρευστοποιημένο φυσιολογικό σπέρμα το pH κυμαίνεται μεταξύ 7.2 - 7.8. Το pH του σπέρματος μετατοπίζεται προς την αλκαλική περιοχή όσο περνάει ο χρόνος μετά την εκσπερμάτιση, και σε φλεγμονώδεις καταστάσεις π.χ. σε οξεία φλεγμονή του προστάτη αδένου ή των σπερματοδόχων κύστεων. Σε καταστάσεις χρόνιας φλεγμονής των επικουρικών γεννητικών αδένων όπως και σε απόφραξη των εκσπερματιστικών πόρων, το pH μετατοπίζεται προς την όξινη περιοχή (122).

B. Μικροσκοπική εξέταση του σπέρματος

Κατά τη μικροσκοπική εξέταση δειγμάτων σπέρματος αξιολογείται ο αριθμός, η κινητικότητα και η μορφολογία των σπερματοζωαρίων. Αυτές οι κλασικές παράμετροι αποτελούν ακόμη και σήμερα τα σημαντικότερα κριτήρια της ικανότητας του σπέρματος προς γονιμοποίηση. Στο νωπό παρασκεύασμα του σπέρματος προσδιορίζεται ο αριθμός και η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Μετά από διάφορες τεχνικές χρώσεις του σπέρματος προσδιορίζεται η εκατοστιαία αναλογία

σπερματοζωαρίων με φυσιολογική μορφολογία, καθώς επίσης η αναλογία των υπολοίπων κυτταρικών στοιχείων του σπερματικού πλάσματος. Το σπέρμα περιέχει πάντα και κάποια άλλα κυτταρικά στοιχεία εκτός από τα σπερματοζωάρια. Αυτοί οι κυτταρικοί σχηματισμοί περιλαμβάνουν επιθηλιακά πολυγωνικά κύτταρα από το τμήμα της ουρήθρας, σπερματογενικά κύτταρα, και λευκοκύτταρα, τα οποία συνήθως αναφέρονται σαν κυκλικά κύτταρα. Η συγκέντρωση αυτών των κυττάρων μπορεί να αξιολογηθεί σε παρασκευάσματα υγρά και νωπά με την χρήση κατάλληλου αιματοκυτταρόμετρου (123).

Οι όροι που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των διαφόρων καταστάσεων του σπέρματος είναι οι ακόλουθοι:

- Ασπερμία = Παντελής έλλειψη σπέρματος
- Υποσπερμία = Όγκος σπέρματος (< 2 ml)
- Υπερσπερμία = Όγκος σπέρματος (> 6 ml)
- Αιμοσπερμία = Ύπαρξη αίματος στο σπέρμα
- Πυοσπερμία = Πυώδες σπέρμα
- Νορμοζωοσπερμία = Αριθμός > 20 εκατομ./ml, κινητικότητα > 50%, μορφολογία > 50%, φυσιολογικές μορφές σπερματοζωαρίων
- Αζωοσπερμία = Παντελής έλλειψη σπερματοζωαρίων
- Ολιγοζωοσπερμία = < 20 εκατομ. σπερματοζ./ml
- Πολυζωοσπερμία = > 250 εκατομ. σπερματοζ./ml
- Ασθενοζωοσπερμία = Μειωμένη κινητικότητα, (< 50% της φυσιολογικής κινητικότητας)
- Τερατοζωοσπερμία = < 50% σπερματοζωάρια με φυσιολογικές μορφές
- Νεκροζωοσπερμία = Μόνο νεκρά σπερματοζωάρια (επιβεβαίωση με το τεστ εωσίνης)
- Κρυπτοζωοσπερμία = Ελάχιστα σπερματοζωάρια (< 1 εκατομ./ml). Ανακαλύπτονται μόνο μετά φυγοκέντρηση
- Γλομποζωοσπερμία = Σπερματοζωάρια με στρογγυλές κεφαλές
- OAT – Σύνδρομο = Σύνδρομο Ολιγο – Ασθενο – Τερατοζωοσπερμίας.

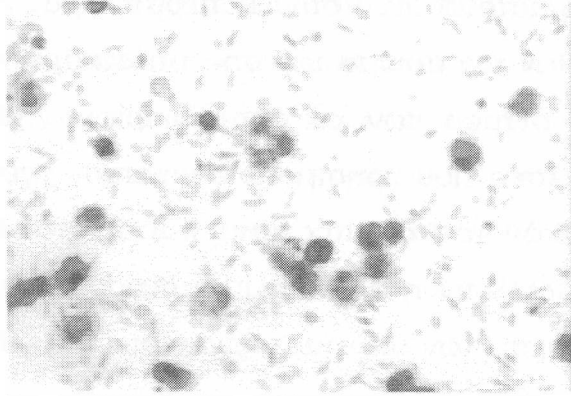
1. Άλλοι κυτταρικοί σχηματισμοί

Λευκοκύτταρα υπάρχουν στα περισσότερα δείγματα ανθρώπινου σπέρματος και ο τύπος κυττάρων που επικρατεί είναι τα ουδετερόφιλα. Η ακριβής μέτρηση των λευκοκυττάρων είναι σημαντική γιατί η υπερβολική παρουσία αυτών (ονομαζόμενη λευκοκυτταροσπερμία) μπορεί να υποδείξει την παρουσία κάποιας φλεγμονής του γεννητικού συστήματος η οποία μπορεί να είναι ευαίσθητη στην αντιβιοτική θεραπεία. Επίσης, η λευκοκυτταροσπερμία μπορεί να συνυπάρχει με κάποιες ανωμαλίες του σπέρματος όπως μείωση του όγκου της εκσπερμάτισης, της συγκέντρωσης, της κινητικότητας, όπως επίσης και μια ελάττωση της λειτουργικότητας του σπέρματος σαν αποτέλεσμα από το stress της οξειδωσης ή / και της έκκρισης κυτταροτοξικών κυτταροκινών (124).

Μια συγκέντρωση στο όριο από λευκοκύτταρα πάνω από την οποία θα ήταν επιβλαβής για την γονιμότητα δεν έχει αποδειχθεί. Η επίδραση αυτών των κυττάρων εξαρτάται από τον τρόπο τον οποίο τα λευκοκύτταρα εισήλθαν στο σπέρμα, από τον τύπο ή του τύπους των κυττάρων που εμπλέκονται και από την κατάσταση της ενεργοποίησης των. Με την εμφανή ευαισθησία των ανθρώπινων σπερματοζωαρίων σε οξειδωτικούς παράγοντες, είναι πιθανόν ότι η παρουσία των ουδετερόφιλων βλάπτει, ιδιαίτερα αν η διείσδυση έγινε στο rete testis ή στην επιδιδυμίδα. Αντίθετα, η είσοδος των λευκοκυττάρων την στιγμή της εκσπερμάτισης καθοδόν από τον προστάτη ή τις σπερματοδοχες κύστεις είναι πιθανόν λιγότερο βλαβερή λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του σπερματικού πλάσματος. Σαν γενικός οδηγός σε μια κανονική εκσπερμάτιση η οποία δεν θα μετρούσε πάνω από 5×10^6 /ml κύτταρα, τα λευκοκύτταρα δεν θα πρέπει να ξεπερνούν τα 1×10^6 /ml (125).

Διάφορες τεχνικές έχουν επινοηθεί για την καταμέτρηση των λευκοκυττάρων στο σπέρμα. Για παράδειγμα, για την ανάλυση έχει βρεθεί ένα βιοχημικό κριτήριο όπως, η μέτρηση της συγκέντρωσης της ελαστάσης χρησιμοποιώντας ένα ένζυμο – διασυνδεδεμένο ανοσοαποροφητικό. Πρέπει να σημειωθεί ότι η τεχνική της υπεροξειδωσης μας δίνει τιμές οι οποίες είναι μικρότερες από εκείνες

που θα παίρναμε χρησιμοποιώντας παν-λευκοκυτταρικά μονοκλωνικά αντισώματα (φωτογραφία 16).



Φωτογραφία : 16

Λευκοκύτταρα σε ανθρώπινο δείγμα σπέρματος με χρώση μονοκλωνικών αντισωμάτων επί των πιο συνηθισμένων λευκοκυτταρικών αντιγόνων CD45.

Η συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των λευκοκυττάρων και την παρουσία λοίμωξης του γεννητικού συστήματος είναι αμφιλεγόμενη. Όταν το σπέρμα περιέχει λευκά κύτταρα πάνω από 1×10^6 /ml, πρέπει να διεξαχθούν μικροβιολογικές εξετάσεις για να δούμε αν υπάρχει παρουσία λοίμωξης κάποιου επικουρικού αδένου. Αυτές οι εξετάσεις περιλαμβάνουν την εξέταση των πρώτων εξερχόμενων ούρων, των μετέπειτα, του προστατικού υγρού και του μετά - προστατικού υγρού μετά από μάλαξη του προστάτη αδένου. Αυτές επίσης περιλαμβάνουν την βιοχημική ανάλυση του σπερματικού πλάσματος όπου η λοίμωξη των επικουρικών αδένων προκαλεί μεταβολές στην έκκριση. Από την άλλη μεριά η απουσία λευκοκυττάρων δεν αποκλείει την πιθανότητα κάποιας λοίμωξης. Τα κύτταρα τα οποία δεν έχουν χαρακτηριστεί σαν λευκοκύτταρα μπορεί να είναι σπερματίδες, σπερματοκύτταρα και σπερματογόνια. Εφόσον μόνο σπερματοζώαρια (μορφολογικά γεννητικά κύτταρα και ώριμα με ουρές) συμπεριλαμβάνονται στην ποσότητα του σπέρματος, η συγκέντρωση άλλων τύπων γεννητικών κυττάρων ή

λευκοκυττάρων μπορεί να υπολογισθεί σε συνάρτηση με τον γνωστό αριθμό των σπερματοζωαρίων (126, 127).

2. Ο αριθμός και η πυκνότητα των σπερματοζωαρίων

Ο αριθμός των σπερματοζωαρίων στο σπέρμα αντιπροσωπεύει τον ολικό αριθμό σπερματοζωαρίων στο εκσπερμάτισμα, ενώ η πυκνότητα των σπερματοζωαρίων τον αριθμό των σπερματοζωαρίων/ml σπέρματος. Η μέτρηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων γίνεται στην ειδική αντικειμενοφόρα πλάκα που χρησιμοποιείται επίσης για τη μέτρηση των έμμορφων συστατικών του αίματος (αιμοκυτταρόμετρο). Προϋποθέσεις για τη μέτρηση αποτελούν η αραιώση του ρευστοποιημένου σπέρματος και η ακινητοποίηση των σπερματοζωαρίων. Για την μέτρηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων υπάρχουν πολλοί τύποι αντικειμενοφόρων (αιμοκυτταρομέτρων), όπως για παράδειγμα: Neubauer, Thoma – Zeiss, Burker – Turk, και άλλες (128), (φωτογραφία 17).



Φωτογραφία : 17

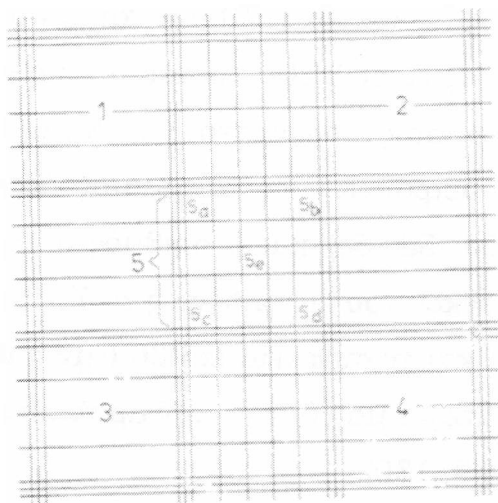
Πλάκα Neubauer για την μέτρηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων.

Κάθε πλάκα έχει αποτυπωμένες εγκάρσιες και επιμήκειες γραμμώσεις, σχηματίζοντας μικρά και μεγάλα τετράγωνα. Το ύψος της κάθε πλάκας ανάλογα με τον τύπο της, είναι από 0.1 – 0.2 mm. Για τη μέτρηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων τοποθετηθείτε αραιωμένο

σπέρμα στην αντικειμενοφόρα πλάκα και μετριοούνται τα σπερματοζώαρια ενός καθορισμένου αριθμού τετραγώνων της πλάκας. Στον τελικό υπολογισμό συνυπολογίζεται και το ύψος της πλάκας, καθώς και ο βαθμός της αραιώσης του σπέρματος (φωτογραφία 18). Για την ακινητοποίηση των σπερματοζωαρίων χρησιμοποιούνται διάφορα διαλύματα όπως: 3% διαλύματος φυσιολογικού ορού, απεσταγμένο νερό, φυσιολογικός ορός με μία σταγόνα διαλύματος Triphenyltetrazolium-chloride. Η μέτρηση γίνεται στο μικροσκόπιο με μεγέθυνση x 400. Για τη μέτρηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων μπορούν να εφαρμοσθούν τρεις διαφορετικές μέθοδοι με την αντικειμενοφόρα πλάκα τύπου Neubauer για παράδειγμα. Κατά την πρώτη μέθοδο μετρούνται αρχικά όλα τα σπερματοζώαρια στο μεσαίο μεγάλο τετράγωνο με τον αριθμό 5. Ο αριθμός που βρέθηκε πολλαπλασιάζεται επί 10.000 (διότι ο όγκος του μετρηθέντος πεδίου είναι 10 ml) και εν συνεχεία επί 20 (εάν η αραιώση του σπέρματος είναι 1:20). Το αριθμητικό αποτέλεσμα παριστά τον αριθμό των σπερματοζωαρίων ανά ml. Κατά τη δεύτερη μέθοδο («γρήγορη μέθοδο») μετρούνται τα σπερματοζώαρια μόνο στα μικρά τετράγωνα (5a, 5b, 5c, 5d, 5e) και ο αριθμός αυτός πολλαπλασιάζεται επί 50.000 (διότι ο όγκος του μετρηθέντος πεδίου αποτελεί το $\frac{1}{5}$ ενός μεγάλου τετραγώνου) και εν συνεχεία επί 20 (εάν η αραιώση είναι 1:20). Το αριθμητικό αποτέλεσμα μας δείχνει τον αριθμό των σπερματοζωαρίων ανά ml σπέρματος (129, 130).

Εάν ο αριθμός των σπερματοζωαρίων είναι μικρότερος των 10 εκατομ./ml τότε ακολουθεί η «εκτεταμένη μέθοδος» μέτρησης. Κατά τη μέθοδο αυτή μετρούνται τα σπερματοζώαρια όλων των μεγάλων τετραγώνων της πλάκας Neubauer. Ο αριθμός αυτός πολλαπλασιάζεται επί 2.000 (διότι αυτό αποτελεί το πενταπλάσιο του όγκου ενός μεγάλου τετραγώνου) και στη συνέχεια επί 20 (εάν η αραιώση είναι 1:20). Το αριθμητικό αποτέλεσμα παριστά τον αριθμό σπερματοζωαρίων / ml σπέρματος. Εάν δε βρεθούν στην πλάκα μέτρησης σπερματοζώαρια, τότε επαναλαμβάνεται η εξέταση σε ένα καινούριο παρασκεύασμα. Εάν και το νέο παρασκεύασμα δεν περιέχει κανένα σπερματοζώαριο, τότε είναι αναγκαία η εξέταση του σπέρματος σε νωπό παρασκεύασμα μετά από

φυγοκέντρωση. Εάν και σε αυτή την περίπτωση δεν υπάρχουν σπερματοζωάρια, τότε τίθεται η διάγνωση «απόλυτη αζωοσπερμία». Άλλες μέθοδοι που έχουν δοκιμασθεί για τη μέτρηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων είναι η κυτταροφωτομετρία με τον προσδιορισμό του DNA των κυττάρων και η Laser – φασματοφωτομετρία. Κατά την κυτταροφωτομετρία είναι δυνατό να γίνουν λανθασμένες μετρήσεις στην περίπτωση υψηλού αριθμού παθολογικών μορφών των σπερματοζωαρίων (π.χ. επί βαριάς τερατοζωοσπερμίας). Η Laser – φασματοφωτομετρία είναι μια καλή μέθοδος προσδιορισμού του αριθμού των σπερματοζωαρίων παράλληλα με τον προσδιορισμό της κινητικότητας (131, 132).



Φωτογραφία : 18

Η πλάκα Neubauer χωρίζεται σε τετράγωνα: το άθροισμα όλων των σπερματοζωαρίων στο μεσαίο τετράγωνο (με αριθμό «5») x 10000 x 20 δίνει τον αριθμό των σπερματοζωαρίων / ml σπέρματος.

3. Η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων

Η αξιολόγηση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων διακρίνεται στην ποσοτική και ποιοτική. Κατά την ποσοτική αξιολόγηση μετριέται σε 10 διαφορετικά οπτικά πεδία το ποσοστό των κινητών σπερματοζωαρίων σε σχέση προς τα ακίνητα. Κατά την ποιοτική αξιολόγηση εκτιμάται επί

πλέον του ποσοτικού προσδιορισμού και το είδος της κίνησης. Το είδος της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων διακρίνεται σε:

- Ακίνησια των σπερματοζωαρίων
- Βραδεία, ασθενή προωθητική κινητικότητα
- Καλή προωθητική κινητικότητα
- Πολύ καλή προωθητική κινητικότητα.

Σπερματοζώαρια με περιστροφικές κυκλικές ή με παλινδρομικές στο ίδιο σημείο ή τρομώδεις κινήσεις χαρακτηρίζονται σαν παθολογικά και θα πρέπει να ξεχωρίζονται από τα σπερματοζώαρια με καλή προς τα εμπρός προωθητική κινητικότητα. Η εκτίμηση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων πραγματοποιείται σε νωπό, παρασκεύασμα με μεγάλη μεγέθυνση. Καλό είναι να χρησιμοποιείται πάντα η ίδια μεγέθυνση για να μην υπάρχουν σημαντικές διαφορές εκτίμησης της κινητικότητας. Η αξιολόγηση της κινητικότητας στο νωπό παρασκεύασμα θα πρέπει να γίνεται όχι μόνο αμέσως μετά τη ρευστοποίηση του σπέρματος, αλλά και στη συνέχεια για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα, συνήθως 4 ωρών. Καταυτό τον τρόπο υπολογίζεται το ποσοστό απώλειας της κινητικότητας σε συνάρτηση με το χρόνο (133, 134, 135).

Σαν «φυσιολογική κινητικότητα» χαρακτηρίζεται η κατάσταση όπου το 30% των σπερματοζωαρίων παρουσιάζουν καλή και το 20% μέτρια προωθητική κινητικότητα. Τα υπόλοιπα 50% των σπερματοζωαρίων μπορούν να είναι ακίνητα ή να παρουσιάζουν μη προωθητική κίνηση. Απώλεια της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων σε ποσοστό 10 – 20% εντός 4 ωρών θεωρείται φυσιολογική. Για τον προσδιορισμό της ταχύτητας των κινητών σπερματοζωαρίων έχουν περιγραφεί τα τελευταία χρόνια διάφορες νέες μέθοδοι χωρίς όμως να μπορούν να εφαρμοσθούν στην καθημερινή κλινική πράξη λόγω του μεγάλου κόστους που έχουν και την απαίτηση εξειδικευμένου προσωπικού. Αυτές είναι οι ακόλουθες:

- MEP (Multiple Exposure Photography) κατά Makler
- Laser – Doppler – Φασματοφωτομετρία (συσκευή Lazymot)
- CAP (ανάλυση εικόνας μέσω Computer).

Με την εφαρμογή της μεθόδου της πολλαπλής φωτογράφισης (MEP)

κατά Makler φωτίζεται μία μικροφωτογραφική εικόνα τον σπέρματος πολλές φορές με ένα στροβοσκόπιο. Τα κινητά σπερματοζωάρια απεικονίζονται σαν στρογγυλά πολλαπλά δακτυλίδια υπό μορφή αλυσίδας πάνω στο φωτογραφικό φιλμ, ενώ τα ακίνητα σαν μονήρη δακτυλίδια. Η μέθοδος αυτή καθιστά δυνατή τη μέτρηση του αριθμού και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων, καθώς και την ταχύτητα κίνησης τους (3).

Με την μέθοδο της Laser - Doppler - φασματοφωτομετρίας χρησιμοποιείται η αρχή Doppler. Σύμφωνα με την αρχή αυτή κινητοί κυτταρικοί σχηματισμοί (στην περίπτωση του σπέρματος τα σπερματοζωάρια) μεταβάλλουν τη συχνότητα των Laser-ακτίνων, οι οποίες διέρχονται μέσω του σπέρματος. Η συχνότητα των Laser - ακτίνων συγκρίνεται πριν και μετά τη διόδο τους μέσω του σπέρματος και κατ' αυτό τον τρόπο υπολογίζεται η ταχύτητα κίνησης των σπερματοζωαρίων (135).

Τέλος άλλη μια μέθοδος μέτρησης της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων είναι η ανάλυση της εικόνας με τη βοήθεια ενός ηλεκτρονικού υπολογιστή (Computer). Ο ηλεκτρονικός υπολογιστής ξεχωρίζει ορισμένες περιοχές από την εικόνα που παίρνει μέσω μιας Video - κάμερας από το μικροσκόπιο και αναλύει σε πολλαπλές διαδοχικές εικόνες την πορεία διαφόρων κυτταρικών σχηματισμών (π.χ. σπερματοζωαρίων). Η μέθοδος αυτή δίνει πληροφορίες σχετικά με το ποσοστό των κινουμένων σπερματοζωαρίων, την ταχύτητα τους, την πορεία που ακολουθούν, καθώς επίσης πληροφορίες σχετικά με τον ολικό αριθμό των σπερματοζωαρίων (136).

4. Τεστ σταθερότητας της κυτταρικής μεμβράνης των σπερματοζωαρίων

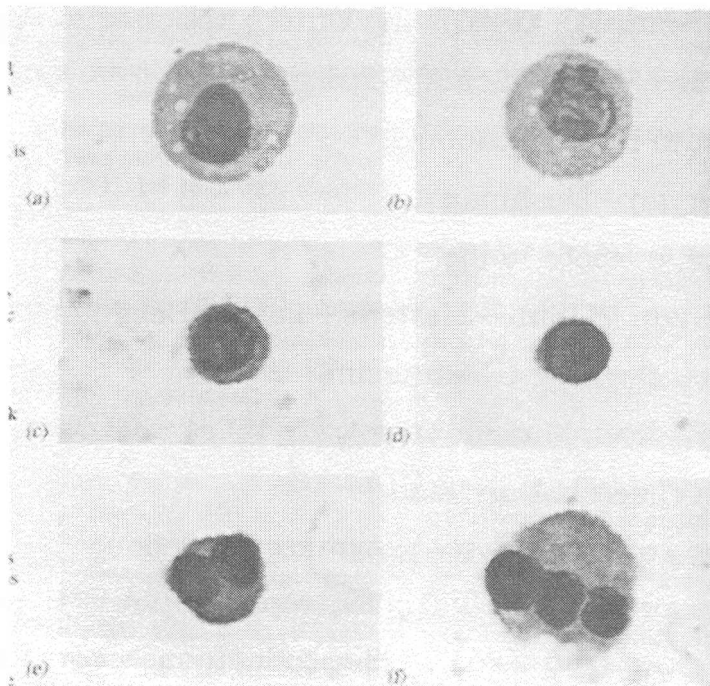
Υπάρχουν στην διάθεση μας διάφορες μέθοδοι και τεχνικές χρώσης ώστε να καταστεί δυνατό να μπορέσουμε να εξακριβώσουμε εάν τα σπερματοζωάρια προς εξέταση είναι «μόνο ακίνητα αλλά ζωντανά» ή είναι απόλυτα «νεκρά». Η κυτταρική μεμβράνη των νεκρών σπερματοζωαρίων είναι διαπερατή σε διάφορες χρωστικές ουσίες, ενώ η μεμβράνη των ακίνητων αλλά ζωντανών σπερματοζωαρίων είναι μη διαπερατή σε αυτές τις χρωστικές ουσίες. Σύμφωνα λοιπόν με αυτή την

αρχή βασίζονται οι μέθοδοι εξακριβωσης της ζωτικότητας ή όχι των σπερματοζωαρίων, τα οποία έχουν την ονομασία «τεστ ζωής» ή «τεστ σταθερότητας της κυτταρικής μεμβράνης» των σπερματοζωαρίων. Αυτά είναι τα ακόλουθα (137):

- Τεστ εωσίνης
- Τεστ της χρωστικής trypan blue
- Τεστ υποσμωτικής διόγκωσης
- Τεστ αντοχής μετά ψύξη

5. Η μορφολογία των σπερματοζωαρίων

Η μορφολογική αξιολόγηση περιλαμβάνει τον προσδιορισμό της εκατοστιαίας αναλογίας των σπερματοζωαρίων με φυσιολογικές μορφές σε σχέση με τα σπερματοζωάρια με παθολογικές μορφές (φωτογραφία 19).



Φωτογραφία : 19

Ανώριμα γεννητικά κύτταρα. a) σπερματοζώονα τύπου A (διάμετρος πυρήνα 6 – 7 μm), b) σπερματοκύτταρα 1^{ης} τάξης (διάμετρος πυρήνα 8 – 9 μm), c) σπερματοκύτταρα 2^{ης} τάξης (διάμετρος πυρήνα 7 μm), d) / e) / f) σπερματίδες (διάμετρος πυρήνα 4 – 5 μm).

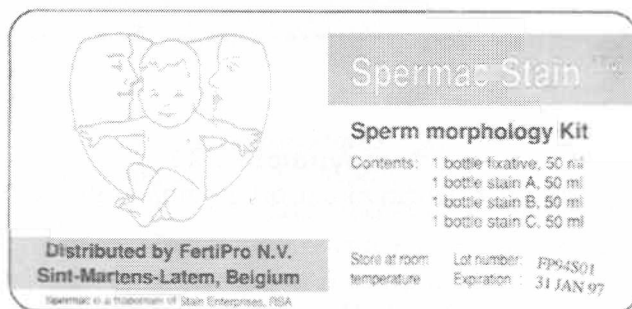
Επί πλέον γίνεται κατάταξη των υπολοίπων κυττάρων του σπερματικού πλάσματος σε κύτταρα της σπερματογένεσης προερχόμενα από το τοίχωμα του σπερματικού σωληναρίου, σε κοκκιοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, φαγοκύτταρα και σε επιθηλιακά κύτταρα. Εάν στη μορφολογική αξιολόγηση ποσοστό της ταξης του 50% και πάνω των σπερματοζωαρίων εμφανίζει παθολογικές μορφές, τότε η κατάσταση αυτή χαρακτηρίζεται σαν τερατοζωοσπερμία. Συνήθως συνυπάρχει επί τερατοζωοσπερμίας και μειωμένος αριθμός (ολιγοζωοσπερμία), καθώς και μειωμένη κινητικότητα (ασθενοζωοσπερμία) των σπερματοζωαρίων, έτσι ώστε να μιλάει κανένας για το γνωστό πλέον σύνδρομο της Ολιγο – Ασθενο – Τερατοζωοσπερμίας (OAT – σύνδρομο) (138).

Η εκτίμηση της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων γίνεται σε παρασκευάσματα μετά από ειδικές χρώσεις. Σαν χρωστικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται:

- η μέθοδος αιματοξυλίνης – εωσίνης
- η May – Grunwald – Giemsa (πανοπτική χρώση κατά Pappenheim)
- η PAS (Period – Acid – Schiff) – χρώση
- η χρώση κατά Παπανικολάου
- η χρώση Bryan – Leishman
- η αντίδραση υπεροξειδάσης
- Spermac Stain™ (Sint – Martens – Latem, Belgium)
- Testsimplet (Boeringer, Mannheim)
- Hamafix (Biomed, Munchen)
- Sangodiff G (Merck, Darmstadt).

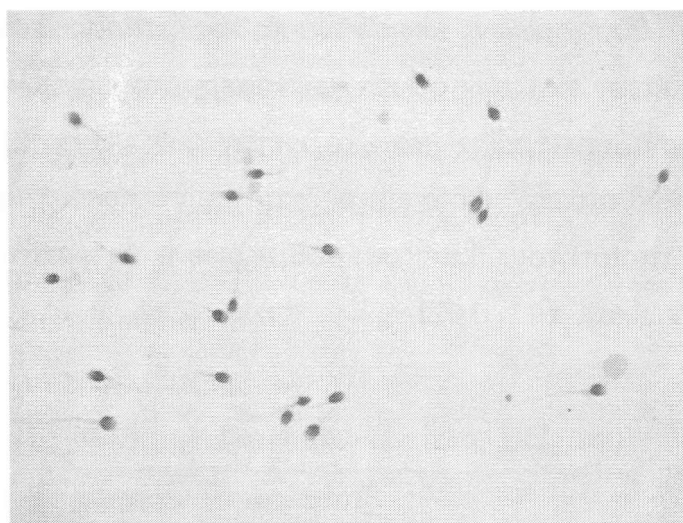
Από όλες τις αναφερόμενες χρωστικές μεθόδους η χρώση κατά Παπανικολάου αποδίδει τα καλύτερα αποτελέσματα. Η μέθοδος αυτή είναι ικανή για μία καλή διαφοροποίηση των κεφαλών των σπερματοζωαρίων και επί πλέον έναν εύκολο διαχωρισμό των λευκοκυττάρων από τα κύτταρα της σπερματογένεσης. Η May – Grunwald – Giemsa – χρώση επιτρέπει καλή διαφοροποίηση των υπολοίπων κυττάρων του σπερματικού πλάσματος και χρωματίζει επίσης και τις κεφαλές των σπερματοζωαρίων. Εάν είναι δύσκολος ο

διαχωρισμός των λευκοκυττάρων και λεμφοκυττάρων από τα άωρα κύτταρα της σπερματογένεσης, τότε χρησιμοποιείται η αντίδραση υπεροξειδάσης. Κατά την αντίδραση αυτή τα λευκοκύτταρα χρωματίζονται καφέ σε αντίθεση με τα κύτταρα της σπερματογένεσης τα οποία παραμένουν ακρωμάτιστα. Στην κλινική πράξη είναι επαρκή τα έτοιμα χρωστικά που είναι διαθέσιμα στο εμπόριο όπως τα: Spermac Stain™ (Sint – Martens – Latem, Belgium), Testsimplet (Boeringer, Mannheim), Hamafix (Biomed, Munchen), Sangodiff G (Merck, Darmstadt), με τα οποία είναι δυνατή μια γρήγορη αξιολόγηση της διαφοροποίησης των διαφόρων κυτταρικών στοιχείων που βρίσκονται στο σπέρμα (φωτογραφία 20). Οι παθολογικές μορφολογικές αλλοιώσεις εντοπίζονται κυρίως στην κεφαλή και λιγότερο στην ουρά και το μεσαίο τμήμα των σπερματοζωαρίων. Για την αξιολόγηση λαμβάνεται υπόψη ο αριθμός των δύσμορφων κεφαλών καθώς επίσης των αλλοιωμένων μεσαίων τμημάτων και των ουρών των σπερματοζωαρίων. Τα ανθρώπινα σπερματοζώαρια μπορούν να ταξινομηθούν χρησιμοποιώντας είτε σταθερό φωτεινό οπτικό πεδίο μικροσκοπίου σε χρωματισμένα δείγματα, είτε υψηλής ποιότητας, είτε σε ρυθμιζόμενο οπτικό πεδίο σε νωπά δείγματα (139, 140, 141, 142).



Φωτογραφία : 20
Χρωστικό kit Spermac Stain.

Οι κεφαλές των χρωματισμένων σπερματοζωαρίων είναι ελαφρώς μικρότερες από τις κεφαλές των ζώντων σπερματοζωαρίων στο πρωταρχικό δείγμα σπέρματος, αν και οι σχηματισμοί δεν είναι αρκετά διαφορετικοί. Αυστηρά κριτήρια μπορούν και πρέπει να εφαρμοσθούν για να καθορισθεί και να εκτιμηθεί το φυσιολογικό σπερματοζωάριο. Η φυσιολογική κεφαλή έχει σχήμα ωοειδές. Επιτρέπει για ελαφριές συρρικνώσεις την σταθεροποίηση και χρώση. Το μήκος της κεφαλής είναι περίπου 4.0 - 5.5 μm και το πλάτος 2.5 - 3.5 μm . Η σχέση μήκους / πλάτους είναι 1.50 έως 1.75. Αυτές οι τιμές εκτείνονται στο 95% σίγουρο όριο, για σύγκριση των στοιχείων και με χρώση κατά Παπανικολάου και για τις ζώντες κεφαλές (φωτογραφία 21).



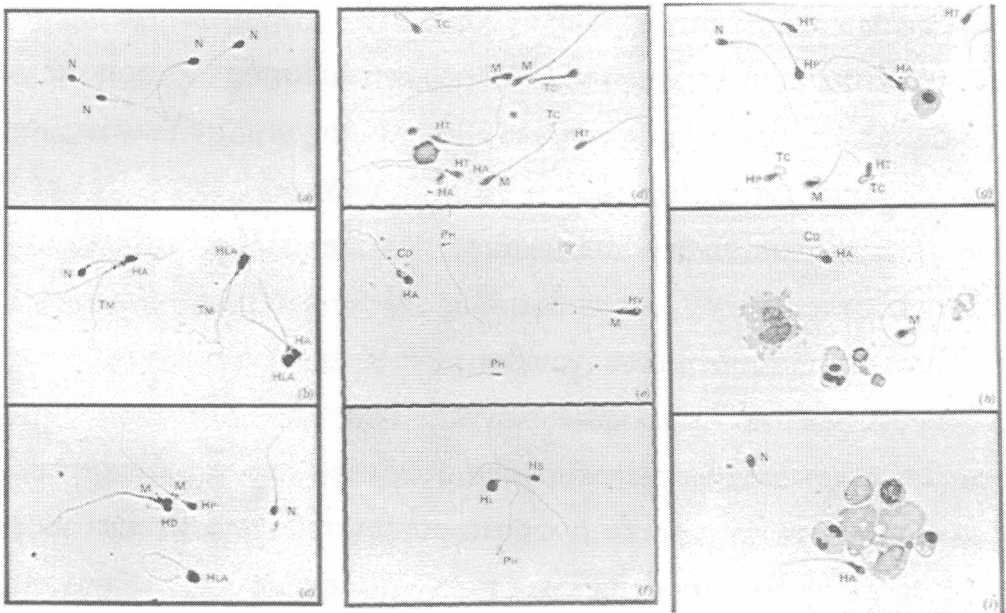
Φωτογραφία : 21

Χρώση κατά Παπανικολάου φυσιολογική εικόνα.

Υπάρχει μια καλά οριζόμενη ακροσωμική ζώνη η οποία καλύπτει περίπου το 40 - 70% της περιοχής της κεφαλής. Δεν πρέπει να υπάρχουν όμως ούτε στον αυχένα, ούτε στον ενδιάμεσου χώρο ούτε στην ουρά ανωμαλίες και ακόμη ούτε κυτταροπλασματικά σταγονίδια μεγέθους πάνω από ένα τρίτο του μεγέθους στο φυσιολογικό σπέρμα.

Αυτή η ταξινόμηση ζητά ότι όλοι οι οριακοί σχηματισμοί να χαρακτηρίζονται ανώμαλοι (143).

Από όταν οι προτεινόμενες μορφολογικές αποτιμήσεις θεωρούνται το λειτουργικό μέρος του σπερματικού κυττάρου, θεωρείται μη απαραίτητος ο διαχωρισμός ρουτίνας όλων των παραμέτρων του μεγέθους της κεφαλής και μορφής ή μεταξύ διαφόρων ανωμαλιών της ουράς. Όμως, αν μια περιοχή του σπερματοζωαρίου είναι ανώμαλη στο μεγαλύτερο μέρος των κυττάρων, ένα συμπληρωματικό σχόλιο θα μπορούσε να γίνει όσον αφορά τις κυριότερες ανωμαλίες (144).



Φωτογραφία : 22

Μορφολογία σπερματοζωαρίων (φωτο-μικρογραφίες x 1000) με χρώση κατά Παπανικολάου. a = φυσιολογικό σπερματοζώαριο, N = φυσιολογικό, b / c / d / e / f / g / h / i = σπερματοζώαρια με ανωμαλίες κεφαλής, αυχένα, ενδιάμεσου, ουράς και τύπου καρφίτσας (απύρρηνα ή ακέφαλα). HA = άμορφη κεφαλή, HD = διπλή κεφαλή, HL = πλατιά κεφαλή, HLA = άμορφη πλατιά κεφαλή, HP = ακλαδοειδής κεφαλή, HT = λεπτή κεφαλή, HV = κενοτόπιος κεφαλή, M = ανωμαλίες αυχένα και ενδιάμεσου τμήματος, CD = κυταροπλασματικά σταγονίδια, N = φυσιολογικά, PH = τύπου καρφίτσας κεφαλή, TC = συνδεδεμένες ουρές, TM = πολλαπλές ουρές.

Οι παρακάτω κατηγορίες ανωμαλιών θα ήταν, όπως φαίνονται και στην φωτογραφία 22:

1. μορφή κεφαλής / ανωμαλίες μεγέθους, περιλαμβάνει πλατιά, μικρή, λεπτή άκρη, ακλαδοειδής, άμορφη, περιέχων κενοτόπια (> 20% της περιοχής της κεφαλής καταλαμβάνεται από μη χρωματιζούμενες κενοτόπιες περιοχές), ή διπλές κεφαλές, ή κάθε συνδυασμός των παραπάνω.
2. ανωμαλίες αυχένα και ενδιάμεσης περιοχής, περιλαμβάνουν απουσία της ουράς (φαίνεται σαν «ελεύθερο» ή «καμένη» κεφαλή), μη παρεμβαλλόμενη ή «κυρτή» ουρά (το σχήμα της ουράς με γωνίωση 90° στο επιμήκη άξονα της κεφαλής), τεντωμένη / ακανόνιστη / κυρτή ενδιάμεση περιοχή, μη φυσιολογική λεπτή ενδιάμεση περιοχή (όχι μιτοχονδριακό περίβλημα), ή κάθε άλλος συνδυασμός των παραπάνω.
3. ανωμαλίες της ουράς, περιλαμβάνουν κόντες, πολλαπλές, σχήμα φουρκέτας, σπασμένες (γωνίωση > 90°), ακανόνιστο πλάτος ή ελικοειδείς ουρές ή ουρές με τελικό σταγονίδιο, ή κάθε άλλος συνδυασμός των παραπάνω.
4. κυτταροπλασματικά σταγονίδια μεγαλύτερα πάνω από το ένα τρίτο της περιοχής από μια φυσιολογική κεφαλή. Κυτταροπλασματικά σταγονίδια είναι συνήθως εντοπισμένα στον αυχένα / ενδιάμεση περιοχή του κυττάρου, αν και μερικά ανώριμα σπερματοζωάρια μπορεί να έχουν κυτταροπλασματικά σταγονίδια σε οποιαδήποτε άλλο σημείο κατά μήκος της ουράς.

Γ. Βιοχημικές εξετάσεις του σπέρματος

Μετά τη μακροσκοπική και μικροσκοπική εξέταση για τον προσδιορισμό του αριθμού, της κινητικότητας και της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων ακολουθεί η βιοχημική ανάλυση του σπέρματος στα πλαίσια των εξετάσεων «ρουτίνας» του σπέρματος και είναι δυνατό να γίνει σε εργαστήρια ακόμη και με περιορισμένες δυνατότητες και εξοπλισμό ο προσδιορισμός των ακόλουθων συστατικών του σπέρματος όπως (145):

1. Ο προσδιορισμός της φρουκτόζης στο σπέρμα γίνεται με ενζυματικές μεθόδους με τη χρησιμοποίηση της γλυκόζης - 6 - φωσφορικής -

δεϋδρογενάσης. Η μέθοδος αυτή προϋποθέτει τη μετατροπή της φωσφορικής - 6 - φρουκτόζης σε φωσφορική - 6 - γλυκόζη, έτσι ώστε να είναι δυνατό να προσδιορισθεί συγχρόνως και η πυκνότητα της γλυκόζης. Η φρουκτόζη αποτελεί τη διαφορά που προκύπτει εάν από την ολική πυκνότητα των εξοζών αφαιρεθεί η πυκνότητα της γλυκόζης.

2. Ο προσδιορισμός της προστατικής φωσφατάσης γίνεται είτε με ενζυμικές είτε με ανοσολογικές μεθόδους. Για τον ανοσολογικό προσδιορισμό της φωσφατάσης υπάρχουν πολλαπλά τεστ, γνωστά σαν ELISA (Enzyme - Linked Immunosorbent - Assay). Καλές εμπειριστατωμένες μελέτες υπάρχουν και με τη χρησιμοποίηση μονοκλωνικών αντισωμάτων.

3. Για τον προσδιορισμό του κιτρικού οξέος χρησιμοποιείται η μέθοδος της αντίδρασης Ford - Hermann. Κατά τη μέθοδο αυτή οξινίζεται το πλάσμα του σπέρματος μετά την αφαίρεση των λευκωμάτων με οξεικό οξύ. Εάν προστεθεί πυριδίνη, τότε το μείγμα παίρνει ένα ερυθρό χρώμα. Η συγκέντρωση του κιτρικού οξέος προσδιορίζεται στη συνέχεια ανάλογα με την ένταση του χρώματος με φωτομετρικές μεθόδους.

4. Ο προσδιορισμός του ψευδαργύρου στο πλάσμα του σπέρματος γίνεται με φασματοφωτομετρικές μεθόδους. Ο προσδιορισμός του ψευδαργύρου στο σπέρμα δε βρίσκει, λόγω της πολυπλοκότητας της μεθόδου, ευρεία εφαρμογή.

5. Ο προσδιορισμός της καρνιτίνης στο σπέρμα γίνεται με ενζυμικές μεθόδους.

6. Λειτουργικές εξετάσεις του ακροσώματος οι οποίες περιλαμβάνουν:

- Ο προσδιορισμός της ακρωσίνης. Για τη διεύθυνση του σπερματοζωαρίου στο ωάριο είναι απαραίτητη η απελευθέρωση του περιεχομένου του ακροσώματος και ιδιαίτερα της πρωτεΐνης ακρωσίνης. Από τη δραστηριότητα της ακρωσίνης είναι δυνατό να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με τη λειτουργικότητα των σπερματοζωαρίων. Για τον προσδιορισμό της ακρωσίνης απομακρύνονται οι κυτταρικές μεμβράνες των σπερματοζωαρίων και οι εξωτερικές μεμβράνες του ακροσώματος μετά από επώαση τους σε 2% οξεικό οξύ. Τα απελευθερωθέντα πρωτεολυτικά ένζυμα προσδιορίζονται στη συνέχεια

με φασματοφωτομετρικές μεθόδους. Η δραστηριότητα της ακρωσίνης είναι δυνατό να γίνει ορατή με τη μέθοδο της «ζελατινόλυσης». Με την μέθοδο αυτή, πλυμένα σπερματοζώαρια φέρονται σε μια πλάκα ζελατίνης (φιλμ). Κάτω από ειδικές συνθήκες τα σπερματοζώαρια διαλύουν τη ζελατίνη και σχηματίζουν γύρω από τις κεφαλές τους μια ορατή κηλίδα. Ο αριθμός των σπερματοζωαρίων, τα οποία σχημάτισαν τις ορατές κηλίδες στο φιλμ, δείχνει τον αριθμό των σπερματοζωαρίων με πρωτεολυτική δραστηριότητα (146, 147).

- Η αντίδραση του ακροσώματος. Ο προσδιορισμός της αντίδρασης του ακροσώματος είναι μία επί πλέον παράμετρος αξιολόγησης της ικανότητας των σπερματοζωαρίων προς γονιμοποίηση. Η ακροσωματική αντίδραση είναι δυνατό να προσδιορισθεί με κυτταροχημικές μεθόδους με τη βοήθεια της *in vitro* Triple – Stain – τεχνικής (Τρουπανομπλέ, καφέ του Bismarck, κόκκινο της Βεγγάλης) κατά Talbot και Chacon ή με τη χρησιμοποίηση μονοκλωνικών αντισωμάτων. Κατά την τεχνική Triple – Stain τα σπερματοζώαρια επώάζονται με διάλυμα του Trypan – Blue για να είναι δυνατός ο διαχωρισμός των ζώντων από τα νεκρά σπερματοζώαρια. Στη συνέχεια σχηματίζεται ένα παρασκευάσμα των κυττάρων πριν και ένα άλλο μετά την επώαση επί 3 ώρες σε ένα διάλυμα λευκωματίνης. Ακολουθεί η χρώση και των δύο παρασκευασμάτων (προ και μετά την επώαση) με καφέ του Bismarck και κόκκινο της Βεγγάλης. Στη συνέχεια καταμετρούνται τα κύτταρα με θετική αντίδραση ακροσώματος στα δύο παρασκευάσματα. Το 90% των σπερματοζωαρίων των ικανών προς γονιμοποίηση ανδρών παρουσιάζουν πριν από την επώαση θετική ακροσωματική αντίδραση (148).

- Ο ανασταλτικός της θρυψίνης παράγοντας. Ο ανασταλτικός της θρυψίνης παράγοντας περιλαμβάνει μια ομάδα ανασταλτικών ουσιών, από τις οποίες η ουσία II αναστέλλει ειδικά τη δράση της παρόμοιας προς τη θρυψίνη ακρωσίνης. Η ανασταλτική αυτή ουσία σχηματίζεται στις σπερματοδόχες κύστεις και είναι ανεξάρτητη από την ύπαρξη ή μη σπερματοζωαρίων. Μετά την εκσπερμάτιση η ουσία αυτή επικάθεται επί του ακροσώματος και συνενώνεται με την ακρωσίνη, αναστέλλοντας έτσι τη δράση της. Κατά την ανοδική πορεία των σπερματοζωαρίων εντός των

εσωτερικών γεννητικών οργάνων της γυναίκας διασπάται αυτή η συνένωση της ακρωσίνης με τον ανασταλτικό παράγοντα, με αποτέλεσμα τα σπερματοζωάρια να περιέχουν δραστική πλέον ακρωσίνη και να είναι ικανά να γονιμοποιήσουν τα ωάρια (149).

Δ. Ανοσοβιολογικές εξετάσεις του σπέρματος και αντισπερματικά αντισώματα

Σπερματοζωάρια και μεμονωμένα συστατικά του σπερματικού πλάσματος είναι δυνατό, κάτω από ιδιαίτερες συνθήκες, να δραστηριοποιηθούν σαν αντιγόνα και να οδηγήσουν στο σχηματισμό αντισπερματικών αντισωμάτων. Τα αντισώματα αυτά μπορούν να ανιχνευθούν τόσο στον ορό του αίματος ή στο σπέρμα του ίδιου του άνδρα σαν αυτοαντισώματα, όσο και στα εκκρίματα των γεννητικών οργάνων (συνήθως τραχηλικής βλέννας) της συντρόφου σαν ισοαντισώματα. Τα αντισπερματικά αντισώματα είναι δυνατό να προκαλέσουν συγκόλληση ή ακινητοποίηση των σπερματοζωαρίων και να αποτελέσουν αιτία υπογονιμότητας με διάφορους μηχανισμούς. Στην τραχηλική βλέννα, π.χ., τα αντισπερματικά αντισώματα αναστέλλουν τη διείσδυση των σπερματοζωαρίων προκαλώντας μείωση της κινητικότητας ή και πλήρη ακινησία των σπερματοζωαρίων. Άλλος μηχανισμός είναι οι αλληλεπιδράσεις σπερματοζωαρίου – ωαρίου με πιθανή ενεργοποίηση μακροφάγων και φαγοκυττάρωση στο γεννητικό σύστημα, της γυναίκας. Κατά τις ανοσολογικές αντιδράσεις παρατηρούνται συγκολλήσεις των σπερματοζωαρίων (μεταξύ κεφαλής – κεφαλής, ουράς – ουράς ή μικτές μορφές). Το εύρημα αυτό είναι μορφολογικά σχετικά εύκολο να διαπιστωθεί, τα σπερματοζωάρια όμως θα πρέπει να παρακολουθηθούν για πολλές ώρες κάτω από το μικροσκόπιο, δεδομένου ότι το φαινόμενο αυτό παρατηρείται συχνά αρκετές ώρες μετά την εκσπερμάτιση. Μέθοδοι ανίχνευσης αντισπερματικών αντισωμάτων κατά των σπερματοζωαρίων (150, 151, 152):

- Βιολογικές δοκιμασίες
 1. Δοκιμασία μακροσυγκόλλησης κατά Kibrick
 2. Δοκιμασία μακροσυγκόλλησης κατά Franklin και Dukes (F – D τεχνική)

3. Δοκιμασίες ακινητοποίησης των σπερματοζωαρίων (τεχνική Fjallbrant και τεχνική Isojima – Koyaka)

- Συνένωση ανοσοσφαιρινών με ακέραια σπερματοζωάρια
- 1. Δοκιμασία της «μικτής αντισφαιρικής αντίδρασης» (MAR – Test = Mixed – antiglobulin – Reaction – Test)
- 2. Immunobead – Δοκιμασία
- 3. Συνένωση σηματοδοτημένης ραδιενεργού ανοσοσφαιρίνης
- Συνένωση ανοσοσφαιρίνης με απομονωμένα αντιγόνα
- 1. ELISA (Enzyme – Linked – Immunosorbent – Assay)
- 2. RIA – Δοκιμασία (Radio – Immuno – Assay)

Ε. Δοκιμασίες διείσδυσης των σπερματοζωαρίων στην τραχηλική βλέννα

Η ανάλυση των κλασικών παραμέτρων τον σπερμοδιαγράμματος (του αριθμού, της κινητικότητας και της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων) δεν αρκεί συχνά για την αξιολόγηση της ικανότητας του σπέρματος προς γονιμοποίηση. Το σπερματοζωάριο μετά την εκσπερμάτιση, αναζητά γυναικεία υγρά στοιχεία, μέσω των οποίων θα φθάσει και θα εκπληρώσει τον αντικειμενικό του σκοπό, δηλαδή τη διείσδυση και την γονιμοποίηση του ωαρίου. Σαν βασικό γυναικείο υγρό θεωρείται η βλέννα του τραχήλου της μήτρας. Για το λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί πολλές δοκιμασίες, γνωστές σαν δοκιμασίες «διείσδυσης των σπερματοζωαρίων», με στόχο τη διερεύνηση των λειτουργικών σχέσεων μεταξύ των σπερματοζωαρίων και της τραχηλικής βλέννας (153, 154).

Οι δοκιμασίες «διείσδυσης των σπερματοζωαρίων» ανήκουν στην «ευρεία διαγνωστική του σπέρματος», πρέπει δε να γίνονται μόνο κατά τη φάση της ωορρηξίας. Με την επιλογή της κατάλληλης δοκιμασίας ή με το συνδυασμό πολλών από αυτές είναι δυνατό να προλεχθεί στο 80% των περιπτώσεων εάν το σπέρμα ενός συγκεκριμένου άνδρα είναι ικανό ή όχι προς γονιμοποίηση. Οι μέθοδοι οι οποίες χρησιμοποιούνται για την δοκιμασία διείσδυσης των σπερματοζωαρίων στην τραχηλική βλέννα είναι (155, 156):

1. Αξιολόγηση της τραχηλικής βλέννας «Score του τραχήλου» κατά Insler

2. Μετασυνουσιακή δοκιμασία (Sims – Huhner – Test)
 3. Δοκιμασία αντικειμενοφόρας πλάκας (Kurzrock – Miller – Test)
 4. Δοκιμασία επαφής σπερματοζωαρίων-βλέννα (SCWC – Test = Sperm Cervical Mucus Contact – Test)
 5. Η τριχοειδική δοκιμασία κατά Kremer
 6. Δοκιμασία διείσδυσης σε βόεια βλέννα (PenetrakJ – Test)
- Z. Δοκιμασία διείσδυσης σε ετερόλογο ωάριο (HOP – Test = Hamster – Oocyte – Penetration – Test)**

Κατά τη δοκιμασία αυτή προκαλείται σε θηλυκά Hamster ωορρηξία με τη βοήθεια των ορμονών HCG και HMG. Τα λαμβανόμενα ωάρια επωάζονται, μετά από απομάκρυνση της διαφανούς ζώνης, με ανθρώπινα σπερματοζωάρια. Κατ' αρχάς παρατηρείται συνένωση των σπερματοζωαρίων με τη μεμβράνη του ωαρίου και εν συνεχεία η είσοδος τους στο πλάσμα του ωαρίου και η διόγκωσή τους σε προπυρήνες. Η αξιολόγηση της δοκιμασίας γίνεται με μέτρηση των ωαρίων με θετικές διεισδύσεις σπερματοζωαρίων. Η τεχνική αυτής της δοκιμασίας είναι δύσκολη και προϋποθέτει τεχνικό εξοπλισμό και εξειδικευμένο προσωπικό. Αυτοί είναι και οι λόγοι της μη ευρείας εφαρμογής της στην κλινική πράξη. Η δοκιμασία αυτή όμως είναι η μόνη δοκιμασία με την οποία είναι δυνατό να εκτιμηθεί *in vitro* η ικανότητα ενός άνδρα προς γονιμοποίηση (157).

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Είναι γνωστό ότι πολύ μεγαλύτερη σημασία για τη γονιμότητα του σπέρματος έχει η κινητικότητα και η μορφολογία από ότι ο αριθμός των σπερματοζωαρίων. Μέχρι σήμερα όμως δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα στην Διεθνή Βιβλιογραφία όσον αφορά την ευαισθησία των τριών παραμέτρων του σπέρματος στα διάφορα αίτια που ασκούν βλαπτική επίδραση στη σπερματογένεση. Η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε για να εκτιμηθεί ποια από τις κύριες παραμέτρους δειγμάτων σπέρματος ανδρών, οι οποίοι φέρουν κάποια πάθηση στο γεννητικό τους σύστημα, επηρεάζεται συχνότερα και εντονότερα από τους διάφορους βλαπτικούς παράγοντες και η κατάταξη των μορφολογικών ανωμαλιών έγινε σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Έτσι εκτιμήθηκαν τα φυσιολογικά και τα παθολογικά σπερματοζωάρια, αλλά και το σύνολο των μορφολογικών ανωμαλιών των σπερματοζωαρίων.

Στο Τμήμα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Πανεπιστημιακής Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής και στην Πανεπιστημιακή Ουρολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων μελετήθηκαν – εξετάστηκαν και αξιολογήθηκαν δείγματα σπέρματος ανδρών οι οποίοι κατά το πρόσφατο ή το απώτερο παρελθόν είχαν νοσήσει από κάποια πάθηση του γεννητικού τους συστήματος.

Μελετήθηκαν δείγματα σπέρματος από 64 άνδρες ηλικίας 19 – 57 ετών (μέση τιμή 37.25 έτη \pm 10.972) οι οποίοι ανάλογα με την κατηγορία κατατάσσονται σε ηλικία 39 ετών \pm 13.329 σε αυτούς που ανήκουν στις φλεγμονώδεις περιπτώσεις, σε ηλικία 37 ετών μέσο όρο \pm 10.493 των χειρουργικών παθήσεων και σε ηλικία 34.75 \pm 7.62 σε αυτούς με κισσοκήλη. Σε όλα τα άτομα έγινε προσεκτική κλινική εξέταση, η οποία έδειξε πλήρη ανάπτυξη των δευτερογενών χαρακτήρων του φύλου, και όγκο δεξιού 21.2 \pm 2.8 cm³ και αριστερού όρχι 20.9 \pm 2.8 cm³ (μέση τιμή \pm SD 21.0 \pm 2.8 cm³). Οι ασθενείς οι οποίοι συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη όπως αναφέρθηκε είχαν νοσήσει στο πρόσφατο ή το απώτερο παρελθόν από κάποια πάθηση που αφορούσε το γεννητικό τους

σύστημα. Συγκεκριμένα οι παθήσεις οι οποίες ενεπλάκησαν κατά την διάρκεια της μελέτης μπορούμε να τις διαχωρίσουμε σε χειρουργικές παθήσεις (οδηγήθηκαν στο χειρουργικό τραπέζι) με ένα ποσοστό της τάξης του 34.4%, σε φλεγμονώδεις παθήσεις με ένα ποσοστό που ανέρχεται στο 40% και το υπόλοιπο 25% αφορούσε τους ασθενείς οι οποίοι εμφάνιζαν κίρσοκήλη. Πιο αναλυτικά στην κατηγορία των χειρουργικών παθήσεων συμπεριλαμβάνονται παθήσεις όπως: κρυπορχία, απόστημα όσχεου με πολλαπλά δερματικά συρίγγια, καρκίνος του όρχι, επώδυνο και μη μórφωμα όρχι. Στις φλεγμονώδεις καταστάσεις συμπεριλήφθηκαν περιπτώσεις όπως: οξεία ορχίτιδα (αερόβια, αναερόβια, γονόκοκκος), ορχίτιδα από παρωτίτιδα, ορχεοεπιδιδυμίτιδα, επιδιδυμίτιδα, προστατίτιδα (οξεία ή χρόνια) και ουρηθρίτιδα.

Η συλλογή του σπέρματος γινόταν με αυνανισμό σε γυάλινα αποστειρωμένα δοχεία ύστερα από σεξουαλική αποχή 3 - 7 ημερών (4.4 ± 1.2 ημέρες). Αρχικά ελέγχονταν η ρευστοποίηση, το pH, η γλοιότητα και ο όγκος του σπέρματος. Για τον προσδιορισμό της γλοιότητας έγινε φυγοκέντρηση του σπέρματος δύο φορές και αποχωρίστηκε το σπερματικό υγρό. Η γλοιότητα του σπερματικού υγρού καθορίστηκε από το χρόνο που χρειάστηκαν 20 μικρόλιτρα του υγρού αυτού να διανύσουν απόσταση πέντε εκατοστών σε γυάλινη αντικειμενοφόρα πλάκα, που ήταν τοποθετημένη σε τέτοια θέση, ώστε να σχηματίζεται γωνία 45° με το οριζόντιο επίπεδο. Για κάθε δείγμα σπερματικού υγρού η διαδικασία γινόταν τρεις φορές και προσδιορίζονταν η μέση τιμή. Στη συνέχεια υπολογίζονταν ο χρόνος που χρειάζονταν 20 μικρόλιτρα απεσταγμένου νερού να διανύσουν την ίδια απόσταση. Ο συντελεστής γλοιότητας του σπέρματος λαμβάνονταν από το κλάσμα με αριθμητή τη μέση τιμή του χρόνου ροής του σπερματικού υγρού και παρονομαστή την αντίστοιχη τιμή του χρόνου ροής του απεσταγμένου νερού. Η εκατοστιαία αναλογία των κινητών σπερματοζωαρίων ελέγχθηκε με την υποκειμενική μέθοδο σε θερμοκρασία δωματίου ($22 - 25^\circ\text{C}$).

Ο αριθμός των σπερματοζωαρίων προσδιορίστηκε σε αντικειμενοφόρα πλάκα Neubauer μετά από ακινητοποίηση των

κυττάρων με απεσταγμένο νερό με την χρήση μικροσκοπίου σε μεγέθυνση $\times 400$. Η εκατοστιαία αναλογία των κινητών σπερματοζωαρίων έγινε σε νωπό παρασκεύασμα δείγματος σπέρματος και σε μεγάλη μεγέθυνση του μικροσκοπίου. Η μονιμοποίηση των σπερματοζωαρίων πραγματοποιήθηκε αφού ξεπλύθηκαν δυο φορές με PBS και φυγοκεντρήθηκαν στις 400g με σταθεροποίηση σε δυο ανταλλαγές από μεθανόλη: οξικό οξύ (3 : 1 v : v) για 8 λεπτά της ώρας και φυγοκέντρηση στις 400g, άπλωμα πάνω σε ξεπλυμένα πλακάκια τα οποία επεξεργάστηκαν με APES και κατόπιν στεγνώθηκαν. Τα δείγματα κατόπιν φυλάχτηκαν και διατηρήθηκαν σε $- 20^{\circ}\text{C}$ έως ότου επανεξετασθούν και μελετηθούν. Η μικροσκοπική ανάλυση των πλακιδίων έγινε με την χρήση μικροσκοπίου τύπου Laborlux S Leitz Wetzlar.

Η μορφολογία των σπερματοζωαρίων εκτιμήθηκε σε επιχρίσματα σπέρματος τα οποία χρωματίστηκαν με το ειδικό χρωστικό τεστ Spermac Stain™ (Sint – Martens – Latem, Belgium) και με τη μέθοδο κατά Παπανικολάου. Από κάθε επιχρίσμα σπέρματος ελέγχθηκαν 100 σπερματοζώαρια και η κατάταξη των μορφολογικών ανωμαλιών έγινε σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.

Η διαδικασία χρώσης με την ειδική ουσία Spermac Stain™ (Sint – Martens – Latem, Belgium) όπου το συνολικό πακέτο χρώσης περιέχει ένα μπουκάλι σταθεροποιητικό και τρία μπουκάλια (Α, Β και Γ) με τα υλικά χρώσης, έχει ως ακολούθως:

1. αερισμός και στέγνωμα της κηλίδας φρέσκου αίματος και μη διαλυμένου το πολύ για 5 λεπτά της ώρας.
2. σταθεροποίηση της κηλίδας, βυθίζοντας το πλακάκι το λιγότερο για 5 λεπτά σε ένα δοχείο Corlin το οποίο περιέχει το σταθεροποιητικό. Το πλακάκι μπορεί να παραμείνει και όλη την νύχτα.
3. ξέπλυμα βρέχοντας το στη βρύση 5 – 6 φορές ή σε απεσταγμένο νερό.
4. χρώση για 1 – 2 λεπτά στο χρωστικό Α. Ξέπλυμα όπως πριν.
5. χρώση για 1 λεπτό στο χρωστικό Β. Ξέπλυμα όπως πριν.
6. χρώση για 1 λεπτό στο χρωστικό Γ. Ξέπλυμα όπως πριν.

7. αερισμός της κηλίδας και στέγνωμα.
8. παρατήρηση του δείγματος σε ένα φωτεινό μικροσκόπιο χρησιμοποιώντας ειδικό λάδι για το μικροσκόπιο.

Έτσι μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι:

1. το ακρόσωμα βάφεται σκούρο πράσινο
2. ο πυρήνας βάφεται σκούρο κόκκινο
3. η περιοχή του ισημερινού βάφεται ανοικτό πράσινο
4. το ενδιάμεσο τμήμα και η ουρά βάφονται πράσινο.

Η χρώση κατά Παπανικολάου διακρίνει ξεκάθαρα μεταξύ των βασεόφιλων και των οξεόφιλων στοιχείων του κυττάρου και μας δίνει την δυνατότητα για μια αναλυτική μελέτη της χρωματινής του κυττάρου. Γι' αυτόν τον λόγο αυτή η μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για κυτταρολογικές διαγνωστικές ρουτίνες. Η παρούσα χρωστική τεχνική αποδείχθηκε χρήσιμη για την ανάλυση της μορφολογίας του σπέρματος και στη εξέταση των ανώριμων γεννητικών κυττάρων.

Προετοιμασία δείγματος: το επίχρισμα πρέπει να στεγνώσει σε ξηρό αέρα και μετά να σταθεροποιηθεί σε ίσα μέρη από 95% αιθανόλης (950 ml/l) και αιθέρα για 5 – 15 λεπτά της ώρας.

Διαδικασία χρώσης: τα σταθεροποιημένα επίχρισματα μπορούν να βαφούν ως ακολούθως:

- | | |
|----------------------------------|-----------------|
| • αιθανόλη 80% (800 ml/l) | 10 βυθίσματα |
| • αιθανόλη 70% (700 ml/l) | 10 βυθίσματα |
| • αιθανόλη 50% (500 ml/l) | 10 βυθίσματα |
| • απεσταγμένο νερό | 10 βυθίσματα |
| • Harris' ή Mayer's αιμοτοξυλίνη | 3 λεπτά ακριβώς |
| • Τρεχούμενο νερό | 3 – 5 λεπτά |
| • Όξινη αιθανόλη | 2 βυθίσματα |
| • Τρεχούμενο νερό | 3 – 5 λεπτά |
| • Scott's διάλυμα | 4 λεπτά |
| • απεσταγμένο νερό | 1 βύθισμα |
| • αιθανόλη 50% | 10 βυθίσματα |
| • αιθανόλη 70% | 10 βυθίσματα |

- αιθανόλη 80% 10 βυθίσματα
- αιθανόλη 90% 10 βυθίσματα
- Orange G6 διάλυμα 2 λεπτά
- αιθανόλη 90% 10 βυθίσματα
- αιθανόλη 95% 10 βυθίσματα
- EA-50 5 λεπτά
- αιθανόλη 95% 5 βυθίσματα
- αιθανόλη 95% 5 βυθίσματα
- αιθανόλη 95% 5 βυθίσματα
- αιθανόλη 95% (995 ml/l) 2 λεπτά

Πριν από την εφαρμογή των ανωτέρω πρέπει να ελεγχθεί η οξύτητα του νερού, το pH πρέπει να είναι 7.0 και κάθε βύθισμα αντιστοιχεί περίπου σε 1 sec.

Στατιστική ανάλυση:

Οι συσχετίσεις και η στατιστική ανάλυση ανάμεσα στις τιμές των διαφόρων παραμέτρων του σπέρματος έγιναν με την εκτίμηση των συντελεστών συσχέτισης χρησιμοποιώντας το ειδικό λογισμικό πρόγραμμα στατιστικής «Statistica rel. 5.1» για Windows '98. Οι στατιστικές διαφορές των συνεχών μεταβολών των 3 κατηγοριών δειγμάτων σπέρματος ελέγχθηκαν με την μέθοδο ANOVA μιας κατεύθυνσης (one way analysis of variance). Όπου υπήρχαν σημαντικές διαφορές ελέγχθηκαν ανά δυο ομάδες με την μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων (Post - Hoc Comparison). Τέλος το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας καθορίστηκε σε $p < 0.05$ σε κάθε περίπτωση.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παραθέτοντας τα αποτελέσματα και τις αναλύσεις των διαφόρων παραμέτρων και συγκρίσεων ξεκινάμε με την ανάλυση των ευρημάτων του κλασικού σπερμοδιαγράμματος των ανδρών της μελέτης μας. Έτσι παρατηρήσαμε ότι, τα δείγματα σπέρματος τα οποία είχαν φυσιολογική χροιά ήταν της τάξης του 84.4% και τα μη φυσιολογικά της τάξης του 15.6% στο σύνολο των δειγμάτων, ενώ κατά κατηγορία στις φλεγμονώδεις περιπτώσεις ήταν 69.23% και 30.77% αντίστοιχα, στις χειρουργικές 90.0% και 9.09% και στις κισσοκήλες ήταν σχεδόν 100% φυσιολογική. Βρέθηκε ένα ποσοστό 65.6% όπου παρουσίασε φυσιολογική ρευστοποίηση και το υπόλοιπο 34.4% με παθολογική στο σύνολο των δειγμάτων, ενώ ανάλογα με την κατηγορία ήταν 53.84% και 46.16% αντίστοιχα για τις φλεγμονώδεις περιπτώσεις, 72.72% και 27.27%, για τις χειρουργικές και 75% με 25% για τις κισσοκήλες.

Το ιξώδες των δειγμάτων σε ένα ποσοστό το οποίο ανέρχεται σε 78.2% ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων ενώ ένα ποσοστό 21.8% ήταν μη φυσιολογικό, οι φλεγμονές είχαν 69.32% φυσιολογικό και 30.37% μη φυσιολογικό, τα χειρουργικά περιστατικά 72.72% και 27.275 αντίστοιχα και οι κισσοκήλες 100% φυσιολογικό ιξώδες. Τα δείγματα με pH ίσον του 7.2 ήταν σε ποσοστό 56.25%, εκείνα τα οποία το pH τους ήταν < 7.2 το ποσοστό ήταν 9.37% και εκείνα με pH > 7.2 το ποσοστό έφτανε το 34.37%. Γενικά το pH κυμάνθηκε από 6.7 έως 8.0 με μια μέση τιμή της τάξης του 7.26. Κατά κατηγορία μπορούμε να πούμε ότι στις φλεγμονώδεις και στις χειρουργικές παθήσεις ο μέσος όρος ήταν 7.27 (± 0.316) και στις κισσοκήλες 7.225 (± 0.088), δηλαδή χωρίς ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των.

Τα επίπεδα του όγκου του σπέρματος κυμάνθηκαν από μια ποσότητα του 1 ml έως την ποσότητα των 5 ml με μια μέση τιμή της τάξης του 3.05 ml (± 1.15) όσον αφορά το σύνολο των δειγμάτων. Ο όγκος ανάλογα με τις παθήσεις παρουσίαζε μέσο όρο τιμών της τάξης του 2.81 ml (± 1.232) για τις φλεγμονές, 3.3 ml (± 1.28) για τις χειρουργικές

και 3.125 ml (± 0.876) για τις κισσοκήλες. Κατά τον έλεγχο της εκατοστιαίας αναλογίας της κινητικότητας και των μορφολογικών ανωμαλιών των σπερματοζωαρίων παρατηρήθηκε ότι σε όλα τα δείγματα ο μέσος όρος των σπερματοζωαρίων που εμφάνιζε κάποιου βαθμού κινητικότητα έφθασε το ποσοστό της τάξης του 30.65% (± 26.011) από ένα ελάχιστο του 0% έως το 80% και το 27.40% (± 22.072) από 0% έως 80% αντίστοιχα για τα σπερματοζωάρια τα οποία παρουσίαζαν φυσιολογική μορφολογία. Τα ποσοστά αυτά ανάλογα με την κατηγορία πάθησης είχαν ως εξής: φλεγμονές 20.69% (± 19.745) κινητά σπερματοζωάρια και 21.76% (± 17.912) με φυσιολογική μορφολογία, χειρουργικές 41.09% (± 31.21) κινητά και 30.63% (± 26.92) φυσιολογικά και για τις κισσοκήλες 32.5% (± 24.01) κινητά και 32.125% (± 21.7) με φυσιολογική μορφολογία. Όπως διαφαίνεται η κατηγορία φλεγμονής έναντι των χειρουργικών παθήσεων παρουσιάζουν μεταξύ τους μια οριακή διαφορά $p = 0.05$.

Ο αριθμός των σπερματοζωαρίων ($10^6/\text{ml}$) διακυμάνθηκε από 0 έως 110 με μέσο όρο το 31.70 (± 34.523) στο σύνολο των δειγμάτων, στις φλεγμονές 31.28% (± 39.702), στις χειρουργικές 25.59% (± 29.7) και στις κισσοκήλες 40.81% (± 34.089) (πίνακας 3).

α/α	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΦΛΕΓΜΩΝΕΣ	ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΑ	ΚΙΣΣΟΚΗΛΗ
1	Χροιά	69.23	90.9	100
2	Ρευστοποίηση	53.84	72.72	75
3	Ιξώδες	69.23	72.72	100
4	Όγκος / ml	2.81 (± 1.232)	3.3 (± 1.28)	3.125 (± 0.876)
5	pH	7.27 (± 0.271)	7.27 (± 0.316)	7.22 (± 0.088)
6	Μορφολογία	21.76 (± 17.912)	30.63 (± 26.92)	32.12 (± 21.70)
7	Κινητικότητα	20.69 (± 19.745)	41.09 (± 31.21)	32.50 (± 24.01)
8	Αριθμός σπερμ.	31.28 (± 39.702)	25.59 (± 29.700)	40.81 (± 34.089)

Πίνακας : 3

Τιμές παραμέτρων σπερμοδιαγράμματος όπου φαίνονται: το ποσοστό επί % των περιστατικών με φυσιολογική χροιά, ρευστοποίηση, ιξώδες, μορφολογία, κινητικότητα και οι μέσες τιμές των άλλων χαρακτηριστικών του σπερμοδιαγράμματος με τις αντίστοιχες τιμές \pm σταθερής απόκλισης αυτών.

Από την αξιολόγηση της χρώσης των δειγμάτων σπέρματος με το ειδικό τεστ Spermac Stain παρατηρήσαμε ότι τα σπερματοζωάρια τα οποία παρουσίαζαν μια φυσιολογική μορφολογία είχαν ένα ποσοστό μέσου όρου της τάξης του 43.84% (± 26.364), εκείνα με ανωμαλία ολόκληρου του πυρήνα μέσο όρο 35.84% (± 20.980) και εκείνα με ανωμαλία του μισού πυρήνα μέσο όρο 20.31% (± 16.734). Ανάλογα με την κατηγορία των δειγμάτων οι παραπάνω τιμές είχαν αντίστοιχα ως εξής: φλεγμονές 44% (± 26.820), 36.07% (± 21.975), 19.93% (± 14.262), χειρουργικές 33.81% (± 27.995), 42.45% (± 23.76), 23.72% (± 21.10) και κίρσοκήλες 57.375% (± 18.92), 26.375% (± 11.97), 16.25% (± 14.752) (πίνακας 4). Σύμφωνα με τα προηγούμενα παρατηρείται από την στατιστική ανάλυση ότι τα φυσιολογικά σπερματοζωάρια με την ειδική χρώση του Spermac Stain των χειρουργικών παθήσεων παρουσιάζουν μια οριακή διαφορά $p = 0.05$ με τα αντίστοιχα φυσιολογικά δείγματα της κατηγορίας της κίρσοκήλης.

α/α	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΦΛΕΓΜΟΝΕΣ	ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΑ	ΚΙΡΣΟΚΗΛΗ
1	Φυσιολογικά	44 (± 26.820)	33.81 (± 27.995)	57.37 (± 18.92)
2	Ανωμαλίες ολόκληρου πυρήνα	36.07 (± 21.975)	42.45 (± 23.76)	26.37 (± 11.97)
3	Ανωμαλίες μισού πυρήνα	19.93 (± 14.262)	23.72 (± 21.10)	16.25 (± 14.75)

Πίνακας : 4

Μορφολογική εικόνα σπερματοζωαρίων που παρατηρείται μετά από χρώση με το ειδικό χρωστικό τεστ Spermac Stain (ποσοστά επί % με τις τιμές \pm σταθερής απόκλισης).

Τέλος όσον αφορά την αξιολόγηση της χρώσης κατά Παπανικολάου των δειγμάτων σπέρματος μπορούμε να αναφέρουμε τα εξής: πρώτα από όλα η παρουσία λευκοκυττάρωσης ανέρχεται σε ένα ποσοστό της τάξης του 15.62% (± 20.75) στο σύνολο των δειγμάτων σπέρματος ενώ ανάλογα με την κατηγορία ήταν 24.23% (± 25.590) για τις φλεγμονώδεις περιπτώσεις, 13.18% (± 17.302) για τις χειρουργικές περιπτώσεις και για τις κίρσοκήλες ήταν της τάξης του 5% (± 9.071). Εδώ

πρέπει να αναφερθεί ότι σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση των παραμέτρων η παρουσία λευκοκυττάρωσης στα δείγματα της κατηγορίας των φλεγμονών έναντι των δειγμάτων της κατηγορίας των χειρουργικών περιστατικών έχουν μια σημαντική διαφορά $p = 0.04$. Η παρουσία γεννητικών κυττάρων επί της εκατοστιαίας αναλογίας των σπερματοζωαρίων έδειξε ότι 28.5% (± 23.908) ήταν ο μέσος όρος σπερματογόνιων, οι σπερματίδες είχαν μια παρουσία με ένα ποσοστό 24.59% (± 11.536) και τέλος τα ώριμα σπερματοζώαρια ένα ποσοστό 46.9% (± 28.511). Σύμφωνα με την κατηγορία που ανήκαν τα δείγματα οι παραπάνω τιμές αναλυτικά έχουν ως εξής: στις φλεγμονώδεις περιπτώσεις τα σπερματογόνια αντιπροσωπεύουν ένα ποσοστό 27.46% (± 24.978), οι σπερματίδες 22.54% (± 9.631), και τα ώριμα σπερματοζώαρια το 50% (± 29.359), όσον αφορά τις χειρουργικές περιπτώσεις αντίστοιχα είναι 34.81% (± 28.20), 26% (± 13.03), 39.18% (± 31.72) και για τις κισσοκήλες 20.25% (± 13.97), 26% (± 13.21) και 52.5% (± 23.176) (πίνακας 5).

α/α	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΦΛΕΓΜΩΝΕΣ	ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΑ	ΚΙΣΣΟΚΗΛΗ
1	Λευκά κύτταρα	24.23 (± 25.590)	13.18 (± 17.302)	5 (± 9.071)
2	Άωρες μορφές	50 (± 29.356)	60.81 (± 31.726)	47.5 (± 23.176)
3	Ωριμες μορφές	50 (± 29.359)	39.18 (± 31.72)	52.5 (± 23.176)

Πίνακας : 5

Ποσοστό παρουσίας λευκοκυττάρων, άωρων (σπερματογόνια / σπερματίδες) και ώριμων μορφών (σπερματοζώαρια) στα δείγματα σπέρματος μετά από χρώση κατά Παπανικολάου (ποσοστά επί % με τις τιμές \pm σταθερής απόκλισης).

Οι μορφολογικές αλλοιώσεις που εμφάνιζαν τα σπερματοζώαρια στο σύνολο των δειγμάτων σύμφωνα με την χρώση κατά Παπανικολάου είχε ως εξής: σπερματοζώαρια με φυσιολογική μορφολογία ένα ποσοστό μέσου όρου 28.75% (± 30.562), σπερματοζώαρια με ανωμαλία κεφαλής 22.06% (± 16.265), ανωμαλίες του αυχένα παρουσίαζαν σπερματοζώαρια με ένα ποσοστό το οποίο έφθανε την τιμή του 14.84% (± 10.408) και τέλος εκείνα με ανωμαλίες της ουράς ένα ποσοστό 34.34% (± 28.438). Η μορφολογία που παρουσίαζαν αναλυτικά κατά κατηγορία δειγμάτων

σύμφωνα πάντα κατά την χρώση Παπανικολάου είχε ως εξής: στις φλεγμονές τα φυσιολογικά σπερματοζωάρια ήταν 23.61% (\pm 26.534), εκείνα που παρουσίαζαν ανωμαλίες της κεφαλής 26.76% (\pm 18.956), με ανωμαλίες του αυχένα 14.69% (\pm 9.031) και με ανωμαλίες της ουράς 34.92% (\pm 28.099). Στις χειρουργικές παθήσεις τα φυσιολογικά ήταν 35.36% (\pm 36.64), με ανωμαλίες της κεφαλής 19.27% (\pm 14.33), με ανωμαλίες του αυχένα 17.54% (\pm 13.91) και τέλος με ανωμαλίες της ουράς 27.81% (\pm 27.54). Τέλος όσον αφορά την κατηγορία των δειγμάτων με κίρσοκλήλη, τα ποσοστά έχουν τις ακόλουθες τιμές: φυσιολογικά 28% (\pm 29.88), ανωμαλία της κεφαλής 18.25% (\pm 13.86), ανωμαλία του αυχένα 11.37% (\pm 6.16) και ανωμαλίες της ουράς των σπερματοζωαρίων 42.37% (\pm 31.66) (πίνακας 6).

α/α	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΦΛΕΓΜΩΝΕΣ	ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΑ	ΚΙΡΣΟΚΗΛΗ
1	Φυσιολογικά	23.61 (\pm 26.53)	35.36 (\pm 36.64)	28 (\pm 29.88)
2	Ανωμαλίες κεφαλής	26.76 (\pm 18.95)	19.27 (\pm 14.33)	18.25 (\pm 13.86)
3	Ανωμαλίες αυχένα	14.69 (\pm 9.031)	17.54 (\pm 13.91)	11.37 (\pm 6.16)
4	Ανωμαλίες ουράς	34.92 (\pm 28.09)	17.81 (\pm 27.54)	42.37 (\pm 31.66)

Πίνακας : 6

Ποσοστό παρουσίας φυσιολογικών σπερματοζωαρίων και αυτών με ανωμαλίες κεφαλής / αυχένα / ουράς μετά χρώση με την μέθοδο Παπανικολάου (ποσοστά επί % με τις τιμές \pm σταθερής απόκλισης).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η διαγνωστική και θεραπευτική προσέγγιση του προβλήματος της υπογονιμότητας έχει υποστεί τα τελευταία χρόνια ουσιώδεις αλλαγές. Από τη δεκαετία του 1980, το πρόβλημα της στειρότητας αντιμετωπίζεται με ορθολογικότερο τρόπο. Είναι ευνόητο, ότι η «ανδρική συμμετοχή» στο πρόβλημα της στειρότητας δεν είναι αμελητέα, καθιστώντας έτσι επιβεβλημένο τον έλεγχο και την θεραπεία της σε όλες τις περιπτώσεις στειρότητας.

Στον άνδρα, η διαγνωστική προσέγγιση πρέπει να αρχίζει με ένα βασικό κλινικοεργαστηριακό έλεγχο και τότε μόνο θα κριθεί, εάν το συγκεκριμένο άτομο θα υποβληθεί σε περαιτέρω λεπτομερή έλεγχο. Ο βασικός αυτός έλεγχος απαρτίζεται από την λήψη ιστορικού, την κλινική και ανδρολογική εξέταση, την εξέταση του σπέρματος και τον έλεγχο της δυνητικότητας των σπερματοζωαρίων να διέρχονται μέσω της τραχηλικής βλέννας. Ανάλογα με τα αποτελέσματα του ελέγχου αυτού θα κριθεί εάν πρέπει να πραγματοποιηθούν πιο ειδικές εξετάσεις που αφορούν τις λειτουργικές ιδιότητες των σπερματοζωαρίων, τον ενδοκρινολογικό έλεγχο, το χρωμοσωμικό έλεγχο, την κυτταρολογική εξέταση του προστατικού εκκρίματος, το μικροβιολογικό έλεγχο του σπέρματος και του προστατικού εκκρίματος, τον ακτινολογικό, τον ηχογραφικό και τον θερμογραφικό έλεγχο του ανδρικού γεννητικού συστήματος και τέλος θα ολοκληρωθεί με την βιοψία των όρχεων εάν αυτό κρίνεται απαραίτητο. Συγκεκριμένα, με την ιστολογική εξέταση, δύναται να αξιολογηθεί η επίδραση των βλαπτικών παραγόντων στα σπερματοζωάρια και στις άλλες ανατομικές δομές του γεννητικού συστήματος με επακόλουθο τις διάφορες ανωμαλίες (158, 159).

Οι πρώτες προσπάθειες για τη διάγνωση της υπογονιμότητας άρχισαν τη δεκαετία του '40 μέσω της βιοψίας των όρχεων. Οι πρώτοι διαγνωστικοί όροι είναι περιγραφικοί και εκτός από ορισμένους από αυτούς (φυσιολογικοί όρχεις, σωληνάκια που περιέχουν μόνο κύτταρα Sertoli, υαλινοποίηση των σωληναρίων), οι υπόλοιποι διευκρινίζουν

μόνον τον βαθμό της ανωμαλίας των σωληναρίων, που εκτιμάται υποκειμενικά από τον παθολογοανατόμο. Σε ποσοστό πάνω από το 50% των βιοψιών με υπογονιμότητα, η διάγνωση η οποία τίθεται είναι παύση της ωρίμανσης και υποσπερματογένεση. Υπάρχουν δύο μορφές παύσης ωρίμανσης: η σπερματογενετική στάση και η σπερματοκυτταρική (μειωτική) στάση. Η συχνότητα της σπερματογενετικής στάσης είναι αρκετά μικρή, γιατί δεν συμβαίνει στάση της ωρίμανσης στο επίπεδο κάποιου συγκεκριμένου τύπου βλαστικού κυττάρου, ενώ το ποσοστό της σπερματοκυτταρικής στάσης κυμαίνεται μεταξύ 12 - 32.1%. Οι διαφορετικές απόψεις όσον αφορά τα αποτελέσματα της βιοψίας, έστρεψαν σιγά - σιγά τους ερευνητές στην αναζήτηση άλλων νέων κριτηρίων, όπως η συσχέτιση της συγκέντρωσης των σπερματοζωαρίων στο σπέρμα με το μέγεθος των όρχεων και των επιπέδων της FSH (θυλακιοτρόπος ορμόνη) στον ορό. Ωστόσο, βρέθηκε ότι η FSH δεν είχε συσχέτιση με τον αριθμό των σπερματοζωαρίων στο σπέρμα, αλλά με τον αριθμό των σπερματογονίων στα σπερματικά σωληνάκια. Φυσιολογικοί αριθμοί σπερματοζωαρίων μπορούν να παραχθούν και από σχετικά μικρούς (σε διαστάσεις) όρχεις, ενώ μεγάλοι (σε διαστάσεις) όρχεις μπορεί να μην έχουν ικανοποιητική σπερματογένεση (160, 161, 162).

Οι ερευνητές υπογραμμίζουν αρχικά την αξία της μικρογονιμοποίησης στο να υπερβεί τα προβλήματα της ανδρικής υπογονιμότητας αλλά τονίζουν ότι πρέπει να διενεργείται διαβαθμισμένος έλεγχος του ανδρικού παράγοντα. Η μορφολογία των σπερματοζωαρίων σύμφωνα με αυστηρά κριτήρια έχει αποκτήσει παγκόσμια εμβέλεια αλλά οι ανωμαλίες που χαρακτηρίζουν τα σπερματοζωάρια έχουν μόνο κατά ένα τμήμα διευκρινισθεί πλήρως. Επισημαίνεται επίσης ότι οι μορφολογικές ανωμαλίες έχουν συσχετισθεί με διαταραχές στην προσκόλληση και διείσδυση στην διάφανη ζώνη του ωαρίου καθώς και με βιοχημικούς δείκτες όπως οι αντιδρώσες ρίζες οξυγόνου και αυξημένη δραστηριότητα της κρεατινικής φωσφατάσης. Πρόσφατες μελέτες προτείνουν ότι η συγκέντρωση της χρωματινής στα σπερματοζωάρια είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί σαν παράγοντας εκτίμησης της μορφολογίας του σπέρματος. Τόσο η πτωχή στοιβάση της χρωματινής όσο και βλάβες

στο DNA δυνατόν να συμμετέχουν στην αποτυχία αποσυμπύκνωσης των σπερματοζωαρίων μετά την μικρογονιμοποίηση και ως εκ τούτου σε αποτυχία της γονιμοποίησης. Για να αναδειχθούν αυτές οι βλάβες στα σπερματοζωάρια στο εργαστήριο έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες χρωστικές. Η ικανότητα σύνδεσης αυτών των χρωστικών φαίνεται να αντανακλά ανωμαλίες στην στοίβαση της χρωματίνης. Όσο πιο χαλαρή είναι η στοίβαση αυτής της χρωματίνης τόσο ευκολότερη είναι η προσκόλληση των ειδικών χρωστικών. Αντιθέτως ο ώριμος πυρήνας στα σπερματοζωάρια έχει χαμηλή χημική συγγένεια με τις διάφορες χρωστικές ουσίες. Όσο αυξάνονται οι φυσιολογικές μορφές στο σπέρμα τόσο μειώνεται ο αριθμός των σπερματοζωαρίων που είχαν βαφεί με τις χρωστικές (163, 164, 165).

Είναι γνωστό ότι η στοίβαση του DNA κατά την διάρκεια της διαφοροποίησης των σπερματίδων σε σπερματοζωάρια εμπλέκει την αντικατάσταση των ιστόνων σωματικού τύπου με βασικές πρωτεΐνες οι οποίες είναι πλούσιες σε περιεκτικότητα (εκτός των άλλων) σε αργινίνη και κυσεΐνη και ονομάζονται πρωταμίνες. Αυτή η τροποποίηση στον πυρήνα των σπερματοζωαρίων κατά την διάρκεια της σπερμιόγνεσης είναι πολύ σημαντική για την σωστή λειτουργία τους. Οι πρωταμίνες δεσμεύονται σε ένα κλώνο μοριακής αλυσίδας νουκλεϊκού οξέος με τέτοιο τρόπο ώστε να σχηματίζεται ένα συμπαγές πλέγμα μη υπέρ-συσπειρωμένου DNA. Όλη αυτή η δομή κάνει την χρωματίνη των σπερματοζωαρίων να είναι αδιάλυτη και αδρανής, συνεπώς πολύ διαφορετική από του πυρήνες όλων των άλλων κυτταρικών τύπων. Η σταθερή δομή των ώριμων σπερματοζωαρίων αποδίδεται σε αυτήν την πρωταμινοποίηση. Γενικά οι πρωταμίνες προστατεύουν το DNA των σπερματοζωαρίων έναντι των ενζυματικών επιθέσεων της νουκλεάσης και της πολυμεράσης, ακόμη και *in situ*. Έχει διερευνηθεί και αποδειχθεί ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ πυρηνικής αστάθειας των σπερματοζωαρίων και υπογονιμότητας και η σπουδαιότητα των πρωταμινών ή η συμπίκνωση της χρωματίνης των σπερματοζωαρίων όσον αφορά την ποιότητα του σπέρματος. Μελέτες οι οποίες πραγματοποιήθηκαν με την χρώση χρωμομυκίνης A₃ (CMA₃) σαν

δείκτης έλλειψης ή όχι των πρωταμινών των σπερματοζωαρίων και η συσχέτιση τους με τον αριθμό, κινητικότητα και μορφολογία των σπερματοζωαρίων απέδειξαν ότι σχετίζονται αντίστροφα με τον αριθμό ενώ φαίνεται ότι δεν σχετίζονται με την κινητικότητα. Γενικά όσο χαμηλότερο είναι το ποσοστό χρώσης με CMA_3 τόσο καλύτερη είναι η ποιότητα των σπερματοζωαρίων (160, 166, 167, 168).

Κατά την διέλευση τους από την επιδιδυμίδα παρατηρούνται ειδικοί σχηματισμοί τύπου S - S διασταυρωμένων γεφυρών μεταξύ υπολειμμάτων πρωταμίνης και κυστεΐνης διασφαλίζοντας μια σταθερή συμπύκνωση του συμπλέγματος των νουκλεοπρωτεΐνων. Η πυρηνική συμπύκνωση των σπερματοζωαρίων σταθεροποιείται αργότερα και με τον ψευδάργυρο, ο οποίος παρεμβάλλεται μεταξύ των ελεύθερων συμπλεγμάτων αμίνης της αργινίνης και ελεύθερων συμπλεγμάτων θειόλης της κυστεΐνης. Αποσυμπύκνωση της χρωματίνης και διόγκωση του πυρήνα συμβαίνει όταν το σπερματοζωάριο διεισδύει το κυτταρόπλασμα του ωαρίου, όπου είναι απαραίτητη η συμπαγής χρωματίνη για την επιτυχή διεισδυση όλων των περιβλημάτων του ωαρίου. Ανωμαλίες όσον αφορά την ωριμότητα του πυρήνα των σπερματοζωαρίων έχουν εμπλακεί στην ανδρική υπογονιμότητα και διαταραχές της συμπύκνωσης της χρωματίνης είναι διασυνδεδεμένες στη εμμονή των σωματικών ιστών σε εκσπερματούμενα σπερματοζωάρια (169, 170, 171, 172).

Η αποσυμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης των σπερματοζωαρίων παρατηρείται όταν το σπερματοζωάριο διεισδύει το ωάριο και υπάρχει αποσύνθεση των μεμβρανών των κεφαλών, απώλεια του πυρηνικού ψευδαργύρου και μοριακός διαχωρισμός των S - S γεφυρών μεταξύ της πρωτεϊνικής χρωματίνης. Η συσχέτιση μεταξύ πυρηνικής αστάθειας και χαμηλού ψευδαργύρου της χρωματίνης έχει καλά τεκμηριωθεί, ιδίως όσον αφορά υπογόνιμους άνδρες οι οποίοι πάσχουν από φλεγμονές του προστάτη αδένα. Για να αξιολογηθούν κατά πόσο οι αλλαγές της σύνθεσης των βασικών πυρηνικών πρωτεϊνών που αλληλεπιδρούν με το DNA είναι υπεύθυνες για την μεταβολή της διαδικασίας της πυρηνικής συμπύκνωσης, έχει διερευνηθεί και

αξιολογηθεί η εμμονή ή όχι των ιστόνων, πλούσιων σε λυσίνη, χρησιμοποιώντας την ειδική χρώση μπλε της ανιλίνης των εκσπερματούμενων σπερματοζωαρίων από υπογόνιμους άνδρες με φυσιολογική λειτουργία του προστάτη αδένα. Η συμπύκνωση της χρωματινής κατά την διάρκεια της σπερμιογένεσης διαπλάθει τις κεφαλές των σπερματοζωαρίων. Δεν αποτελεί έκπληξη λοιπόν η παρατήρηση μιας ισχυρής συσχέτισης μεταξύ ανωμαλιών των κεφαλών των σπερματοζωαρίων, χρώση με μπλε της ανιλίνης και SDS (Sodium Dodecyl Sulphate) αποσυμπυκνωμένων κυττάρων (173, 174, 175).

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκαν δείγματα σπέρματος από άνδρες τα οποία είχαν ληφθεί στο χρονικό διάστημα κατά το οποίο αυτοί νόσησαν από κάποια πάθηση του γεννητικού τους συστήματος. Οι παθήσεις όπως ήδη έχουμε αναφέρει στο γενικό μέρος θα μπορούσαν να διακριθούν σε πρωτοπαθείς όταν το αίτιο βασίζεται στον ίδιο τον όρχι και δευτεροπαθείς όταν το αίτιο επηρεάζει έμμεσα την ορχική λειτουργία. Αίτια τα οποία πρωτοπαθώς ή δευτεροπαθώς μπορούν να επηρεάσουν δυσμενώς την ορχική λειτουργία είναι: η κρυπορχία, η κισσοκήλη, οι διάφορες φλεγμονές, η συστροφή ή τα τραύματα των όρχεων, οι χρόνιες παθήσεις, οι γονιδιακές και χρωματοσωμικές ανωμαλίες, ορισμένα φάρμακα ή ακτινοβολίες και τέλος ιδιοπαθή αίτια.

Το σπερματικό πλάσμα, το οποίο όπως είναι γνωστό, προέρχεται από τους παραγεννητικούς αδένες, μπορεί να αξιολογηθεί είτε με τον έλεγχο φυσικών χαρακτήρων τον σπέρματος, όπως είναι ο όγκος, η ρευστοποίηση και το ιξώδες, είτε με τη βιοχημική ανάλυση. Τα σπερματοζωάρια, το κύριο και σπουδαιότερο συστατικό του σπέρματος, από την άλλη μεριά αξιολογούνται αρχικά με την συσχέτιση για τη δυνητική γονιμότητα του άνδρα η οποία θα στηριχθεί στον αριθμό τους καθώς και στην κινητικότητα, τη βιωσιμότητα και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν αυτά στο σπέρμα. Στη συνέχεια ελέγχεται η ικανότητα τους να διέρχονται *in vivo* και *in vitro* μέσω της τραχηλικής βλέννας ως και η ύπαρξη τυχόν συγκολλήσεων μεταξύ των σπερματοζωαρίων. Ανάλογα με τα ευρήματα της προαναφερθείσας αξιολόγησης των σπερματοζωαρίων θα κριθεί, εάν επιβάλλεται να γίνει

περαιτέρω έλεγχος άλλων λειτουργικών και μορφολογικών ιδιοτήτων αυτών όπως: α) δοκιμασίες δια των οποίων ελέγχεται η δομική και λειτουργική ακεραιότητα της χρωματινης του πυρήνα των σπερματοζωαρίων, β) λειτουργικές ιδιότητες των σπερματοζωαρίων που τα καθιστούν ικανά να εισέρχονται στο ωάριο και να το γονιμοποιούν, γ) η αντίδραση των σπερματοζωαρίων μετά την τοποθέτηση σε υποσμωτικό διάλυμα και δ) η μέτρηση των ελεύθερων ενεργών ενώσεων του O₂ στο σπέρμα (176, 177).

Ο έλεγχος της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων στα δείγματα σπέρματος των ανδρών που μελετήθηκαν έγινε σε επιχρίσματα σπέρματος τα οποία χρώσθηκαν με την μέθοδο κατά Παπανικολάου και με την μέθοδο ειδικού χρωστικού τεστ Spermac Stain. Για τη σωστή εκτίμηση της μορφολογίας πρέπει να ελέγχεται ολόκληρο το σπερματοζωάριο, δηλαδή η κεφαλή, ο αυχέννας και η ουρά του. Για να είναι αποδεκτή επομένως οποιαδήποτε χρωστική τεχνική, πρέπει να χρωματίζει και τα τρία αυτά τμήματα του σπερματοζωαρίου. Μολονότι υπάρχουν αρκετές χρωστικές τεχνικές, οι περισσότεροι ερευνητές χρησιμοποιούν τη μέθοδο Παπανικολάου, η οποία εκπληρώνει αυτές τις προϋποθέσεις. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την δυνατότητα που παρέχει στον διαχωρισμό των λευκών αιμοσφαιρίων από τις άωρες μορφές της σπερματογένεσης, καθιστά τη μέθοδο Παπανικολάου πολύτιμη στον έλεγχο του σπέρματος. Από κάθε επιχρίσμα σπέρματος άνδρα πρέπει να εκτιμούνται 100 σπερματοζωάρια και αυτός ο αριθμός επιλέχθηκε και στην παρούσα μελέτη επειδή θεωρείται ότι είναι αντιπροσωπευτικός ενός δείγματος σπέρματος. Στα επιχρίσματα του σπέρματος που χρωματίσθηκαν κατά Παπανικολάου, ο πυρήνας (κεφαλή του σπερματοζωαρίου) βάφεται βαθύς ιώδης, ενώ το πρωτόπλασμα (πρωτοπλασματικό υπόλειμμα του σπερματοζωαρίου, άωρες μορφές της σπερματογένεσης) βάφεται ρόδινο. Η ρόδινη χροιά, μεγέθους κεφαλής καρφίτσας, που παρατηρήθηκε στη θέση της κεφαλής (σε κάποια δείγματα σπέρματος), δείχνει ότι τα σπερματοζωάρια αυτά δεν παρουσιάζουν πυρηνικό αλλά πρωτοπλασματικό υλικό και επομένως δεν πρέπει να θεωρούνται ως σπερματοζωάρια με μικρή κεφαλή αλλά ως

απύρηννα ή ακέφαλα σπερματοζωάρια. Ενώ σύμφωνα με την χρώση του ειδικού χρωστικού τεστ Spermac Stain το ακρόσωμα βάφεται σκούρο πράσινο, ο πυρήνας σκούρο κόκκινο, ο ισημερινός ανοιχτό πράσινο και η ενδιάμεση περιοχή με την ουρά πράσινο (178, 179).

Ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης αποτελεί η ανεύρεση πολύ υψηλότερου συνολικού αριθμού μορφολογικών ανωμαλιών των σπερματοζωαρίων από την εκατοστιαία αναλογία των παθολογικών μορφών στους άνδρες που μελετήθηκαν. Όσο μάλιστα υψηλότερη ήταν η εκατοστιαία αναλογία των παθολογικών μορφών, τόσο μεγαλύτερο βρίσκονταν το σύνολο των μορφολογικών ανωμαλιών των σπερματοζωαρίων. Είναι γνωστό ότι κάθε παθολογικό σπερματοζωάριο μπορεί να παρουσιάζει περισσότερες από μια μορφολογικές ανωμαλίες. Το σπερματοζωάριο αυτό αρχικά καταγράφεται ως παθολογικό, για την εκτίμηση της εκατοστιαίας αναλογίας φυσιολογικών και παθολογικών και στη συνέχεια κάθε ανωμαλία του καταγράφεται ξεχωριστά, για την εκτίμηση της εκατοστιαίας αναλογίας του είδους της μορφολογικής ανωμαλίας. Η τακτική αυτή εφαρμόζεται επειδή μεγαλύτερη σημασία για τη γονιμότητα έχει η εκατοστιαία αναλογία του είδους της μορφολογικής ανωμαλίας και όχι ο αριθμός των παθολογικών μορφών. Ακόμη είναι αξιοπερίεργο ότι, ενώ παρατηρήθηκαν ουρές δεν βρέθηκαν μεμονωμένες κεφαλές στα επιχρίσματα του σπέρματος. Οι κεφαλές των σπερματοζωαρίων πιθανόν φαγοκυτταρώνονται από τα κύτταρα Sertoli, από τα κύτταρα της επιδιδυμίδας ή από τα μακροφάγα του αυλού των σπερματικών σωληναρίων, διεργασία που δεν γίνεται για τις ουρές των σπερματοζωαρίων (180, 181).

Η μορφογένεση των σπερματοζωαρίων με ανωμαλίες της κεφαλής δεν είναι απόλυτα γνωστή. Έχει υποστηρικθεί η άποψη ότι τα απύρηννα σπερματοζωάρια είναι ορχικής προέλευσης και ότι οι κεφαλές χάνονται κατά τη διάρκεια των τελευταίων σταδίων της ωρίμανσης των σπερματιδίων. Μελέτες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σε άωρες σπερματίδες ανδρών με απύρηννα σπερματοζωάρια έδειξαν ανεξάρτητη ανώμαλη ανάπτυξη της κεφαλής και της ουράς, εύρημα που ενισχύει τη θέση ότι ο αποχωρισμός των δύο αυτών τμημάτων του σπερματοζωαρίου

γίνεται στα τελικά στάδια της ωρίμανσης των σπερματιδών. Η βλάβη αυτή, γενετικής πιθανόν προέλευσης, θα μπορούσε να οφείλεται είτε σε μεταβολή του μηχανισμού της μετακίνησης και της τοποθέτησης του κεφαλικού τμήματος της καταβολής της ουράς στον κάτω πόλο του πυρήνα ή σε βλάβη της κεφαλής και συγκεκριμένα σε διαταραχή της ανάπτυξης του κολπώματος εμφύτευσης και του βασικού δίσκου, έτσι ώστε να μην μπορεί να υποδεχθεί το συνδετικό τμήμα του σπερματοζωαρίου (182, 183).

Άλλο ένα ενδιαφέρον εύρημα αυτής της μελέτης ήταν ότι η εκατοστιαία αναλογία των σπερματοζωαρίων με φυσιολογική μορφολογία και εκείνη των κινητών σπερματοζωαρίων δεν παρουσίαζε σημαντικές διαφορές. Η μορφολογία επιπλέον αποτελούσε (είτε μόνη της είτε σε συνδυασμό με τις άλλες παραμέτρους) την κατεξοχήν παθολογική κύρια παράμετρο του σπέρματος, με δεύτερη την κινητικότητα και τελευταία τον αριθμό των σπερματοζωαρίων. Τα ευρήματα αυτά στηρίζουν την άποψη ότι αρκετά σπερματοζωάρια με παθολογική μορφολογία εμφανίζουν κινητικότητα και ότι η μορφολογία των σπερματοζωαρίων αποτελεί την πιο ευαίσθητη από τις κύριες παραμέτρους του σπέρματος στην βλαπτική επίδραση των διαφόρων παραγόντων που επηρεάζουν την σπερματογένεση. Οι διάφοροι, δηλαδή βλαπτικοί παράγοντες που επηρεάζουν την σπερματογένεση επιδρούν δυσμενέστερα στις παραμέτρους εκείνες που έχουν μεγαλύτερη σημασία για την γονιμότητα του σπέρματος. Το υψηλότερο ποσοστό των μορφολογικών ανωμαλιών στα δείγματα σπέρματος αφορούσε την ουρά των σπερματοζωαρίων και ακολουθούσαν τα ποσοστά των μορφολογικών ανωμαλιών του αυχένα και της κεφαλής. Είναι γνωστό ότι η μορφολογία της κεφαλής των σπερματοζωαρίων διαμορφώνεται στους όρχεις, ενώ η μορφολογία του αυχένα και της ουράς μπορεί να τροποποιηθεί όταν τα σπερματοζωάρια εγκαταλείψουν τους όρχεις. Έτσι, υπό την επίδραση των διαφόρων βλαπτικών παραγόντων που επηρεάζουν την σπερματογένεση, οι όρχεις μεταβάλλουν το σχήμα της κεφαλής των σπερματοζωαρίων, από ωοειδές σε επιμηκυσμένο ακόμη και άμορφο (184, 185, 186).

Επιβεβαίωση όλων των παραπάνω ανωμαλιών που εγκαθίστανται στο γεννητικό σύστημα του άνδρα κατά την διάρκεια ή μετά από παθολογικές καταστάσεις και αφορούν την παραγωγή, ανάπτυξη και μεταφορά των σπερματοζωαρίων, ώστε να είναι δυνητικά ώριμα – ικανά – και χωρίς μορφολογικές ανωμαλίες για την γονιμοποίηση του ωαρίου αποτελεί η ιστολογική εξέταση. Σύμφωνα λοιπόν με την Διεθνή Βιβλιογραφία επί του θέματος, σε ιστολογικές εξετάσεις διαφόρων τμημάτων του γεννητικού συστήματος, έχει αποδειχθεί ότι οι διάφορες παθολογικές καταστάσεις των όρχεων μπορούν να προκαλέσουν: (187, 188, 189)

I. Σωληναριακή μετά-φλεγμονώδη υαλινοποίηση

Πολλές λοιμώξεις του όρχι προκαλούν μη αναστρέψιμες βλάβες στο σπερματικό επιθήλιο. Σε βακτηριακές λοιμώξεις, η συμμετοχή της επιδιδυμίδας οδηγεί σε αποφρακτική αζωοσπερμία. Σε λοιμώξεις από ιούς, ο όρχις προσβάλλεται συχνά χωρίς συμπτώματα. Δύο τύποι ιογενούς ορχίτιδας προκαλούν συχνά υπογονιμότητα: ορχίτιδα από παρωτίτιδα και από Coxsackie τύπου Β. Άλλοι τύποι σωληναριακής υαλινοποίησης είναι η δυσγενετική, ορμονικής ανεπάρκειας, ισχαιμική, μετά-αποφρακτική, επίδρασης φυσικών ή χημικών παραγόντων και αυτοάνοση (190).

II. Διάχυτες βλάβες στη σπερματογένεση

1) βλάβες στη βασική μεμβράνη των σπερματικών σωληναρίων. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει όλους τους υπογόνιμους όρχεις με φυσιολογικούς αριθμούς σπερματογονίων, αλλά μειωμένους αριθμούς άλλων τύπων βλαστικών κυττάρων, 2) βλάβες στο ενδοαυλικό διαμέρισμα των σπερματικών σωληναρίων. Ταξινομούνται ανάλογα με τον πιο συχνό τύπο των βλαστικών κυττάρων που απορρίπτονται: νεαρές σπερματίδες, όψιμα αρχέγονα σπερματοκύτταρα, πρώιμα αρχέγονα σπερματοκύτταρα, 3) ενδο-ορχική απόφραξη του ορχικού δικτύου ή των σπερματικών σωληναρίων η οποία προκαλεί σοβαρή ολιγοσπερμία και αζωοσπερμία (απόφραξη του ορχικού δικτύου και απόφραξη των σπερματικών σωληναρίων), 4) βλάβες στη βασική μεμβράνη και στο ενδοαυλικό διαμέρισμα των σπερματικών σωληναρίων (υποσπερματογένεση και

στάση της ωρίμανσης των σπερματογονίων) (191).

III. Εστιακές βλάβες στη σπερματογένεση (μεικτή ατροφία)

Η μεικτή ατροφία είναι περιγραφικός όρος για τη συνύπαρξη στον ίδιο όρχι, σωληναρίων που περιέχουν μόνο κύτταρα Sertoli και σωληναρίων με τέλεια ή ατελή σπερματογένεση. Η μεικτή ατροφία παρατηρείται σε κρυπορχικούς άνδρες, τόσο στον κρυπόρχι όσο και στον αντίθετο όρχι (ακόμη και αν είχε γίνει ορχεοπηξία στην παιδική ηλικία), επίσης σε άνδρες με ανασπώμενους όρχεις και σε ασθενείς με χρωμοσωμιακές ανωμαλίες, όπως σύνδρομο Down, σε καρυότυπο 47/XY, 46/XX, σε γιγαντιαίο «Y» χρωμόσωμα και σε σύνδρομο Klinefelter με χρωμοσωμιακό μωσαϊκό. Η μεικτή ατροφία έχει αναφερθεί επίσης, σε άνδρες με μερική έλλειψη ευαισθησίας των υποδοχέων στα ανδρογόνα και σε μερικές περιπτώσεις άρρενος ψευδοερμαφροδιτισμού. Η δευτεροπαθής μεικτή ατροφία συμβαίνει μερικές φορές σε ασθενείς με κισσοκήλη και μετά από χημειοθεραπεία (192, 193).

IV. Ανωμαλίες των βλαστικών κυττάρων

1) ανωμαλίες της κεφαλής των σπερματοζωαρίων και 2) ανωμαλίες της ουράς των σπερματοζωαρίων (194, 195).

Προς το παρόν δεν είναι ακόμη πλήρως διευκρινισμένο ποιοι τύποι από τις διάφορες παθολογικές καταστάσεις των όρχεων επηρεάζουν την πυρηνική δομή των σπερματοζωαρίων. Γι' αυτόν τον λόγο προσπαθήσαμε να αξιολογήσουμε αυτήν την κατάσταση σε άνδρες με ιστορικό από διάφορες παθολογικές καταστάσεις των όρχεων όπως αναφέρθηκε στο γενικό μέρος αυτής της μελέτης (κισσοκήλη, κρυπορχία, ορχίτιδα και άλλες). Το υψηλότερο ποσοστό ανωμαλιών παρατηρήθηκε σε ασθενείς οι οποίοι είχαν ιστορικό κρυπορχίας και σύμφωνα και με προγενέστερες διεθνείς μελέτες επί του θέματος, εμφανίζουν ανωμαλίες της υπερδομής του πυρήνα μειώνοντας κατά αυτόν τον τρόπο την αντοχή της χρωματίνης των σπερματοζωαρίων στην «in situ» αποσύνθεση. Πιστεύεται ότι η παραμονή του όρχι στην κοιλιακή κοιλότητα προκαλεί αυτές τις ορχικές βλάβες όπου αργότερα εκδηλώνονται με υπογονιμότητα και στειρότητα. Μεγάλο ποσοστό σε ανωμαλίες του πυρήνα των σπερματοζωαρίων παρατηρήθηκε επίσης και

στους άνδρες οι οποίοι εμφάνιζαν κισσοκήλη. Αν και ο ακριβής μηχανισμός με το οποίον εν δυνάμει προκαλούνται οι βλάβες εξ αιτίας της κισσοκήλης επί της σπερματογένεσης δεν είναι ξεκάθαρος, ιστολογικές μελέτες έχουν αποδείξει μια αποδιοργάνωση της σπερματογένεσης με στάση της ωρίμανσης των σπερματίδων ή στάση της ωρίμανσης των αρχικών σπερματοκυττάρων των σπερματίδων σε κάποιο στάδιο της διαφοροποίησης των. Δεν εκπλήσσει λοιπόν το γεγονός ότι ένα αυξημένο ποσοστό ανωμαλιών του πυρήνα των σπερματοζωαρίων παρατηρείται σε αυτούς τους άνδρες. Τέλος όσον αφορά τους άνδρες με ιστορικό ορχίτιδας ή άλλης φλεγμονώδους κατάστασης του γεννητικού συστήματος δεν παρατηρήθηκε αύξηση του ποσοστού των σπερματοζωαρίων με ανωμαλίες του πυρήνα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι η οξεία φάση της νόσου προκαλεί μεν βλάβη με την ανάπτυξη σωληναριακής ίνωσης αλλά δεν βλάπτει την διαδικασία της σπερματογένεσης στα υπόλοιπα σπερματικά σωληνάκια (196, 197, 198).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης τα συμπεράσματα που εξαγάγουμε είναι τα εξής:

- υπογόνιμοι άνδρες, οι οποίοι νοσούν από διάφορες παθολογικές καταστάσεις των όρχεων, εμφανίζουν υψηλότερο ποσοστό από σπερματοζωάρια με πυρηνική αστάθεια και μορφολογικές αλλοιώσεις
- αυτή η μεταβολή μπορεί να συσχετίζεται με ελαττωματική αντικατάσταση των ιστόνων από ειδικές πυρηνικές πρωτεΐνες σπερματοζωαρίων, τις πρωταμίνες
- η πυρηνική αστάθεια των σπερματοκυττάρων συσχετίζεται με ανωμαλίες της κεφαλής, του αυχένα και της ουράς
- το ποσοστό των ανωμαλιών του πυρήνα των σπερματοζωαρίων διαφέρει στο σύνολο των ανδρών οι οποίοι πάσχουν από διάφορες παθολογικές καταστάσεις των όρχεων, και το οποίο είναι υψηλότερο σ' αυτούς που έχουν ιστορικό κρυψορχίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κατά το χρονικό διάστημα από Ιανουάριο 1996 έως Απρίλιο 2000. Ο σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της χρωματινής των σπερματοζωαρίων σε παθολογικές καταστάσεις των όρχεων. Τα δείγματα προήλθαν από 64 ασθενείς οι οποίοι παρακολουθούνταν στην Ουρολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και οι οποίοι είχαν νοσήσει στο πρόσφατο ή στο απώτερο παρελθόν, στη διάρκεια της μελέτης από κάποια πάθηση του γεννητικού συστήματος τους. Συγκεκριμένα, οι παθήσεις οι οποίες συμπεριλήφθηκαν χωρίσθηκαν σε τρεις κατηγορίες: χειρουργικές παθήσεις (κρυφορχία, απόστημα οσχέου με δερματικά συρίγγια, καρκίνος του όρχι επώδυνο και μη μόρφωμα), φλεγμονώδεις (οξεία ορχίτιδα από αερόβια - αναερόβια - γοννόκοκκο, ορχίτιδα από παρωτίτιδα, ορχεοεπιδιδυμίτιδα, επιδιδυμίτιδα, οξεία και χρόνια προστατίτιδα, ουρηθρίτιδα) και ασθενείς οι οποίοι εμφάνιζαν κίρσοκλήλη. Μετά τη συλλογή του σπέρματος και τον κλασικό έλεγχο του σπερμοδιαγράμματος πραγματοποιήθηκε μονιμοποίηση των σπερματοζωαρίων και στην συνέχεια ακολούθησε εκτίμηση της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων. Η μορφολογία των σπερματοζωαρίων εκτιμήθηκε με δυο τρόπους: α) χρώση με το ειδικό χρωστικό τεστ Spermac Stain™ (Sint - Martens - Latem, Belgium) και β) με την μέθοδο χρώσης κατά Παπανικολάου. Από κάθε επίκρισμα σπέρματος ελέγχθηκαν 100 σπερματοζωάρια και η κατάταξη των μορφολογικών ανωμαλιών έγινε σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του Παγκοσμίου Οργανισμού Υγείας. Οι διάφορες μορφολογικές αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν με την χρώση του ειδικού χρωστικού τεστ Spermac Stain™ (Sint - Martens - Latem, Belgium) ανέδειξαν ότι οι ανωμαλίες που αφορούσαν ολόκληρο τον πυρήνα των σπερματοζωαρίων ή το ήμισυ αυτού ανέρχονται σε ένα ποσοστό της τάξης του 56.15% με μια υπεροχή

των χειρουργικών παθήσεων (66.17%) και λιγότερο των περιστατικών με κισσοκήλη (42.62%). Σύμφωνα με την χρώση κατά Παπανικολάου όσον αφορά στις μορφολογικές ανωμαλίες που παρουσίαζαν τα σπερματοζώαρια συνολικά στα δείγματα προς μελέτη βρέθηκε ότι ένα ποσοστό 28.75% ήταν χωρίς την παρουσία καμίας ανωμαλίας ενώ το ποσοστό της τάξης του 71.24% περιείχε ανωμαλίες της κεφαλής, του αυχένα και ουράς (22.06%, 14.84% και 34.34% αντίστοιχα). Οι ανωμαλίες της ουράς υπερείχαν σε όλες τις κατηγορίες των δειγμάτων, ακολουθούσαν αυτές που αφορούσαν την κεφαλή και τέλος του αυχένα. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με την κατηγορία των δειγμάτων στις φλεγμονές, τα φυσιολογικά σπερματοζώαρια ήταν της τάξης του 23.61% και αυτά που παρουσίαζαν ανωμαλίες ήταν το 76.37% (ανωμαλίες κεφαλής 26.27%, ανωμαλίες αυχένα 14.69%, ανωμαλίες ουράς 34.92%). Στις χειρουργικές παθήσεις τα φυσιολογικά ήταν σε ποσοστό 35.36% και τα μη φυσιολογικά 64.62% (κεφαλή 19.27%, αυχένος 17.54%, και ουρά 27.81%). Όσον αφορά στα περιστατικά κισσοκήλης αυτά που παρουσίαζαν μια εικόνα φυσιολογική ανέρχονταν σε ποσοστό της τάξης του 28% και αυτά με κάποια ανωμαλία σε 71.99% (ανωμαλίες κεφαλής 18.25%, αυχένα 11.37% και ουράς 42.37%). Συμπερασματικά μπορούμε να καταλήξουμε ότι οι διάφορες παθολογικές καταστάσεις στις οποίες μπορεί να επέλθουν οι όρχεις σαφώς επηρεάζουν την μορφολογία των σπερματοζωαρίων και προκαλούν κυρίως ανωμαλίες στα διάφορα στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης τους όπως και ανωμαλίες στην ανατομική τους δομή και κατασκευή. Η πιθανή υπογονιμότητα αυτών των ανδρών θα μπορούσε να αποδοθεί στο αίτιο που οδηγεί στην εμφάνιση της μορφολογικής ανωμαλίας την οποία εμφανίζουν τα σπερματοζώαρια αυτών των ανδρών.

SUMMARY

“Study of the chromatin of the spermatozoa in pathological situations of the testicles”

Dimitrios Baltogiannis, Doctoral Thesis, 2000.

The present study has taken place in the Department of the Assisted Reproduction of the Obstetrics and Gynecology Clinic of the University of Ioannina, Greece from January 1996 to April 2000. The purpose of this study was to examine the chromatin of spermatozoa in the different pathological situations of the testicles. The samples derived from 64 men who were followed from the Urological Clinic of the University of Ioannina and they were affected in the past during this study from some disease of their reproductive system. In particular the diseases included in this study we have divided in three categories: surgical diseases (cryptorchidism, abscess of scrotum with fistula dermatitis, tumor of testicle, masses with painful or no), infections (acute orchitis, from anaerobe - aerobes - gonococcus, parotite orchitis, orcheoepididymitis, epididymitis, acute and chronic prostatitis, urethritis) and varicocele. After the collection of the sperm and the typical examination of the spermodiagram stabilization of the spermatozoa was made and then the estimation of the morphology of the spermatozoa was followed. The morphology of the spermatozoa was estimated with two methods: a) stain with the special test Spermac Stain TM (Sint - Martens - Latem, Belgium), b) with the method of Papanikolaous stain. From every graze of sperma 100 spermatozoa have been examined and the classification has been made according to the instructions of the Universal Organization of Health. The morphological alterations that were observed with the special test Spermac Stain TM (Sint - Martens - Latem, Belgium) have indicated that the anomalies that interest the whole nucleus of the

spermatozoa or the half of this have a 56.15% with a predominance of the surgical diseases (66.17%) over the varicocele with a percentage of 42.62%. According to the stain of Papanikolaou the spermatozoa in the complex of the samples presented a percentage of 28.75% without any anomaly while 71.24% presented anomalies of the head, of the neck and of the tail (22.06%, 14.84%, 34.34% respectively). The anomalies of the tail predominated in all the categories of the samples followed by the anomalies of the head and the anomalies of the neck. More particularly according to the category of the samples in the infections the normal spermatozoa were of a percentage of 23.61% and those with anomalies of 76.37% (anomalies of the head 26.27%, anomalies of the neck 14.69% and of the tail 34.92%). In the surgical diseases the percentage of the normal spermatozoa was 35.36% and the percentage of the abnormal spermatozoa was of 64.62% (19.27% head, 17.54% neck, tail 27.81%). The samples of varicocele have presented a percentage of normal spermatozoa of 28% and a percentage of abnormal spermatozoa of 71.99% (18.25% head, 11.37% neck, 42.37% tail). In conclusion the various pathological situations of the testicles certainly influence the morphology of the spermatozoa and especially produce anomalies in the various stages of their evolution and maturation as also in their anatomical structure and form. The possible infertility of these men could be arised from the cause of the development of the morphological anomalies that present the spermatozoa of these men.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hargreave T, Ghosh C. Male fertility disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998, 27(4):765-782.
2. Suckharoen N, Keith J, Irvine DS, Aitken RJ. Predicting the fertilizing potential of human sperm suspensions in vitro: importance of sperm morphology and leucocyte contamination. *Fertil Steril* 1995, 63:1293-1300.
3. Sofikitis NV, Miyagawa I, Zavos PM, Toda T, Iino A, Terakawa N. Confocal scanning laser microscopy of morphometric human sperm parameters: correlation with acrosin profiles and fertilizing capacity. *Fertil Steril.* 1994, 62(2):376-386.
4. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, de Angelis P, Claussen OP. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod.* 1999, 14(4):1039-1049.
5. Kruger TF, Lacquet FA, Sanchez Sarmiento CA, Menkveld R, Ozgur K, Lombard CJ, Franken DR. A prospective study of the predictive value of normal sperm morphology as evaluated by computer (IVOS). *Fertil Steril* 1996, 66:285-291.
6. Hargreave TB, Ghosh C, Cooke H. Genetics of male infertility. *Mol Cell Endocrinol.* 1998, 145(1-2):143-151.
7. Aziz N, Buchan I, Taylor C, Kingslaud CR, Lewis-Jones I. The sperm deformity index: a reliable predictor of the outcome of oocyte fertilization in vitro. *Fertil Steril* 1996, 66:1000-1006.
8. Hiort O, Horter T, Schulze W, Kremke B, Sinnecker GH. Male infertility and increased risk of diseases in future generations. *Lancet.* 1999, 354(9193):1907-1908.
9. Balboni GC. *Human Anatomy.* 2nd ed, Ermes, Milan Italy 1982:vol. II. 549-624.

10. Liu DY, Baker HWG. The proportion of human sperm with poor morphology but normal intact acrosomes detected with pisum sativum agglutinin correlates with fertilization in vitro. *Fertil Steril* 1988, 50:288-293.
11. Oehninger S, Acosta AA, Morshedi M, Veek L, Swanson RJ, Simmons K, Rosenwaks Z. Corrective measures and pregnancy outcome in vitro fertilization in patients with severe sperm morphology abnormalities. *Fertile Steril* 1988, 50:283-287.
12. W. H. O. Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. In Besey MA, Eliason R, Galleges AJ, Moghissi KS, Paulsen CA, Prasad MRN eds. Press Concern Singapore 1980:7-43.
13. Wilson JD, George FW, Griffin JE. The hormonal control of sexual development. *Science* 1981, 211(4488):1278-1284.
14. Rajfer J, Walsh PL. Testicular descent. *Birth Defects* 1977, 13(2):107-122.
15. Page DC. The sex-determining region of the human Y chromosome encodes a finger protein. *Cell* 1987, 51(6):1091-1094.
16. Sucheston ME, Cannon MS. Nomenclature of a developmental zone of the adrenal cortex of mammals. *Gen Comp Endocrinol* 1968, 11(3):603-607.
17. Wensing CJG, Colenbrander B. Normal and Abnormal testicular Descent. *Oxf Rev Reprod Biol* 1986, 8:130-164.
18. Raiffer J, Walsh PC. Testicular descent: Normal and abnormal. *Urol Clin North Am* 1978, 5(1):223-225.
19. Santesteban A. Cryptorchidism in the newborn. *Pediatrics* 1973, 51(2):310-311.
20. Lemeh CN. A study of the development and structural relationships of the testis and gubernaculum. *Surg Gynecol Obstet* 1960, 110:164.

21. McMurrich JP. The development of the human body. A manual of human embryology, 7th ed. P. Blakiston's Son and Co, Philadelphia 1923:374-376.
22. Hunter JA. A description of the situation of the testis in fetus with its descent into the scrotum in observations on certain parts of the animal economy, John J Haswell and Co, New Orleans 1841:42-50.
23. Bergin WC, Gier HT, Marison GB, Coffman GR. A development concept of equine cryptorchidism. *Biol Reprod* 1970, 3(1):82-92.
24. Attah AA, Hutson JM. The role of infra-abdominal pressure in cryptorchidism. *J Urol* 1993, 150(3):994-996.
25. Hadziselimovic F. Pathogenesis of cryptorchidism. *Horm Res* 1997, 8(2):76-83.
26. Engle ET. Experimentally induced descent of the testis in the Maraca monkey by hormones from the anterior pituitary and pregnancy urine *Endocrinology* 1932, 16:513.
27. Hadziselimovic F, Thommen L, Girard J, Herzog B. The significance of postnatal gonadotropin for testicular development in normal and cryptorchid testes. *J Urol* 1986, 136(1):274-276.
28. De Muinck Keizer-Scharama SMPF, Hazebroek FWJ, Matroos AW, Molenaar JC. Double blind, placebo-controlled study of luteinizing hormone-releasing hormone nasal spray in treatment in undescended testes. *Lancet* 1986, 1:876-879.
29. George FW, Peterson KG. Partial characterization of the androgen receptor of the newborn rat gubernaculum. *Biol Reprod* 1988, 39(3):536-539.
30. Pensa A, Favaro G, Palumbi G, Cattaneo L. *Human Anatomy*. 3rd ed UTET, Torino Italy, 1970:vol. I, 842-849.
31. Harrison RC, Barclay AE. The distribution of the testicular artery linternal spermatic artery to the human testis. *Br J Urol* 1948, 20:5.

32. Sofikitis N, Dritsas K, Miyagawa I, koutselinis A. Anatomical characteristics of the left testicular venous system in man. *Arch Androl.* 1993, 30(2):79-85.
33. DeKretser DM. The fine structure of the testicular interstitial cells in men of normal adrogenic status, *Z. Zellforsch* 1967, 80(4):594-609.
34. Dukelow WR. Biossay techniques related to sperm capacitation. *Acta Endocrinol* 1971, 66(3):503-514.
35. Hamner CE, MaLaghlin KR. Capacitation of sperm. In: *The oviduct and its functions.* 1st ed. Johnson AD and Foley CW Academic Press, New York 1974:161-192.
36. Liang DS. Anatomical structure of the testicular tubule. *Invest Urol* 1966, 4(3):285-287.
37. Heller CG, Clermmt Y. Spermatogenesis in man: An estimate of its duration. *Science* 1963, 140:184.
38. Hamner CE, Williams WL. Effect of the female reproductive tract on sperm metabolism. *J Reprod Fert* 1963, 5:143.
39. Bedford JM. Sperm capacitation and fertilization in mammals. *Biol Reprod Suppl* 1970, 2(2):128-158.
40. Hodson N. The nerves of the testis, Epididymis and Scrotum. In: *The testis.* 1st ed. Johnson AD et al. Academic Press, New York 1970:47
41. Kormano M, Suoranta H. Microvascular organization of the adult human testis. *Anat Rec* 1971, 170:31.
42. Lenox B, Ahmad K.N. The total length of tubules in the human testis. *J Anat* 1970, 107(1):191.
43. Austin CR. Sperm fertility, viability and persistence in the female tract. *J Reprod Fertl Suppl* 1975, 22:75-89.
44. Chavarria ME, Reyes A, Rosado A. The male factor. II. Spermatozoa. Structure and function. *Ginecol Obstet Mex* 1997, 65:413-421.

45. Eliasson R Accessory glands and seminal plasma with special reference to infertility as a model for studies on induction of sterility in the male. *J Reprod Fertil Suppl* 1976, 24:163-174.
46. Tauber PF. Components of human split ejaculate. *J Reprod Fertil* 1975, 43(2):249-267.
47. Depuydt CE, De Potter CR, Zalata A, Baekelandt E, Bosmans E, Comhaire FH. Levels of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) in seminal plasma of patients with andrological diseases. *J Androl* 1998, 19(2):175-182.
48. Lipsett MB. Production of testosterone by prostate and other peripheral tissues in man. *Vitam Horm* 1975, 33:209-221.
49. Rosner W, Deakins SM. Testosterone-binding globulins in human plasma: Studies on sex distribution and specificity. *J. Clin. Invest* 1968, 47(9):2109-2116.
50. Christensen AK. Leyding Cells. In: *Endocrinology*. 1st ed. Greep RO and Astwood EB, The Williams and Wilkins Co, Baltimore 1975:57.
51. Sherins RJ, Loriaux DL. Studies on the role of sex steroids in the feedback control of FSH concentration in men. *J Clin Endocrinol* 1973, 36(5):886-893.
52. Patelli E, Paccaduscio A, Gelosa M, Parravicini M. Seminal fluid today. *Arch Ital Urol Androl* 1998, 70(2):93-101.
53. Singer R, Dickerman Z, Sagiv M, Laron Z, Livni E. Endocrinological parameters and cell-mediated immunity postoperation for cryptorchidism. *Arch Androl* 1988, 20(2):153-157.
54. Scheiber K, Marberger H, Bartsch GJR. Exocrine and endocrine testicular function in patients with unilateral testicular disease. *Soc Med* 1983, 76(8):649-651.

55. Lemcke B, Behre HM, Nieschlag E. Frequently subnormal semen profiles of normal volunteers recruited over 17 years. *Int J Androl* 1997, 20(3):144-152.
56. Sofikitis NV, Miyagawa I. Endocrinological, biophysical, and biochemical parameters of semen collected via masturbation versus sexual intercourse. *J Androl* 1993, 14(5):366-373.
57. Dondero F, Pozza D, Mazzilli F, Isidori A. Response of adnexal glands to testosterone stimulation in the normal adult male. *Fertil Steril* 1976, 27(7):806-811.
58. Longcope C, Kato T, Horton R. Conversion of blood androgens to estrogens in normal adult men and women. *J Clin Invest* 1969, 48(12):2191-2201.
59. Bishop MWH. Ageing and reproduction in the male. *J Reprod Fertil* 1970, 12:65-87.
60. Dorrington JH, Armstrong DT. Follicle stimulating hormone stimulates estradiol-17 β synthesis in cultured Sertoli cells. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1975, 72(7):2677-2681.
61. Simoni M, Gromoll J, Nieschlag E. Molecular pathophysiology and clinical manifestations of gonadotropin receptor defects. *Steroids* 1998, 63:288-293.
62. Riggs S, Sanford P. Viral orchids. *N Engl J Med* 1962, 266:990.
63. Burhans A. Treatment of orchids of mumps. *J Urol* 1945, 54:547.
64. Handley S. Non-specific epididymitis. *Lancet*, 1946, 1:779.
65. Heap G. Acute epididymitis attributable to chlamydial infection. Preliminary report. *Med J Aust* 1975, 1(23):718-719.
66. Brosman SA. Mixed gonadal dysgenesis. *J Urol* 1979, 121(3):344-347.
67. Brothers LR. III, et al. Anorchism versus cryptorchism: The importance of a diligent search for intra-abdominal testes. *J Urol* 1978, 119(5):707-708.
68. Gracia J, Gonzalez N, Gomez ME, Plaza L, Sanchez J, Alba J. Clinical and anatomopathological study of 2000 cryptorchid testes. *Br J Urol* 1995, 75(6):697-701.

69. Muzzonigro G, Minardi D, Polito M Jr, Barbatelli G. Cryptorchidism and infertility: retrospective study of 18 post puberal patients affected with monolateral cryptorchidism. *Arch Ital Urol Androl* 1996, 68(2):75-80.
70. Gouglin MT, O'Leary LA, Songer NJ, Bellinger MF, Laporte RE, Lee PA. Time to conception after orchidopexy: evidence for subfertility? *Fertil Steril* 1997, 67(4):742-746.
71. Fahlenkamp D, Winfield HN, Schonberger B, Mueller W, Loening SA. Role of laparoscopic surgery in pediatric urology. *Eur Urol* 1997, 32(1):75-84.
72. Das S. Laparoscopic techniques in pediatric urology. *Urologic Laparoscopic Surgery*. New York McGraw-Hill 1996, 165-187.
73. Hutson JM, Beasley SW. The postnatal effects of cryptorchidism. In: *Descent of the Testis*, Hutson JM, Beasley SW (eds), Edward Arnold London 1992:74-90.
74. Macnicol MF. Torsion of the testis in childhood. *Br J Surg* 1974, 61(11):905-908.
75. Greaney MG. Torsion of the testis. A review of 22 cases: Improved diagnosis and earlier correction. *Br J Surg* 1975, 62(1):57-58.
76. Moward JJ, Konvolinka CW. Torsion of the undescended testis. *Urology* 1978, 12(5):567-568.
77. Kay R. Bilateral spermatic cord torsion in neonate *J Urol* 1980, 123(2):293.
78. D'Agostino S, Musi L, Colombo B, Belloli G. Varicocele: epidemiologic study and indications for its treatment. *Pediatr Med Chir* 1996, 18(5):27-30.
79. Sofikitis N, Miyagawa I. Effects of surgical repair of experimental left varicocele on testicular temperature, spermatogenesis, sperm maturation, endocrine function, and fertility in rabbits. *Arch Androl* 1992, 29(2):163-175.

80. Nieschlag E, Hertle L, Fishedick A, Abshagen K, Behre HM. Update on treatment of varicocele: counselling as effective as occlusion of the vena spermatica. *Hum Reprod* 1998, 13(8):2147-2150.
81. Sofikitis N, Miyagawa I, Zavos PM. Should the testicular artery be preserved at varicocelectomy? *J Urol* 1994, 151 (5):1355.
82. Meschede D, Behre HM, Nieschlag E. Endocrine and spermatological characteristics of 135 patients with bilateral megalotestis. *Andrologia* 1995, 27(4):207-212.
83. Miskin M, Bain J. &mode ultrasonic examination of the testes. *J Clin Ultrasound* 1974, 2(4):307-311.
84. Konety BR, Cooper T, Flood HD, Futrell JW. Scrotal elephantiasis associated with hidradenitis suppurativa. *Plast Reconstr Surg* 1996, 97(6):1243-1245.
85. Weinstein M, Roberts M. Elephantiasis and the Kondolen operation. *Am J Surg* 1950, 79:327.
86. Biswas M. Necrotizing infection of scrotum. *Urology* 1979, 14(6):576-580.
87. Tan R. Fournier's gangrene of the scrotum and penis. *J Urol* 1964, 92:508.
88. Burpee JF, Edwards P. Fournier's gangrene. *J Urol* 1972, 107(5):812-814.
89. Rosenberg W. Abscess of the testicle. *J Urol* 1935, 34:44.
90. Rosenfield AT, Hammers LW. Imaging of the testicle: the painful scrotum and nonpalpable masses. *Urol Radiol* 1992, 14(3):229-233.
91. Horstman WG, Middleton WD, Melson GL. Scrotal inflammatory disease: color Doppler US findings. *Radiology* 1991, 179(1):55-59.
92. Javadpour N. The National Cancer Institute experience with testicular cancer. *J Urol* 1978, 120(6):651-659.
93. Henry S, et al. Choriocarcinoma of the testis. *J Urol* 1974, 112(1):105-108.

94. Cricco R, Kandzari S. Secondary testicular tumors. *J Urol* 1977, 118(3):489-490.
95. Caldamone A, et al. Leyding cell tumour of the testis. *Urology* 1979, 14(1):39-43.
96. Collins D, Pugh B. The pathology of testicular tumours. *Brit J Urol* 1964, 36:1.
97. Einhorn L, Donohue J. Improved chemotherapy in disseminated testicular cancer. *J Urol* 1977, 117(1):65-69.
98. Johnson D, et al. Prognosis for pathologic stage I non-seminomatous germ cell tumors of the testes managed by retroperitoneal lymphadenectomy. *J Urol* 1976, 116(1):63-65.
99. Fowler Jr, et al. Critical appraisal of routine supraclavicular lymph node biopsy in staging of testicular tumors. *Urology* 1979, 14:230.
100. Donohue J. Improved management of nonseminomatous testis tumors. *Cancer* 1978, 42(6):2903-2908.
101. Turek PJ, Lowther DN, Carroll PR. Fertility issues and their management in men with testis cancer. *Urol Clin North Am* 1998, 25(3):517-531.
102. Presti JC, Herr HW, Carroll PR. Fertility and testis cancer. *Urol Clin North Am* 1993, 20(1):173-179.
103. Petersen PM, Giwercman A, Skakkebaek NE, Rorth M. Gonadal function in men with testicular cancer. *Semin Oncol* 1998, 25(2):224-233.
104. Centola GM, Keller JW, Henzler M, Rubin P. Effect of low-dose testicular irradiation on sperm count and fertility in patients with testicular seminoma. *J Androl* 1994, 15(6):608-613.
105. Petersen PM, Skakkebaek NE, Giwercman A. Gonadal function in men with testicular cancer: biological and clinical aspects. *APMIS* 1998, 106(1):24-34.
106. York JP, Badalament RA. Fertility issues associated with testicular cancer. *Compr Ther* 1993, 19(1):17-20.

107. Corvol P, Bardin CW. Species distribution of testosterone-binding globulin. *Biol Reprod* 1973, 8(3):277-282.
108. Dondero F, Sciarra F, Isidori A. Evaluation of relationship between plasma testosterone and human seminal citric acid. *Fertil Steril* 1972; 23(3),168-171.
109. Conte D, Laguzzi G, Giovenco P, Dondero F, Isidori A. Relationship between seminal PGE and 19-OH PGE and seminal fructose in man. *Prostaglandins* 1979, 17:135-139.
110. Dondero F, Sciarra F, Isidori A. Evaluation of relationship between plasma testosterone and human seminal acid phosphatase. *Folia Endocrinol* 1974, 27(2):185-188.
111. Cavanaugh AH. Synthesis and metabolism of prostaglandin F2 by the human prostate. *Andrologia* 1976, 8(1):110.
112. Cavanaugh AH, Farnsworth WE. Receptor sites on human prostate tissue for prostaglandin F2 alpha. *Life Sci* 1977 1, 21(1):83-92.
113. Cavanaugh AH, Farnsworth WE, Grierstein HB, Wojtowicz C. The influence of testosterone and lactogen on synthesis and metabolism of prostaglandin F2 alpha by the human prostate. *Life Sci* 1980, 26(1):29-34.
114. Μπαλτογιάννης Δ, Ευαγγέλου Α, Γιαννακόπουλος Ξ. Φυσιοπαθολογία του προστατικού υγρού. *Ουρολογικά Νέα* 1999, 5:98-107.
115. Huggins C, Moulder PV. Estrogen production by Sertoli cell tumours of the testis. *Cancer Res* 1945, 5:510.
116. Amelar RD. Coagulation, liquefaction and viscosity of human semen. *J Urol* 1962, 87:187.
117. Tauber PF, Zaneveld LJ, Propping D, Schumacher GF. Components of human split ejaculates. II. Enzymes and proteinase inhibitors. *J Reprod Fertil* 1976, 46(1):165-171.

118. Tauber PF, Zaneveld LJ, Propping D, Schumacher GF. Components of human split ejaculates. I. Spermatozoa, fructose, immunoglobulins, albumin, lactoferrin, transferrin and other plasma proteins. *J Reprod Fertil* 1975, 43(2):249-267.
119. Haidl G, Badura B, Schill WB. Function of human epididymal spermatozoa. *J Androl* 1994, 15:23-27.
120. Gopalkrishnan K, Padwal V, Balaiah D. Efficiency of routine semen analysis to predict functional and structural integrity of human spermatozoa. *Indian J Exp Biol* 1995, 33 (9):652-654.
121. Marrs RP, Serafini PC, Kerin JF, Batzofin J, Stone BA, Brown J, Wilson L, Quinn P. Methods used to improve gamete efficiency. *Ann N Y Acad Sci* 1988, 541:310-316.
122. Henkel R, Cooper S, Kaskar K, Schill WB, Habenicht UF, Franken DR. Influence of elevated pH levels on structural and functional characteristics of the human zona pellucida: functional morphological aspects. *J Assist Reprod Genet* 1995, 12(9):644-649.
123. Tomlins AM. High-resolution ¹H NMR spectroscopic studies on dynamic biochemical processes in incubated seminal fluid samples. *Biochim Biophys Acta* 1998, 1379 (3):367-380.
124. Lescoat D, Colleu D, Boujard D, Le Lannou D. Electrophoretic characteristics of nuclear proteins from human spermatozoa. *Arch Androl* 1988, 20(1):35-40.
125. Cooper TG, Atkinson AD, Nieschlag E. Experience with external quality control in spermatology. *Hum Reprod* 1999, 14(3):765-769.
126. Rowley MJ, et al. Duration of transit of spermatozoa through the human male ductular system. *Fertil Steril* 1970, 21(5):390-396.
127. Setchell BP, et al. Characteristics of testicular spermatozoa and the fluid, which transports them into the epididymis. *Biol Reprod* 1969, 1(1):40-66.

128. Rolf C, Behre HM, Nieschlag E. Reproductive parameters of older compared to younger men of infertile couples. *Int J Androl* 1996, 19(3):135-142.
129. Zavos PM, Kofinas GD, Sofikitis NV, Zarmakoupis PN, Miyagawa I. Differences in seminal parameters in specimens collected via intercourse and incomplete intercourse. *Fertil Steril* 1994, 61(6):1174-1176.
130. Yamamoto Y, Maenosono S, Okada H, Miyagawa I, Sofikitis N. Comparisons of sperm quality, morphometry and function among human sperm populations recovered via Sperm Prep II filtration, swim-up and Percoll density gradient methods. *Andrologia* 1997, 29(6):303-310.
131. De Kretser DM. Male infertility. *Lancet* 1997, 349:787-790.
132. Simoni M. The EAA International Quality Control Programme for Y-Chromosomal microdeletions. *European Academy of Andrology Int J Androl* 1998, 21(6):315-316.
133. Berger T, Marrs RP, Moyer DL. Comparison of techniques for selection of motile spermatozoa. *Fertil Steril* 1985, 43:268-273.
134. Lopata A, Patullo MJ, Chong A, James B. A method for collecting motile spermatozoa from human semen. *Fertil Steril* 1976, 27:677-688.
135. De Geyter C, De Geyter M, Koppers B, Nieschlag E. Diagnostic accuracy of computer-assisted sperm motion analysis. *Hum Reprod* 1998, 13(9):2512-2520.
136. Host E, Lindenberg S, Kahn JA, Christensen F. DNA strand breaks in human sperm cells: a comparison between men with normal and oligozoospermic sperm samples. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999, 78(4):336-339.
137. Hacker-Klom UB, Gohde W, Nieschlag E, Behre HM. DNA flow cytometry of human semen. *Hum Reprod* 1999, 14(10):2506-2512.

138. Sofikitis NV, Miyagawa I, Agapitos E, Pasyianos P, Toda T, Hellstrom WJ, Kawamura H. Reproductive capacity of the nucleus of the male gamete after completion of meiosis. *J Assist Reprod Genet* 1994, 11(7):335-341.
139. Kamischke A, Nieschlag E. Analysis of medical treatment of male infertility. *Hum Reprod* 1999, 14(1):1-23.
140. Georgiou I, Syrrou M, Stefanidis K, Konstantelli M, Lolis D. Effect of Percoll gradient and swim-up preparation on the chromomycin A3 staining of normal and abnormal semen samples. *Andrologia* 1998, 30(2):101-104.
141. Pasteur X, Maubon I, Cottier M, Sorg P, Seffert P, Laurent JL, Sabido O. Quantitative assessment of human spermatozoa chromatin stainability by flow cytometry: preliminary study. *Acta Eur Fertil* 1990, 21(6):297-304.
142. Franken DR, Franken CJ, de la Guerre H, de Villiers A. Normal sperm morphology and chromatin packaging: comparison between aniline blue and chromomycin A3 staining. *Andrologia* 1999, 31(6):361-366.
143. Andreetta AM, Stockert JC, Barrera C. A simple method to detect sperm chromatin abnormalities: cytochemical mechanism and possible value in predicting semen quality in assisted reproductive procedures. *Int J Androl* 1995, 18(1):23-28.
144. Menkveld R, Rhemrev JP, Franken DR, Vermeiden JP, Kruger TF. Acrosomal morphology as a novel criterion for male fertility diagnosis: relation with acrosin activity, morphology (strict criteria), and fertilization in vitro. *Fertil Steril* 1996, 65(3):637-644.
145. Miteva K, Valkov N, Goncharova-Peinoval J, Kovachev K, Zlatarev S, Pironcheva G, Russev G. Electron microscopic data for the presence of post-meiotic gene expression in isolated ram sperm chromatin. *Cytobios* 1995, 333(83):85-90.
146. Fawcett DW. The mammalian spermatozoon. *Dev Biol* 1975, 44(2):394-436.

147. Franken DR, Henkel R, Kaskar K, Habenicht UF. Defining bioassay conditions to evaluate sperm/zona interaction: inhibition of zona binding mediated by solubilized human zona pellucida. *J Assist Reprod Genet* 1996, 13(4):329-332.
148. Sofikitis NV, Miyagawa I, Zavos PM, Toda T, Iino A, Terakawa N. Confocal scanning laser microscopy of morphometric human sperm parameters: correlation with acrosin profiles and fertilizing capacity. *Fertil Steril* 1994, 62(2):376-386.
149. Franken DR, Morales PJ, Habenicht UF. Inhibition of G protein in human sperm and its influence on acrosome reaction and zona pellucida binding. *Fertil Steril* 1996, 66(6):1009-1011.
150. Jager S. Sperm nuclear stability and male infertility. *Arch Androl* 1990, 25(3):253-259.
151. Gill WB, Schumacher GF, Bibbo M. Pathological semen and anatomical abnormalities of the genital tract in human male subjects exposed to diethylstilbestrol in utero. *J Urol* 1977, 117(4):477-480.
152. Franken DR. New aspects of sperm-zona pellucida binding. *Andrologia* 1998, 30(4-5):263-268.
153. Windt ML, Franken DR, Kruger TF, Oehninger SC. In vitro fertilization failure: identification of gamete defects by investigation of sperm-zona pellucida binding capacity of unfertilized oocytes. *Andrologia* 1996, 28(4):211-215.
154. Oehninger S, Mahony M, Ozgur K, Kolm P, Kruger T, Franken D. Clinical significance of human sperm-zona pellucida binding. *Fertil Steril* 1997, 67(6):1121-1127.
155. Freundl G, Grimm HJ, Hofmann N. Selective filtration of abnormal spermatozoa by the cervical mucus. *Hum Reprod* 1988, 3(3):277-280.
156. Filatov MV, Semenova EV, Vorob'eva OA, Leont'eva OA, Drobchenko EA. Relationship between abnormal sperm chromatin packing and IVF results. *Mol Hum Reprod* 1999, 5(9):825-830.

157. Pasteur X, Sabido O, Maubon I, Perrin-Cottier M, Laurent JL. Quantitative assessment of chromatin stability alteration in human spermatozoa induced by freezing and thawing. A flow cytometric study. *Anal Quant Cytol Histol* 1991, 13(6):383-390.
158. Γιαννακόπουλος Ξ, Χαμηλωμάτης Π, Μπαλτογιάννης Δ, Γεωργίου Ι, Λώλης Δ. Ο ρόλος των επιπέδων της L-Καρνιτίνης στην ποιότητα του σπέρματος. *Ουρολογικά Νέα* 1996, 2:16-20.
159. 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(8):1998-2006.
160. Lolis D, Georgiou I, Syrrou M, Zikopoulos K, Konstantelli M, Messinis I. Chromomycin A3-staining as an indicator of protamine deficiency and fertilization. *Int J Androl* 1996, 19(1):23-27.
161. Jardin A. Treatment of male infertility. *Presse Med* 1995, 28(32):1511-1513.
162. Dadoune JP. The nuclear status of human sperm cells. *Micron* 1995, 26(4):323-345.
163. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, de Angelis P, Claussen OP. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod* 1999, 14(4):1039-1049.
164. Sanchez R, Villagran E, Risoparton J, Cellis R. Evaluation of nuclear maturity in human spermatozoa obtained by sperm-preparation methods. *Andrologia* 1994, 2:173-176.
165. Balhorn R. Mammalian protamines, structures and molecular interactions. In: *Molecular Biology of Chromosome Function* K. W. Adolph ed. Springer Verlag, New York 1989:366-395.
166. Balhorn R. A model for the structure of chromatin in mammalian sperm. *Journal of Cell Biology* 1982, 93:298-305.

167. Ward WS, Coffey DS. Histones instead of protamines in terminal germ of infertile oligospermia men. *Fertility and Sterility* 1976, 24:1428-1437.
168. Μπαλτογιάννης Δ, Γεωργίου Ι, Γιαννακόπουλος Ξ, Λώλης Δ. Κατά πόσο επηρεάζει η τεχνική προετοιμασίας του σπέρματος για IVF την συγκέντρωση των πρωταμινών των σπερματοζωαρίων. *Ουρολογικά Νέα* 1997, 3:183-186.
169. Bedford JM, Calvin HI, Cooper GW. The maturation of spermatozoa in the human epididymis. *Journal of Reproduction and Fertility* 1973, 18:199-213.
170. Huret JL. Variability of the chromatin decondensation ability test on human sperm. *Archives of Andrology* 1983, 11:1-7.
171. Kvist U, Kjeberg S, Bjorndahl L, Hammer M, Roomans GM. Sperm nuclear zinc and chromatin stability in fertile men and men in barren unions. *Scandinavian Journal of Urology and nephrology* 1987, 22:1-7.
172. Claassens OE, Kaskar K, Coetzee K, Lombard CJ, Franken DR, Kruger TF. Comparison of motility characteristics and normal sperm morphology of human semen samples separated by Percoll density gradient centrifugation. *Arch Androl* 1996, 36(2):127-132.
173. Yanagimachi R. Fertilizing capacity of human spermatozoa. In: *Morphological Basis of Human Reproductive Function*. G. Spera & DM de Kester eds Plenum Press, New York and London 175-186.
174. Colleu D, Lescoat D, Gouranton J. Nuclear maturity of human spermatozoa selected by swim-up or by Percoll gradient centrifugation procedures. *Fertil Steril* 1996, 65(1):160-164.
175. Foresta C, Zorzi M, Rossato M, Varotto A. Sperm nuclear instability and staining with aniline blue: abnormal persistence of histones in spermatozoa in infertile men. *International Journal of Andrology* 1992, 15:330-337.

176. Meschede D, Nieschlag E, Horst J. The importance of clinical documentation in genetic studies of male infertility. *Hum Genet* 1995, 96(4):500-501.
177. Love CC, Kenney RM. Scrotal heat stress induces altered sperm chromatin structure associated with a decrease in protamine disulfide bonding in the stallion. *Biol Reprod* 1999, 60(3):615-620.
178. Francavilla S, Cordeschi G, Gabriele A, Gianaroli L, Properzi G. Chromatin defects in normal and malformed human ejaculated and epididymal spermatozoa: a cytochemical ultrastructural study. *J Reprod Fertil* 1996, 106 (2):259-268.
179. Ueda K, Yanagimachi R. Sperm chromosome analysis as a new system to test human X- and Y-sperm separation. *Gamete Res* 1987, 17(3):221-228.
180. Usachenko SI, Gavin IM, Bavykin SG. Alterations in nucleosome core structure in linker histone-depleted chromatin. *J Biol Chem* 1996, 271(7):3831-3836.
181. Silvestroni L, Frajese G, Fabrizio M. Histones instead of protamines in terminal germ cells of infertile, oligospermic men. *Fertil Steril* 1976, 27(12):1428-1437.
182. Weissenberg R, Bella R, Yossefi S, Lewin LM. Changes during puberty in chromatin condensation, morphology and fertilizing ability of epididymal spermatozoa of the golden hamster. *Andrologia* 1995, 27(6):341-344.
183. Molina J, Castilla JA, Gil T, Hortas ML, Vergara F, Herruzo A. Influence of incubation on the chromatin condensation and nuclear stability of human spermatozoa by flow cytometry. *Hum Reprod* 1995, 10(5):1280-1286.
184. Schlicker M, Schnülle V, Schnepfel L, Vorobev VI, Engel W. Disturbances of nuclear condensation in human spermatozoa: search for mutations in the genes for protamine 1, protamine 2 and transition protein 1. *Hum Reprod* 1994, 9(12):2313-2317.

185. Simoni M, Gromoll J, Dworniczak B, Rolf C, Abshagen K, Kamischke A, Carani C, Meschede D, Behre HM, Horst J, Nieschlag E. Screening for deletions of the Y chromosome involving the DAZ (Deleted in Azoospermia) gene in azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil Steril* 1997, 67(3):542-547.
186. Prigent Y, Muller S, Dadoune JP. Immunoelectron microscopical distribution of histones H2B and H3 and protamines during human spermiogenesis. *Mol Hum Reprod* 1996, 2(12):929-935.
187. Tan KH, Lim PH. Testicular biopsy and scrotal exploration in the management of male infertility. *Singapore Med J* 1991, 32(1):41-46.
188. Harrington TG, Schauer D, Gilbert BR. Percutaneous testis biopsy: an alternative to open testicular biopsy in the evaluation of the subfertile man. *J Urol* 1996, 156(5):1647-1651.
189. Charny CW. Testicular biopsy, its value in male sterility. *JAMA* 1940, 11(5):1429-1432.
190. Soderstrom KO. Tubular hyalinization in human testes. *Andrologia* 1986, 18:97-103.
191. Nistal M, Riestra ML, Galmes-Belmonte I, Paniagua R. Testicular biopsy in patients with obstructive azoospermia. *Am J Surg Pathol* 1999, 23(12):1546-1554.
192. Thielemans BF, Spiessens C, D'Hooghe T, Vanderschueren D, Legius E. Eur J Genetic abnormalities and male infertility. A comprehensive review. *Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998, 81(2):217-225.
193. Tateno T, Sasagawa I, Ashida J, Nakada T. Deletion of Y chromosome involving the DAZ (deleted in azoospermia) gene in XX males. *Arch Androl* 1999, 42(3):179-183.
194. Dajani YF, Kilani Z. Role of testicular fine needle aspiration in the diagnosis of azoospermia. *Int J Androl* 1998, 21(5):295-300.

195. Huang WJ, Lamb DJ, Kim ED, de Lara J, Lin WW, Lipshultz LI, Bischoff FZ. Germ-cell nondisjunction in testes biopsies of men with idiopathic infertility. *Am J Hum Genet* 1999, 64(6):1638-1645.
196. Sofikitis. NV, Miyagawa I, Incze P, Andrighetti S. Detrimental effect of left varicocele on the reproductive capacity of the early haploid male gamete. *J Urol* 1996, 156(1):267-270.
197. Fraser LR. New insights into possible causes of male infertility. *Hum Reprod* 1999, 14(1):38-46.
198. De Kretser DM, Baker HW. Infertility in men: recent advances and continuing controversies. *J Clin Endocrinol Metab* 1999, 84(10):3443-3450.

