

SPERMATOZOA AND SPERMATIDS RETRIEVAL: MULTIPLE TESTICULAR BIOPSY TECHNIQUE

AGNALDO PEREIRA CEDENHO, VILMON DE FREITAS, MARCOS MITSUYOSHI MORI,
DEBORAH MONTAGNINI SPANE, MIGUEL SROUGI

Section of Human Reproduction, Division of Urology and Gynecology, School of Medicine,
Federal University of São Paulo (UNIFESP), SP, Brazil

ABSTRACT

Mature spermatozoa, as well as elongated or round spermatids, may be recovered from testicular tissue of non-obstructive azoospermic patients. These sperm cells have fertilizing capability when the intracytoplasmic sperm injection (ICSI) procedure is used. Thus, genetic offspring is possible in a population of individuals who were advised to use donated spermatozoa.

Failure of testicular sperm cell extraction (TESE) may occur in up to 57% of the attempts in patients with non-obstructive azoospermia. Currently, there are no means of predicting the presence of spermatogenesis, which may be focal. TESE has been a blind procedure that does not identify focal sperm-producing areas. Therefore, these areas may not be extracted by testicular percutaneous puncture or conventional testicular biopsy.

The approach of planned biopsy and cryopreservation before an in vitro fertilization (IVF) cycle can avoid the need of ovarian stimulation in cases where no spermatozoa or spermatids are recovered with biopsy.

Several approaches have been described for the isolation of rare spermatozoa present in the testes of individuals with complete azoospermia and limited sperm production.

We describe a technique for extracting testicular spermatozoa or spermatids by means of multiple testicular biopsies, rather than using a single testicular sample, which contributes to obtaining spermatozoa and spermatids in amounts sufficient for fertilization and cryopreservation from non-obstructive, azoospermic patients, with minimum trauma.

Key words: azoospermia, non-obstructive, sperm extraction, biopsy, male infertility, testis

Braz J Urol, 26: 301-303, 2000

INTRODUÇÃO

Um paciente portador de azoospermia não-obstrutiva pode ser pai genético através da pesquisa minuciosa no interior do testículo para encontrar espermatozoides para serem utilizados na técnica de ICSI (intracytoplasmic sperm injection) (1,2). Tesarik et al. (3) utilizaram com sucesso células imaturas, espermátides, obtidas diretamente do testículo. Contudo, 50% dos pacientes com quadro de azoospermia não-obstrutiva apresentam espermatozoides ou espermátides no interior do testículo. Assim, diversos métodos têm sido preconizados: a biópsia testicular convencional e a punção aspirativa são os mais utilizados.

Todavia, esses 2 procedimentos são realizados totalmente às cegas, seguindo apenas o princípio de amostragem. Portanto, existe a possibilidade de áreas focais com túbulos seminíferos produtores de espermatozoides ou espermátides não serem extraídas pelos métodos supracitados. A técnica de extração de espermatozoides ou espermátides testiculares através das múltiplas biópsias testiculares, descrita a seguir, objetiva sobrepujar esta dificuldade com mínimo trauma.

TÉCNICA CIRÚRGICA

O paciente é colocado em posição supina sob anestesia geral ou local. O auxiliar apreende um dos

testículos para secção da pele que reveste o eixo transversal do testículo na extensão de 1,0 cm (Figura-1). Abre-se cuidadosamente a musculatura do dartos, mantendo-se a túnica vaginal fechada. Recomendamos realizar uma minuciosa hemostasia.

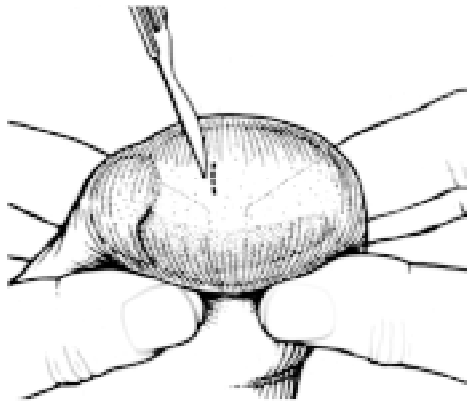


Figura 1 – Incisão do hemiescroto na extensão de 1,0 cm.

Utilizando-se uma tesoura de íris e uma pinça de Adilson, a musculatura do dartos é aberta cuidadosamente. Terminada a secção do dartos, um segundo campo cirúrgico, impermeável e com uma pequena abertura central é sobreposto sobre a incisão. Este campo é preparado a partir de luva estéril sem talco e objetiva impedir o umedecimento dos campos cirúrgicos circunjacentes e diminuir a contaminação do material que será colhido posteriormente.

Uma vez apreendida a túnica vaginal, o auxiliar libera o testículo e o cirurgião traciona essa túnica através do orifício do segundo campo. Abre-se a túnica vaginal e após repará-la, aspira-se o líquido intravaginal, identificando-se com facilidade a túnica albugínea. O testículo é imobilizado, sendo possível expor desde o segmento cefálico do epidídimo até o pólo inferior do testículo. Com o auxílio do microscópio cirúrgico, os vasos subcapsulares da túnica albugínea do testículo são perfeitamente reconhecidos e evitados, possibilitando-se assim, juntamente com a mobilização do órgão, a identificação de áreas avasculares. Desta forma, com um bisturi de lâmina 11, múltiplas microincisões atingindo apenas a albugínea podem ser realizadas, praticamente sem sangramento, e os túbulos seminíferos ficam assim expostos (Figura-2). Com duas

pinças apropriadas para microcirurgia, os túbulos seminíferos são extraídos com delicadeza e segurança. A primeira amostra é fixada no líquido de Bouin para o diagnóstico histológico e os outros fragmentos extraídos são introduzidos em tubos estéreis contendo meio de cultura e encaminhados ao laboratório.

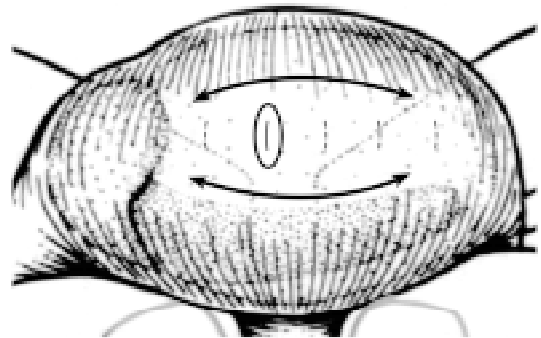


Figura 2 – Múltiplas incisões na albugínea.

No laboratório, cada fragmento é retirado do tubo e transferido com o auxílio de uma micropipeta para uma placa sob o estereomicroscópio. Empregando-se agora duas pinças apropriadas, os túbulos seminíferos são estirados e espremidos ao mesmo tempo, favorecendo-se assim a remoção das células germinativas do interior dos túbulos. Em seguida, esta suspensão composta de meio de cultura e células germinativas é transferida para o microscópio invertido. Nesta etapa, vários campos microscópicos são examinados com a finalidade de identificar os diferentes elementos germinativos presentes no material obtido.

Em se tratando de testículo, freqüentemente são encontrados espermatozoides imóveis e vários agrupamentos celulares, especialmente de espermátides. Em alguns campos é possível, o encontro de espermatozoides com algum movimento.

Após a obtenção do gameta masculino, a cirurgia encerra-se com o fechamento da túnica albugínea, da túnica vaginal, da musculatura do dartos e da pele. O paciente recebe alta no mesmo dia.

O procedimento entra agora na sua última fase, onde o elemento germinativo mais avançado é retirado da suspensão celular e transferido para uma

solução contendo polivinilpirrolidona (PVP). Em se tratando de espermatozóide, ele será o primeiro imobilizado e depois aspirado, estando pronto assim para a injeção intracitoplasmática em oócito (ICSI).

COMENTÁRIOS

Esta técnica de extração testicular (TESE-testicular sperm extraction) maximiza a colheita de espermatozóide ou espermátides para os procedimentos de reprodução assistida, principalmente nos casos de azoospermia não-obstrutiva, no qual, a possibilidade do insucesso é maior como nas técnicas de aspiração por punção testicular percutânea ou biópsia testicular convencional.

REFERÊNCIAS

1. Tournaye H, Camus M, Goossens A, Liu J, Nagy P, Silber S, Van Steirteghem AC, Devroey P:

Recent concepts in the management of infertility because of non-obstructive azoospermia. *Human Reprod*, 10 (Suppl. 1): 115-119, 1995.

2. Devroey P, Liu J, Nagy P, Goossens A, Tournaye H, Camus M, Van Steirteghem AC, Silber S: Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Human Reprod*, 10: 1457-1460, 1995.
3. Tesarik J, Rolet F, Brami C, Sedbon E, Thorel J, Tibi C, Thebault A: Spermatozoid injection into human oocytes: II Clinical application in the treatment of infertility due to non-obstructive azoospermia. *Human Reprod*, 11: 780-783, 1996.

Received: December 20, 1999

Accepted after revision: April 13, 2000

Correspondence address:

Marcos Mitsuyoshi Mori
Rua Joel Jorge de Melo, 236/52
São Paulo, SP, 04128-080, Brazil
Fax: ++ (55) (11) 573-0014
E-mail: mmmmsp@ibm.net