

Obtenção Cirúrgica de Espermatozóides

Carlos Augusto Bastos de Souza

Adriano Brandelli

João Sabino Lahorgue da Cunha Filho

Fernando Freitas

Eduardo Pandolfi Passos

SABI: 244069-8

Setor de Reprodução Humana, Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Apoio: Grupo de pesquisa e pós-graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução

Charny em 1948 foi o primeiro pesquisador a relatar o uso da biópsia testicular em infertilidade humana, referindo que Hotchkiss foi o primeiro a usar o método. Girgis et al 1969 relataram sua experiência entre 1957 e 1967 e determinaram sua importância para diagnóstico, prognóstico e avaliação dos resultados de cirurgia em azoospermia obstrutiva. Com o decorrer dos anos e progresso do manejo do casal infértil o uso da biópsia de testículo passou de um método puramente diagnóstico para um método terapêutico em azoospermia.

Historicamente, pacientes com azoospermia eram considerados como sem opção terapêutica em infertilidade. No entanto, com evolução do estudo em infertilidade, as técnicas de recuperação cirúrgica de espermatozóides somados as técnicas de reprodução assistida têm fornecido uma boa opção terapêutica para os casais inférteis.

Em 1985 Temple-Smith et al foram os primeiros a relatar uma gestação resultando de fertilização *in vitro* (FIV) convencional usando espermatozóides obtidos a partir do uso de espermatozóides epididimários por Aspiração Micro-Cirúrgica de Espermatozóides (MESA). O uso de FIV e transferência de zigotos intra-tubária (ZIFT) e o aperfeiçoamento da MESA melhoraram os índices de gestação. No entanto, foi somente com a introdução da Injeção Intra-Citoplasmática (ICSI) associada a MESA que houve uma substancial melhora nos resultados do manejo do casal infértil.

Com o objetivo de melhorar a aceitabilidade do paciente e conseguir um maior número de

espermatozóides sem necessitar de técnica microcirúrgica houve o surgimento de uma nova técnica de obtenção de espermatozóides conhecida como PESA - Aspiração Percutânea de Espermatozóides Epididimário. Além de conseguir estes objetivos a PESA também reduziu o tempo operatório, complicações e custos. Desde então, a técnica de PESA e ICSI, parece ser similar se não superior a associação MESA e ICSI no manejo do casal infértil com azoospermia. Craft et al, em 1995 demonstraram em sua experiência que, raramente, após não conseguir espermatozóides com PESA houve sucesso com MESA na recuperação de espermatozóides móveis ou de espermatozóides com qualidade adequada para serem usados na ICSI.

Em alguns pacientes com azoospermia, MESA e/ou PESA falham em recuperar espermatozóides, devido a fibrose ou ausência completa de epidídimo. Devido ao fato que nem a motilidade espermática, nem sua morfologia influenciam os resultados da ICSI, o uso de espermatozóides testicular passou a ser uma realidade quando da não obtenção de espermatozóides epididimários. Schoysman et al, 1993, foram os primeiros a relatar que espermatozóides extraídos através de biópsia testicular (TESE - extração de espermatozóides testiculares) resultariam em gestações geradas com uso de SUZI. Logo após, Craft et al, 1993, relatou que a ICSI também poderia ser utilizada com mesmo objetivo. Silber et al, 1995, também demonstraram altas taxas de fertilização e gestação com uso de TESE e ICSI. Deve-se ressaltar que a TESE envolve um procedimento cirúrgico com retirada de uma quantidade

relativamente grande de tecido testicular para um usualmente baixo número de espermatozóides.

Procurando maneiras menos agressivas e traumáticas algumas modificações foram feitas em alguns centros de infertilidade na técnica de TESE. Estas modificações podem ser agrupadas em: aspiração com agulha, biópsia com agulhas de biópsia mamaria. No entanto, estas modificações ainda que menos traumáticas possuem limitações na recuperação e processamento dos espermatozóides, podem, por outro lado, obter espermatozóides em vários pontos do testículo, fato que não pode ser conseguido com a biópsia.

Craft et al, 1995, desenvolveram um método de obtenção de espermatozóide a partir de Aspiração de Espermatozóides Testiculares (TESA). Esta técnica procura ser simples, efetiva e relativamente não traumática. Esta técnica possui especial utilidade em casos onde a MESA e PESA tiveram falha na obtenção espermática.

Apesar das limitações, há um aumento no número de evidências demonstrando que pacientes, antes considerados estéreis e intratáveis, agora possuem algumas chances com a recuperação de espermatozóides testiculares e/ou epididimários em ciclos de fertilização assistida. Assim, pacientes com elevação nas concentrações de Hormônio Folículo Estimulante, Síndrome de células de Sertoli, parada da espermatogênese, disfunção erétil, ejaculação retrógrada, deformidades penianas, e condições neurológicas possuem a possibilidade de recuperação de espermatozóides com MESA, PESA e TESE para uso com ICSI e geração de embriões.

Técnicas de Obtenção

MESA

O procedimento de MESA teve seu valor determinado em 1985 por Temple-Smith et al que conseguiram índices de gestação associando MESA a FIV-ET. Silber et al, 1988, também relataram gestação com a mesma técnica. Nos últimos 6 anos o uso de esperma epididimário em reprodução assistida tem aumentado e gestações com fetos vivos têm sido relatadas em todo mundo. Além dos benefícios óbvios, o desenvolvimento desta técnica tem auxiliado no entendimento da fisiologia do epidídimo e da fisiopatologia do esperma epididimário em casos de azoospermia obstrutiva.

O procedimento é melhor realizado com o paciente internado, sendo melhor assistido através de anestesia geral. Através de uma pequena incisão longitudinal a túnica vaginal é

identificada e o epidídimo exposto no campo operatório. Com auxílio de um microscópio e com técnica microcirúrgica, a porção mais distal do epidídimo é incisada e após exposição dos túbulos o esperma epididimário é aspirado. Meticulosa hemostasia é desejada. O conteúdo aspirado deve ser colocado em meio de cultura celular e uma pequena porção examinada no laboratório para avaliar a presença de espermatozóides e sua motilidade. Em caso de baixa motilidade ou ausência de espermatozóides pode realizar aspiração das porções mais proximais do epidídimo.

O epidídimo deve ser fechado com sutura de nylon 8-0. O fechamento da túnica epididimária procura diminuir a fibrose e número de aderências pós-operatórias, caso outro procedimento de MESA seja necessário.

A técnica necessita de um cirurgião habilitado em técnica microcirúrgica e determina uma certa morbidade pós-operatória, como dor edema, formação de hematoma e infecção. Devido à infra-estrutura necessária é um procedimento com custo mais elevado do que a PESA, TESE ou TESA.

PESA

A PESA surgiu com objetivo de evitar um procedimento cirúrgico aberto, evitar uma recuperação mais prolongada. Tem sido sugerido na literatura que a PESA é um procedimento com significantes vantagens sobre a MESA e com maior aceitabilidade pelos pacientes. O procedimento pode ser realizado de forma ambulatorial sobre sedação e anestesia local ou simplesmente anestesia local, reduzindo seu custo significativamente.

O procedimento torna-se mais fácil de ser realizado nos pacientes com epidídimo dilatado por azoospermia obstrutiva ou por razões naturais. A técnica consiste de aspiração direta do epidídimo, após fixação do mesmo pela mão do cirurgião e identificação das porções do epidídimo. O aspirado deve ser examinado para avaliar quantidade e qualidade. É incomum que o aspirado seja contaminado com quantidade substancial de sangue. Repetidas punções podem ser realizadas.

Alguns autores modificaram a PESA realizando uma pequena incisão na pele do escroto, criando uma visão direta do epidídimo, e desta forma é realizada a PESA.

TESE e TESA

Os espermatozóides testiculares podem ser obtidos de duas maneiras: através de extração tecidual (TESE) ou por punção por agulha (TESA).

Estudos têm demonstrado fertilização e gestação com os dois métodos.

A biópsia por agulha é um procedimento simples e realizado com anestesia local ambulatorialmente. Até o momento não foram demonstradas complicações sérias com a técnica, no entanto envolve punção as cegas, e se há falha na obtenção de espermatozóides várias tentativas são realizadas. O procedimento pode causar lesão testicular e complicações pós-operatória. Uma taxa de 5% de atrofia testicular tem sido demonstrada em estudos animais, porém estes dados não foram confirmados em humanos até o momento.

A biópsia a céu aberto pode ser realizada também com anestesia local e de forma ambulatorial. A pele do escroto é incisada cerca de 1 cm, uma pequena incisão é realizada na túnica albugínea e uma porção de tecido testicular é isolado e extraído. O tecido é colocado em meio de cultura celular, macerado e examinado em microscópio para avaliar a presença de espermatozóides. Várias biópsias podem ser realizadas, e o sangramento é controlado com facilidade. Uma amostra de tecido é remetida para análise anatomopatológica descartando neoplasia. Este dado pode ser de algum valor no manejo futuro do casal, além de poder realizar o diagnóstico de carcinoma in-situ de testículo, ainda que a frequência desta patologia seja baixa na população em geral e principalmente na idade média dos pacientes normalmente em avaliação nas clínicas de infertilidade.

Conclusões

As técnicas de obtenção de espermatozóide têm sua indicação precisa nos casos de azoospermia devido a causas congênitas, ou a causas adquiridas, onde em conjunto com a fertilização assistida com ICSI conseguem obter fertilização e gestação. Estas técnicas podem também ser utilizadas em pacientes com elevação nas concentrações de Hormônio Folículo Estimulante, Síndrome de células de Sertoli, parada da espermatogênese, disfunção erétil, ejaculação retrógrada, deformidades penianas, e condições neurológicas onde não se conseguiu com outros métodos obter esperma e que possuem a possibilidade de recuperação de espermatozóides com MESA, PESA e TESE para uso com ICSI e geração de embriões. Os índices de fertilização e gestação das várias técnicas apresentadas acima são bastante favoráveis para casais até há pouco tempo sem nenhuma perspectiva.

Os trabalhos demonstram, para esperma

epididimário, índices de fertilização e gestação extremamente variáveis por ciclo, Craft et al, 1995, encontraram 18,5% e 25%, Mansour et al 1996, 63% e 17%, Chen et al 1995, 25% e 12,5%. Esta ampla variação pode ser encontrada, também, para esperma testicular. Devroey et al, 1995, encontraram índices de fertilização e gestação de 47% e 25%, Silber et al 1995 46% e 43%, Bourne 1995 100% e 50%, Cha et al, 1997, 70% e 40%. As técnicas de obtenção estão afirmando-se como conduta nos vários centros de reprodução assistida e será necessário algum tempo para que os trabalhos revelem sua real eficácia, mas já fica desde agora determinada sua real utilidade.

Como colocado acima fica exposto a dificuldade de manejo desses casais e, principalmente a dificuldade na obtenção de espermatozóides. Desta forma é importante que além de serem obtidos espermatozóides, estes possam ser preservados para utilização em várias tentativas de ICSI. Criopreservação de esperma não ejaculado com sucesso foi relatada há pouco tempo. Os estudos iniciais revelaram sucesso na preservação de esperma epididimário com taxa de fertilização, clivagem, e gestação similares às taxas com esperma fresco. A eficácia no congelamento de esperma testicular foi amplamente questionada devido ao pequeno número de espermatozóides e motilidade freqüentemente encontrados. Estudos recentes têm conseguido demonstrar bons resultados na criopreservação e posterior utilização de esperma testicular.

Desta maneira, em nosso serviço de reprodução humana, preconizamos o uso das técnicas de obtenção de espermatozóides em pacientes que após investigação de infertilidade por causa masculina, não apresentam espermatozóides no ejaculado nem causa endócrina tratável de azoospermia. Inicialmente, indicamos o uso da Aspiração Percutânea de Espermatozóides Epididimários (PESA) como tentativa de obtenção de espermatozóides epididimários e em caso de não obtenção realizamos a Aspiração de Espermatozóides Testiculares (TESA) e/ou a Extração de Espermatozóides Testiculares (TESE). Os espermatozóides são criopreservados.

Complicações

O uso das técnicas de obtenção de espermatozóides é relativamente novo e suas possíveis complicações não foram totalmente determinadas. É reconhecido atualmente que a técnica de MESA é potencialmente mais

agressiva ao epidídimo, causando hematoma, fibrose e dor pós-operatória em maior intensidade. O uso da TESA em estudos animais causou atrofia testicular em alguns casos, sendo aventado lesão de artéria testiculares importantes por punção às cegas. No entanto, devido ao tamanho do testículo humano é difícil que estes resultados venham a se repetir. Schlegel em 1997, realizou um estudo onde determinou as possíveis complicações das técnicas de obtenção de espermatozóides testicular, evidenciando poucas complicações, com 2 casos em 64 de atrofia testicular por biópsias múltiplas.

Leituras Suplementares

1. Bourne H, Watkins W, Speirs a e Baker HWG. Pregnancies after intracytoplasmic injection of sperm collected by fine needle biopsy of the testis. *Fertil Steril* 1995, 64, 433-6.
2. Charny CW. Testicular biopsy - Its value in male infertility. *JAMA* 1940, 115, 1429-33.
3. Chen CS, Chu SH, Soong YK, Lai YM. Epididymal sperm aspiration with assisted reproductive techniques: difference between congenital and acquired obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995, 1104-8.
4. Craft I, Tsirigotis M. Simplified recovery, preparation and cryopreservation of testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1995, 10, 1623-7.
5. Craft I, Tsirigotis M, Bennet V, Taranissi M, Khalifa Y, Hogewind G, Nicholson N. Percutaneous epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection in the management of infertility due obstructive azoospermia. 1995, 63, 1038-42.
6. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Silber MD, Steirteghem ACV. Normal fertilization of human oocytes after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*, 1994, 62, 639-41.
7. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, Steirteghem AV, Silber S. Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*, 1995, 10, 1457-60.
8. Fishel S, Timson J, Lisi F, Rinaldi L. Evaluation of 225 patients undergoing subzonal insemination for the procurement of fertilization in vitro. *Fertil Steril* 1992, 57, 840-9.
9. Kretser DM e Baker HWG. Human Infertility: The male factor. In: Adashi EY. *Reproductive Endocrinology, Surgery, and Technology*. Lippincott-Raven. Philadelphia, 1996, 2031-63.
10. Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, Fahmi I, Ramzy AM, Amin Y. Intracytoplasmic sperm injection using microsurgically retrieved epididymal and testicular sperm, 1996, 65, 566-71.
11. Mansour RT, Kamal A, Fahmy I, Tawab N, Serour GI, Aboulghar MA. Intracytoplasmic sperm injection in obstructive and non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1997, 12, 1974-9.
12. Palermo G, Joris H, Devroey P, e Van Steirteghem A. Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection of single spermatozoon into na oocyte. *Lancet*, 1992, 340, 17-18.
13. Pryor J, parsons J, Goswamy R, Matson, Vaid P, Wilson L, et al. In vitro fertilization for men with obstructive azoospermia. *Lancet*, 1984
14. Schlegel PN, Su LM. Physiological consequences of testicular sperm extraction. *Hum Reprod* 1997, 12, 1688-92.
15. Silber SJ, Nagy ZP, Liu J, Godoy H, Devroey P e Steirteghem AV. Conventional in-vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration. *Hum Reprod*, 1994, 9, 1705-9.

COMUNICADO AOS ASSOCIADOS E LEITORES

FEBRASGO na Internet

Para informações e consultas temos à disposição quatro endereços eletrônicos:

febrasgopresidencia@alphanet.com.br
secretaria_executiva@febrasgo.org.br
publicacoes@febrasgo.org.br
tego_habilitacao@febrasgo.org.br