

Técnicas para Obtenção de Espermatozoides nas Azoospermias Obstrutivas e Não Obstrutivas em Pacientes Portadores de Infertilidade Masculina

Guilherme Leme de Souza • Jorge Hallak

Introdução

De acordo com a Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM, *American Society for Reproductive Medicine*), a infertilidade é considerada uma doença do sistema reprodutor, cujas funções não se encontram em estado normal. É constatada após um período de 12 meses de tentativa de concepção sem sucesso, em que o casal manteve relações sexuais sem a utilização de métodos contraceptivos.

Descobertas em biologia celular e, mais especificamente, um vasto número de inovações tecnológicas e científicas extraordinárias em medicina reprodutiva têm alterado radicalmente as opções para esse tipo de tratamento nos últimos anos, possibilitando a obtenção de gravidez para aqueles casais considerados previamente incapazes de gerar seus próprios filhos. Isso se deve principalmente à introdução da técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI, *intracytoplasmic sperm injection*) no oócito para o tratamento de infertilidade masculina grave e aos resultados promissores e rapidamente difundidos por todo o mundo. Consequentemente, e como exemplos, têm sido realizadas intervenções que permitem, por

exemplo, que pacientes com agenesia congênita dos vasos deferentes ou com azoospermia não obstrutiva tenham seus próprios filhos. A síndrome de Klinefelter é uma das causas conhecidas de infertilidade masculina, que afeta cerca de 1 a 2% da população infértil masculina em geral e 7 a 13% dos pacientes que apresentam azoospermia primária. Apresenta-se nas formas não mosaicas (47,XXY) ou mosaicas (47,XXY/46,XY). Até o momento, foram registrados vários nascimentos vivos com a utilização da ICSI em diferentes centros de reprodução assistida, cujos maridos tinham a síndrome de Klinefelter na forma não mosaica.

Infelizmente, o abuso e a banalização dessa ferramenta potente descrita para os casos de infertilidade masculina grave têm trazido consequências ainda desconhecidas do grande público e dos médicos não envolvidos diretamente em reprodução humana.

Como os resultados da ICSI são eventualmente melhores que os da fertilização *in vitro* convencional para problemas femininos, sugeriu-se que todas as técnicas de reprodução assistida devam ser substituídas pela ICSI. A importância da avaliação do homem e dos tratamentos andrológicos tem sido questionada, mesmo sabendo que doenças graves podem ser observadas em homens inférteis e que são apenas

descobertas por meio de avaliação cuidadosa e abrangente. O avanço das técnicas de reprodução assistida nos últimos anos tornou primordial a obtenção de espermatozoides, ainda que com limitada capacidade intrínseca de fertilização. Dentre os principais pontos, dois merecem destaque. Primeiramente, tornou-se possível a manipulação de espermatozoides e óvulos, com maior eficiência na obtenção de embriões. Associado a esse fato, é amplamente reconhecida a viabilidade de espermatozoides obtidos do epidídimo e do testículo. O urologista encontra seu papel em diversas áreas do tratamento da infertilidade, ressaltando o tratamento da varicocele e as reconstruções microcirúrgicas dos ductos deferentes. As técnicas de aquisição de espermatozoides para reprodução assistida devem também ser dominadas pelo urologista geral e, em particular, pelo especialista.

A obtenção de gametas masculinos é indicada, basicamente, aos casos de azoospermia obstrutiva, em que não seja possível a reconstrução cirúrgica ou azoospermias não obstrutivas. É fundamental individualizar-se a azoospermia obstrutiva da não obstrutiva. São entidades diferentes, com exame físico, níveis hormonais e exames genéticos diferentes e com causas particulares e condutas muitas vezes não superponíveis e com consequências nas gerações futuras (por exemplo, alterações do cariótipo e microdeleção do cromossomo Y).

A azoospermia obstrutiva pressupõe obstrução em qualquer ponto do sistema de condução dos espermatozoides, associada à normalidade do parênquima testicular e da espermatogênese. Portanto, o tratamento inicial envolve o restabelecimento da continuidade desse sistema de condução. A principal causa de azoospermia obstrutiva em nosso meio é a vasectomia. A vasovasostomia ou vasoepididimostomia são os tratamentos de eleição. A obtenção de fluido do coto distal ou do epidídimo para criopreservação pode ser realizada no momento da reconstrução, especialmente nos casos de anastomose envolvendo epidídimo, que carregam maior possibilidade de insucesso (20 a 40% de chance de gestação). Vale ressaltar que a reconstrução microcirúrgica, quando factível, apresenta maior custo-efetividade do que a aquisição de espermatozoides para ICSI. Nos casos em que não se obteve sucesso ou naqueles já submetidos a manipulações epididimárias, indica-se a aquisição de espermatozoides de pontos mais proximais do epidídimo (ou diretamente do testículo). Podem-se realizar a MESA (do inglês, *microsurgical epididymal sperm aspiration*), a PESA (do inglês, *percutaneous epididymal sperm aspiration*) e a extração diretamente de qualquer ponto do testículo (biópsias abertas ou por punção), visto que não há problemas intrínsecos do testículo ou de parte dele. Vale ressaltar que não há grande diferença nas taxas de fertilização e gravidez ao se comparar a origem dos espermatozoides (epidídimo × testículo) nos casos de azoospermia obstrutiva, mas se nota uma incidência de abortos significativamente maior quando do uso de espermatozoides testiculares (35% × 12%), tor-

nando clara a preferência por aqueles provenientes do epidídimo. Os espermatozoides obtidos dos pacientes portadores de azoospermia obstrutiva são, em geral, de melhor qualidade e toleram muito bem a criopreservação e a estocagem, independentemente da técnica utilizada para sua aquisição.

A azoospermia não obstrutiva é entidade mais desafiadora, resultado de incorreções em diversas esferas genéticas, orgânicas e ambientais. Pode decorrer, basicamente, de transtornos testiculares e extratesticulares. Os problemas extratesticulares (desbalanços hormonais, por exemplo) podem, em geral, ser corrigidos com resolução do quadro de azoospermia. No entanto, quando diante de alterações testiculares, torna-se extremamente difícil a obtenção de espermatozoides no ejaculado. Nesses casos, as possibilidades de obtenção de espermatozoides recaem sobre a busca de focos isolados de espermatogênese no interior dos testículos. Os gametas são, em geral, resultado de uma espermatogênese imperfeita, com baixa capacidade intrínseca de fertilização. São, no entanto, potencialmente suficientes para satisfazer os requisitos necessários para as técnicas atuais de reprodução assistida, em especial a ICSI, mas têm pouca capacidade de sobreviver com eficiência a um processo de criopreservação/descongelamento. A microdissecção testicular é a técnica mais utilizada e que até o momento se mostrou mais eficiente para a obtenção de espermatozoides nessas situações. A utilização da microdissecção é melhor para obtenção de espermatozoides, especialmente nos casos histologicamente desfavoráveis (síndrome de Sertoli, parada de maturação), uma vez que estudos controlados demonstraram que, em um terço dos casos em que foram encontrados espermatozoides por essa técnica, teria havido a falha de técnicas envolvendo múltiplas biópsias. Por causa do alto custo e da complexidade dessa técnica, bem como da impossibilidade de sua aplicação em massa, especialmente em nosso meio, pode-se utilizar uma ferramenta para triagem dos casos mais favoráveis à obtenção de espermatozoides. Pode-se realizar um “mapeamento” testicular ambulatorial, selecionando-se os casos com boas chances de encontro de espermatozoides. A técnica conhecida como FNA (do inglês, *fine needle aspiration*) presta-se muito bem a esse propósito.

É importante salientar que a utilização de técnicas sofisticadas de obtenção de espermatozoides implica suporte laboratorial para processar o material (do epidídimo, do testículo) com protocolos específicos e com pessoal altamente especializado e bem treinado, particularmente nas azoospermias não obstrutivas. É importante enfatizar também sobre a utilização da criopreservação como ferramenta auxiliar de suporte em todas as técnicas aqui expostas, com o intuito de maximizar um único procedimento. Cabe a observação de que os espermatozoides obtidos de pacientes portadores de azoospermia não obstrutiva são, em geral, de pior qualidade que os obtidos de portadores de azoospermia

obstrutiva. Toleram mal a criopreservação e, preferencialmente, devem ser usados frescos. Portanto, é fundamental o esclarecimento adequado do casal, visto que, idealmente, a retirada deve ser realizada um dia antes da punção ovariana. Tendo em vista a escassez quando do encontro de espermatozoides viáveis, faz-se imprescindível a criopreservação do remanescente desse material após o uso de parte dele a fresco. Não são indicadas as revisões das microdissecções, sendo, portanto, esse material extremamente valioso. O laboratório de andrologia deve estar qualificado e capacitado ao processamento desse tipo de material, e as equipes médicas, urológica e ginecológica devem trabalhar de maneira coesa e coordenada. Cabe, dessa forma, ao urologista a função de gerência e condução desses pacientes. Não se pode conduzi-los de modo simplista, adotando-se apenas o papel do recuperador de espermatozoides. É muito importante que o médico assistente tenha a clara percepção da dificuldade de obtenção de gametas dos portadores de azoospermia não obstrutiva, jamais equiparando as condutas às tomadas com relação aos portadores de azoospermia obstrutiva.

O intuito deste capítulo é a exposição dessas técnicas principais, sempre considerando a reconstrução como a principal ferramenta de tratamento das azoospermias obstrutivas, oferecendo à aquisição de gametas papel adjuvante ou subsequente a ela e reiterando o caráter desafiador do tratamento das azoospermias não obstrutivas e a importância da disponibilidade da criopreservação, tendo em vista a escassez de gametas nesses casos.

Considerações sobre Criopreservação de Espermatozoides

Todas as células vivas contêm água e, portanto, podem ser criopreservadas com sucesso, ou seja, acondicionadas sob baixíssimas temperaturas com preservação de suas características e funções, se forem resfriadas em nitrogênio líquido (N_2L) a $-196^\circ C$. Isso significa que as células toleram a exposição a temperaturas não fisiológicas e a mudança do estado líquido para o sólido, já que o gelo se forma em uma temperatura pouco abaixo de $0^\circ C$.

Os danos sofridos pelas células durante a criopreservação estão diretamente ligados à velocidade de resfriamento e aquecimento das células. Existe a hipótese de que o dano celular seja causado pela formação de gelo intracelular, associada a velocidades de resfriamento muito rápidas. Uma taxa de resfriamento relativamente alta não permite que haja tempo para que uma quantidade suficiente de água intracelular se difunda extracelularmente e impeça a formação do gelo intracelular. Por outro lado, uma taxa de resfriamento relativamente lenta faz que uma quantidade excessiva de água intracelular se difunda osmoticamente para fora das células, onde se congela, produzindo concen-

trações muito altas de soluto intracelular, causando atrofia celular. Qualquer um desses eventos pode causar dano aos espermatozoides, confirmando a hipótese de que coexistem dois fatores de lesão decorrentes de baixas temperaturas para os espermatozoides humanos. Portanto, a velocidade de resfriamento e de aquecimento trabalha em combinação para uma taxa de sobrevivência celular ideal.

Quando alguns componentes são adicionados ao meio de criopreservação, a relação entre sobrevivência e temperatura pode ser drasticamente alterada. A sobrevivência das células e dos tecidos vivos criopreservados depende, em grande parte, do meio de crioproteção. Dessa maneira, a utilização de um agente crioprotetor é indispensável para prevenir danos ao espermatozoide humano durante o processo de criopreservação. Como exemplo, podem-se citar o glicerol, o sulfóxido de dimetila e os meios comerciais disponíveis baseados na adição de macromoléculas não permeáveis, como o *TEST-yolk buffer*, uma combinação de TES [N-Tris (hidroximetil) ácido sulfônico metil-2-aminoetano] e Tris [(hidroximetil) aminoetano] (designado como TEST), juntos com gema fresca de ovo, dextrose e combinação de penicilina-estreptomicina. Portanto, a escolha de um meio crioprotetor para os espermatozoides deve ser direcionada para o aperfeiçoamento da capacidade de manter a integridade celular e sua função durante o processo de criopreservação e descongelamento. Contudo, a criopreservação do sêmen humano resulta em diminuição da motilidade espermática, danos estruturais e funcionais, como perda acrossômica e diminuição da penetração em oócitos de *hamster*. Essas habilidades representam parâmetros importantes para avaliar o potencial de fertilização dos espermatozoides criopreservados. Parte dos danos pode ser atribuída a lesões osmóticas como resultado do meio crioprotetor. Isso é consequência direta da entrada do agente crioprotetor na célula antes do congelamento e de sua remoção durante o processo de descongelamento.

Ênfase tem sido dada à sobrevivência celular relacionada a eventos físico-químicos que envolvem os processos de criopreservação e descongelamento. Em geral, a sobrevivência celular tem sido definida pela preservação da membrana plasmática (por exemplo, ausência de hemólise nas células vermelhas) ou pela capacidade de a célula crescer e desenvolver-se subsequentemente. A preservação da membrana plasmática é um fenômeno necessário para a sobrevivência celular; entretanto, em células altamente complexas, a simples preservação da membrana plasmática não é suficiente. Preservar a função celular é o evento-chave para um procedimento de criopreservação com êxito, sendo os espermatozoides exemplos de células altamente complexas; dentro do envoltório da membrana plasmática, encontram-se outras organelas, essenciais para o funcionamento celular.

A avaliação da função celular em amostras de sêmen criopreservado ganhou importância, especialmente após a

introdução da ICSI. Na realidade, o único fator preditivo de sucesso em um ciclo de ICSI é a presença de um único espermatozoide móvel para cada oócito obtido da parceira, já que os resultados não dependem de qualquer outro parâmetro básico do sêmen. Além disso, progressos nas técnicas de criopreservação permitem que se congelem poucos ou até um único espermatozoide dentro da zona pelúcida vazia de um oócito de *hamster*. Consequentemente, até mesmo amostras de sêmen de péssima qualidade e de tecido testicular podem atualmente ser criopreservadas com sucesso. Dessa forma, podem-se aumentar as chances de sucesso em reprodução assistida com o uso de espermatozoides criopreservados, especialmente nos casos de azoospermia não obstrutiva com volume testicular diminuído, em que o testículo não pode sofrer diversas intervenções para obtenção de espermatozoides.

Outra razão pela qual é importante compreender as etapas fisiológicas que se sucedem à imersão em nitrogênio líquido é o fato de que se poderiam determinar as principais características do sêmen que influenciam a viabilidade e a capacidade funcional e fértil do espermatozoide. No entanto, sabe-se que as taxas de gravidez com espermatozoides criopreservados são inferiores às de gestação com espermatozoides frescos. Isso pode dever-se ao fato de que ocorrem lesões subletais na membrana plasmática do espermatozoide e nas suas organelas durante os processos de criopreservação e descongelamento. Sabe-se também que, entre as principais causas de redução de fertilidade do sêmen criopreservado, estão as lesões ocorridas na região acrossômica durante o processo de criopreservação e descongelamento.

Sob o ponto de vista físico-químico, verificou-se que existe relação recíproca entre as concentrações de potássio e de sódio nos espermatozoides e no plasma seminal. Os espermatozoides possuem alta concentração de potássio e baixa de sódio, porém o plasma seminal possui nível baixo de potássio e alto de sódio. A análise dos valores esperados para parâmetros bioquímicos no plasma seminal mostra alterações justificadas pela lesão da membrana espermática (bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$) e, portanto, pode ser mais uma das causas de fertilidade diminuída nas amostras de sêmen criopreservado.

Por fim, o processo de criopreservação pode causar estresse oxidativo e lesão na membrana plasmática do espermatozoide. Um efeito consistente da criopreservação é a perda da atividade da enzima de defesa antiperoxidativa, a superóxido dismutase (SOD). Como consequência, procedimentos utilizados para a criopreservação do sêmen podem causar aumento na produção de radicais livres de oxigênio (ROS), não apenas pelos espermatozoides, mas também pelos leucócitos presentes no plasma seminal. A remoção dos leucócitos das amostras de sêmen por meio de técnicas de processamento seminal, ou o tratamento com antioxidantes anteriormente à criopreservação, pode aumentar a viabilidade e a função dos espermatozoides.

Técnicas Cirúrgicas

MESA

A técnica conhecida como MESA é uma evolução da aspiração epididimária convencional, utilizando microscópio cirúrgico. Aqui, o objetivo é a captação de espermatozoides do epidídimo com uso de magnificação, escolhendo a melhor região por intermédio do exame visual dos túbulos seminíferos, evitando trauma desnecessário e minimizando as complicações e possibilitando criopreservação eficiente de grande quantidade de espermatozoides para uso em vários ciclos de reprodução assistida, evitando-se múltiplas e dolorosas punções ou biópsias nesses pacientes.

Como em todos os procedimentos que exigem o uso de magnificação com microscópio, prefere-se a anestesia geral, que, além de proporcionar maior conforto ao paciente, garante a imobilidade e a estabilidade totais do campo cirúrgico, o que confere a precisão necessária. Acessa-se o epidídimo mediante escrototomia convencional e abertura da túnica vaginal, obtendo exposição ampla e segura. O microscópio é trazido ao campo e, a partir daí, são utilizados os instrumentais microcirúrgicos. Com o eletrocautério bipolar em baixa potência de coagulação e sem corte algum, procede-se à cauterização dos pequenos vasos da bainha epididimária. Utilizando-se a tesoura microcirúrgica e sem o emprego de pinças de preensão, abre-se a bainha (Fig. 25.1) e expõem-se os túbulos. Pode ser realizada hemostasia cuidadosa (Fig. 25.2). Suave pressão digital é aplicada no epidídimo, de forma a extrair os túbulos pela incisão realizada. O exame visual é realizado, descartando-se túbulos fibrosados ou esclerosados. Escolhe-se um túbulo de aspecto saudável e pratica-se a secção com tesoura (Figs. 25.3 e 25.4), sem o uso de pinça. Recolhe-se o fluido com o uso de uma lâmina (Fig. 25.5) e lamínula estéreis e envia-se ao exame microscópico a fresco. Se o fluido apresentar espermatozoides viáveis, procede-se à aspiração do fluido propriamente dito, utilizando um cateter vascular periférico (Jelco ou Angiocath) 24 gauge ou mais fino – 27 gauge (Fig. 25.6), acoplado a uma seringa de insulina. A suave compressão sobre o epidídimo é mantida e o cateter é inserido na incisão, aplicando-se aspiração na seringa, até obtenção de quantidade apreciável de fluido. Uma vez concluída a operação, acondiciona-se o fluido em meio adequado para criopreservação (HTF ou HTF-HEPES) ou utiliza-o a fresco, conforme o protocolo adotado. O túbulo pode ser fechado com sutura de *nylon* 10-0 e a incisão da bainha epididimária, com sutura de *nylon* 9-0. Dessa forma, reconstrói-se o epidídimo de forma anatômica, possibilitando até mesmo futuras reintervenções no mesmo local. A escrototomia é então fechada por planos, com fios absorvíveis monofilamentados.

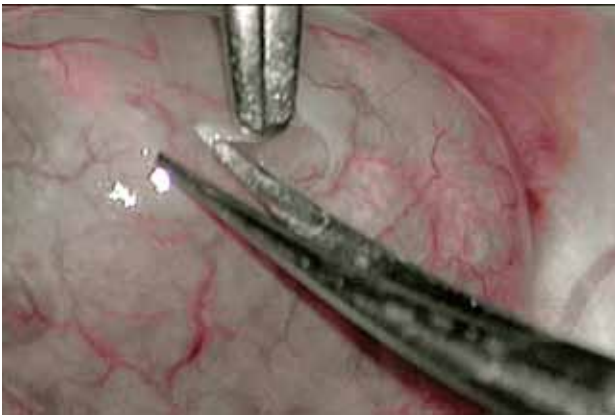


Figura 25.1 – Abertura da bainha epididimária com tesoura. Observam-se, por transparência, alguns túbulos ingurgitados.



Figura 25.2 – Cauterização de único vaso com eletrocautério bipolar em baixa potência. Notar a irrigação contínua, que viabiliza a individualização e permite a realização da manobra sem trauma inadvertido.



Figura 25.3 – Os túbulos são expostos. Notar túbulos vazios e túbulos ingurgitados. Esses últimos têm preferência para a exploração.



Figura 25.4 – O túbulo escolhido é seccionado. O fluido é liberado à medida que se aplica suave compressão manual no epidídimo.



Figura 25.5 – O material é colhido em uma lâmina de microscópio, coberto por laminula e submetido a exame a fresco em microscópio óptico.



Figura 25.6 – A aspiração propriamente dita é realizada. O material é acondicionado em meio adequado para criopreservação ou processado para uso imediato em reprodução assistida.

PESA

A obtenção de espermatozoides pode ser realizada por meio de técnica mais simples e barata, não se utilizando técnica microcirúrgica. Tem utilização ampla pelo menor custo (sem microcirurgia e sem anestesia geral), mas não apresenta resultados melhores de obtenção de espermatozoides com qualidade e ainda causa, potencialmente, maiores lesões ao trato reprodutivo que a MESA, pois é possível puncionar área com grande quantidade/concentração de leucócitos polimorfonucleares ou áreas com altas taxas de espermatozoides em processo de fagocitose, espermatozoides com lesão subletal ou com níveis elevados de radicais livres de oxigênio nas proximidades da punção.



Figura 25.7 – Após estabilização do epidídimo, procede-se à punção da cabeça do órgão. O *butterfly 21 gauge* deve estar acoplado a uma seringa de 20mL, empunhada pelo auxiliar.



Figura 25.8 – Uma vez puncionada a cabeça do epidídimo, o auxiliar aplica o vácuo ao sistema, obtendo o fluido. Observar que todo o procedimento é realizado adotando-se medidas assépticas cirúrgicas completas.

Pode-se realizar a aspiração percutânea do epidídimo com anestesia local, tipicamente obtida após bloqueio do cordão espermático. A cabeça do epidídimo deve ser apreendida entre o polegar e o indicador da mão não dominante do cirurgião, de forma a mantê-la estável e acessível (Fig. 25.7). A seguir, introduz-se cuidadosamente a agulha de um *butterfly 21 gauge* acoplado a uma seringa de 20mL, retirando-a lentamente enquanto é aplicada aspiração pelo auxiliar, até que se obtenha fluido (Fig. 25.8). Repete-se o procedimento parcimoniosamente, até que se obtenha quantidade adequada de líquido.

Com esse método, obtém-se menor quantidade de espermatozoides e muitas vezes o fluido mostra-se contaminado por células sanguíneas, sendo improvável a criopreservação com sucesso, além da probabilidade de fibrose epididimária e da impossibilidade de reconstruções futuras.

Biópsias Testiculares

Em determinadas situações, o cirurgião pode se deparar com um estado de fibrose epididimária exuberante, inviabilizando a aquisição de espermatozoides no epidídimo. Considerando a etiologia obstrutiva da azoospermia (especialmente nos pacientes cuja obstrução tenha sido causada por vasectomia), pode-se pressupor que a espermatogênese está preservada em todo o testículo e, portanto, podem-se obter espermatozoides diretamente do parênquima testicular, por meio de biópsias aleatórias. Procede-se à exposição testicular à mesma moda já descrita, obtendo ótima visão de todo o testículo.

Escolhe-se uma área avascular da superfície da túnica albugínea. Aplica-se um ponto simples com fio de polipropileno 5-0, tomando-se o cuidado de manter o fio íntegro e longo. Utiliza-se esse fio para apresentação do testículo, com leve tensão. Incisa-se a túnica albugínea radialmente ao ponto, com lâmina 11, por cerca de 1cm. Vale lembrar que essa manobra de apresentação é particularmente útil quando se está diante de uma biópsia diagnóstica praticada por meio de incisão econômica. Nos casos habituais, com exposição testicular ampla, pode-se incisar a albugínea sem a apresentação com fio (Fig. 25.9), deixando para o término do procedimento a aplicação de qualquer sutura. Leve divulsão sob a albugínea (Figs. 25.10 e 25.11) é realizada empregando-se pinça de Halsted, seguida de compressão suave sobre testículo, a fim de extrair o parênquima. O tecido é removido com incisão única, com tesoura tipo Iris curva (Fig. 25.12), sem apreensão com pinça, e acondicionado adequadamente para processamento e criopreservação. Eventual sangramento do parênquima é coibido com cauterização monopolar em baixa potência de coagulação (Fig. 25.13), utilizando a caneta do eletrocautério montada com ponta do tipo agulha, de maneira moderada. Uma vez obtida a hemostasia, pratica-se o fechamento da abertura da albugínea, com pontos contínuos, utilizando material convencional (Figs. 25.14 a 25.16). Tendo em vista que o objetivo



Figura 25.9 – Pratica-se a incisão na albugínea com lâmina 11, evitando áreas vascularizadas.



Figura 25.10 – Compressão manual suave é aplicada no testículo, promovendo leve extrusão do parênquima.

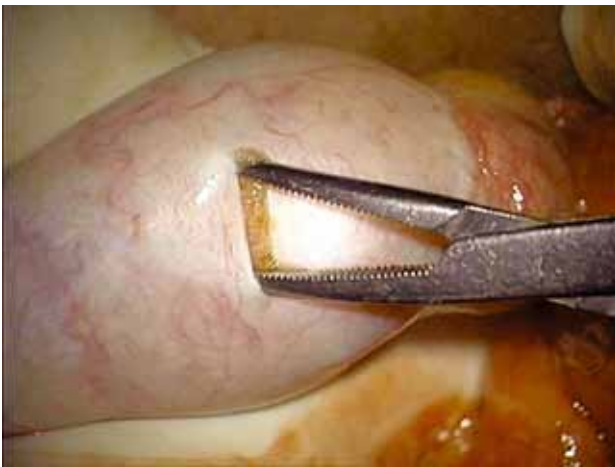


Figura 25.11 – Divulsão delicada com pinça de Halsted promove extrusão adicional.



Figura 25.12 – Incisa-se o parênquima sem apreensão com pinça, evitando a destruição de túbulos.

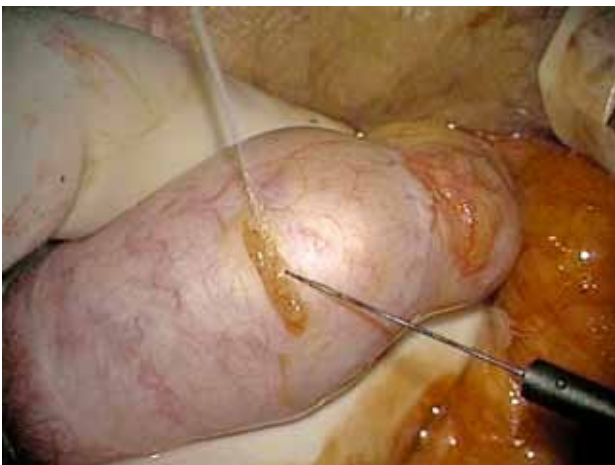


Figura 25.13 – Irriga-se o campo para facilitar a hemostasia delicada, realizada com eletrocautério monopolar, preferencialmente armado com ponteira tipo “agulha”.

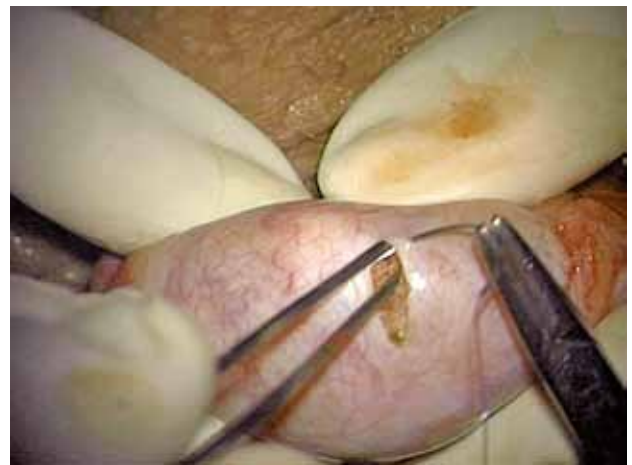


Figura 25.14 – Deve-se tomar cuidado especial com as estruturas testiculares. Ergue-se a albugínea sem pinçamento para a passagem dos pontos.



Figura 25.15 – Deve-se aplicar sutura contínua simples, de modo a obter o fechamento hermético, sem deixar o parênquima testicular exteriorizado.

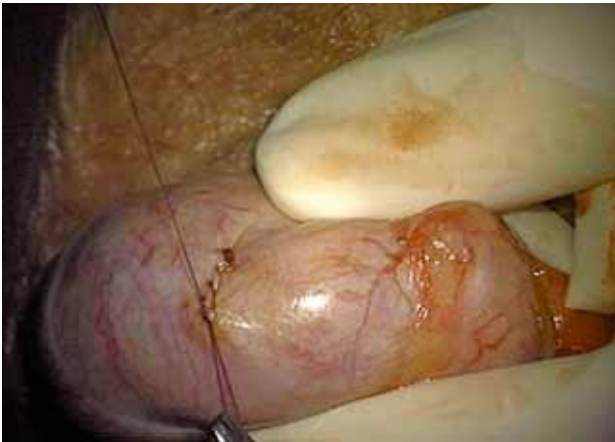


Figura 25.16 – Aspecto final da biópsia testicular.

dessas biópsias é a obtenção de tecido reprodutivo, e não apenas o diagnóstico, podem-se realizar duas a três incisões adicionais para atingir quantidade suficiente de tecido para a finalidade proposta. Findado o procedimento, segue-se com o fechamento da escrototomia, conforme já descrito.

A obtenção de espermatozoides intratesticulares pode ser realizada por via percutânea, mediante punções/biópsias às cegas. A técnica promove a obtenção do tecido reprodutivo de maneira eficiente e rápida, mas à custa de maior morbidade e risco a um órgão saudável. Em nosso meio, não são empregadas rotineiramente as técnicas percutâneas de acesso ao testículo.

Microdissecção Testicular

Pode ser seguramente descrita como a maior inovação dos últimos anos no campo da obtenção de espermatozoides em pacientes portadores de azoospermia não obstrutiva.

Esses pacientes foram, por muito tempo, declarados definitivamente inférteis, sendo o uso de sêmen de doador e a adoção as únicas alternativas viáveis a eles. Essa técnica inovadora e elegante descrita por Schlegel possibilita a identificação de focos mínimos de espermatogênese no interior do testículo, com baixo comprometimento da arquitetura tecidual e remoção da menor quantidade de parênquima possível, mesmo quando comparada a técnicas que empregam agulhas para a extração.

Dentre todas as técnicas já descritas, a microdissecção testicular é a que exige maior *expertise* em microcirurgia e grande familiaridade com a anatomia microscópica do parênquima testicular. Emprega, para o acesso intratesticular, o conhecimento preciso da distribuição arterial do órgão e o uso de dissecação tubular atraumática e extremamente cuidadosa com pinças microcirúrgicas. O material obtido é, não raro, escasso, e a equipe deve estar preparada para o processamento do tecido e o emprego imediato – ou para a criopreservação e o uso posterior.

O testículo é exteriorizado via escrototomia convencional, com ampla exposição. Eventuais aderências entre o testículo e a túnica vaginal devem ser cuidadosamente desfeitas, de tal sorte a obter livre manipulação do órgão. O local de incisão da túnica albugínea deve ser escolhido e demarcado com caneta apropriada (Figs. 25.17 a 25.19). O sentido da incisão deverá ser o laterolateral, de uma borda a outra do epidídimo, em posição centralizada, obedecendo ao sentido da irrigação arterial do testículo. Praticam-se a incisão sobre a túnica albugínea utilizando bisturi lâmina 11, evitando o trauma inadvertido do parênquima (Figs. 25.20 e 25.21). Cauterizam-se os vasos sangrantes da albugínea com o eletrocautério bipolar em baixa potência de coagulação, sempre sob irrigação com solução salina (Fig. 25.22). Parte-se, então, para a exposição do parênquima, mediante manobra manual. Apoia-se o testículo sobre os dedos médio e indicadores de ambas as mãos e apreendem-se as bordas da incisão da albugínea com as polpas digitais dos dedos polegares (Fig. 25.23). O testículo é então aberto, afastando-se as bordas da albugínea, expondo-se o parênquima até a proximidade da *rete testis* (Figs. 25.24 e 25.25). A partir da abertura, todos os tempos são realizados, mantendo-se o parênquima sob irrigação contínua com solução salina. O campo cirúrgico é então colocado sob a magnificação do microscópio cirúrgico e inicia-se a microdissecção propriamente dita, bem como a exploração dos túbulos (Figs. 25.26 e 25.27). Nesse momento, é primordial ao cirurgião estar acostumado com o aspecto das diferentes situações dos túbulos. Deve-se evitar a extração de túbulos esclerosados, fibrosados ou vazios. Buscam-se focos de espermatogênese preservada, traduzida por túbulos claros e de calibre maior (Fig. 25.28). Uma vez identificada a região de interesse, extrai-se a quantidade necessária de túbulos mediante tração delicada com pinças microcirúrgicas, evitando a dissecação cortante (Figs. 25.29 a 25.33). O tecido deve ser amplamente irrigado e a hemostasia, sempre que necessário, realizada



Figura 25.17 – Aspecto de testículo de paciente portador de azoospermia não obstrutiva. Notar região fibrótica secundária a biópsia testicular prévia, realizada adequadamente. Não há retrações nem aderências com a túnica vaginal.



Figura 25.18 – Os testículos de pacientes portadores de azoospermia não obstrutiva habitualmente apresentam dimensões reduzidas. Neste caso, o maior eixo é inferior a 3cm.



Figura 25.19 – Demarcação é feita no local da incisão, evitando-se áreas muito vascularizadas. Eventuais vasos a serem evitados também podem ser demarcados.



Figura 25.20 – Inicia-se a incisão com lâmina 11, evitando-se lesões ao parênquima.



Figura 25.21 – Prossegue-se a incisão no sentido laterolateral, até a proximidade do epidídimo. Irrigação com solução salina deve ser aplicada sempre, mantendo o parênquima umedecido.



Figura 25.22 – Hemostasia sob irrigação deve ser realizada com electrocautério bipolar. Essa técnica permite a visão exata dos pontos sangrantes.



Figura 25.23 – O testículo é posicionado entre os dedos polegares e indicadores de ambas as mãos do cirurgião.



Figura 25.24 – Abre-se manualmente o testículo no sentido longitudinal.



Figura 25.25 – Aspecto do parênquima testicular bipartido, com mínimo sangramento.



Figura 25.26 – Visualização panorâmica do parênquima.



Figura 25.27 – Visão do parênquima testicular com magnificação. Evidenciam-se claramente os túbulos, todos vazios, com pequeno calibre, sendo alguns esbranquiçados, provavelmente esclerosados. Veem-se os vasos sanguíneos individualmente.



Figura 25.28 – Em meio a túbulos finos, vê-se uma região contendo túbulos mais ingurgitados (*próxima à pinça*), possivelmente correspondente ao foco de espermatogênese preservada.

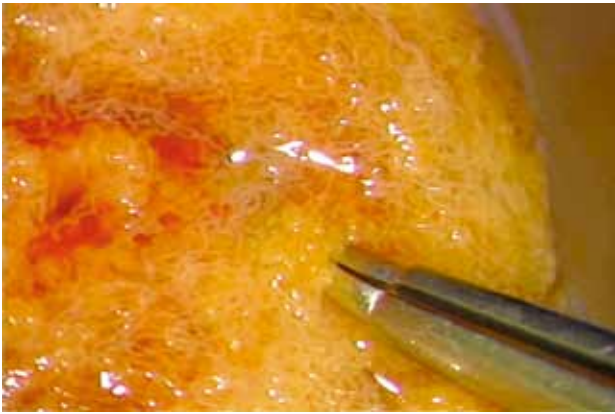


Figura 25.29 – A área é dissecada rombamente.

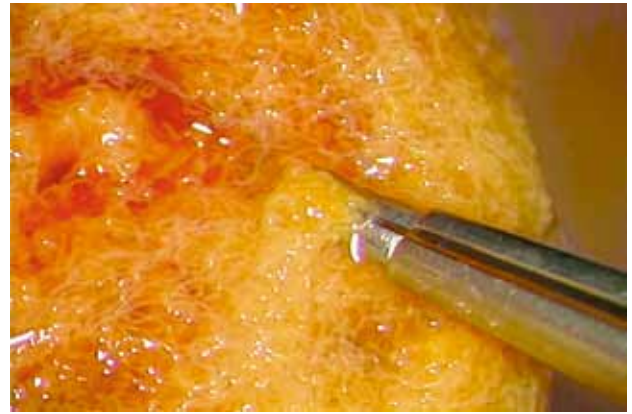


Figura 25.30 – Apreende-se a área de interesse pelos túbulos adjacentes, evitando trauma ao potencial foco de espermatogênese.

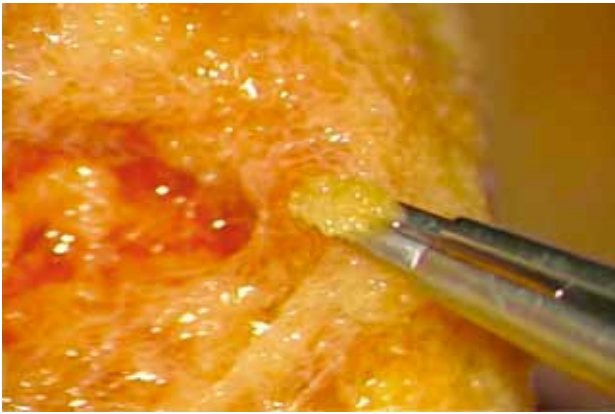


Figura 25.31 – Remoção da área mediante discreta tração.



Figura 25.32 – Alternativamente, podem-se sectionar áreas adjacentes à região de interesse.



Figura 25.33 – Aspecto da região removida. Notar o grande número de túbulos.



Figura 25.34 – Aspecto final do testículo após a exploração de todo o parênquima.

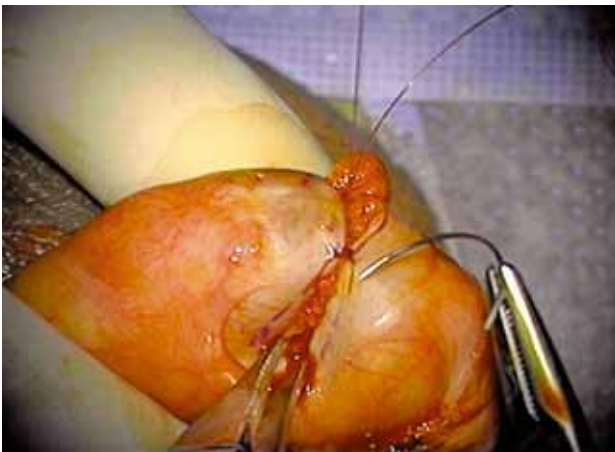


Figura 25.35 – O fechamento é realizado mediante sutura da albugínea apenas. Inicia-se com ponto na linha média da incisão. O parênquima é mantido invertido com o auxílio de pinças.



Figura 25.36 – Sutura contínua é aplicada até um dos ângulos da incisão. Fecha-se a metade contralateral à mesma moda.



Figura 25.37 – Aspecto final do testículo após conclusão da microdissecção.

com cuidado e moderação com cauterio bipolar. Assim que a etapa de extração de tecido estiver concluída, o testículo deverá ser fechado. As bordas da incisão da albugínea estarão amplamente separadas e desalinhadas nesse momento (Fig. 25.34). Para viabilizar a síntese, aplica-se um ponto simples com fio absorvível monofilamentar 4-0 (utilizamos poliglecaprona) no ponto médio da incisão, aproximando bem as bordas (Fig. 25.35). A seguir, passa-se ao fechamento hermético da albugínea, utilizando sutura contínua simples com o mesmo fio, de um ângulo a outro, tomando-se cuidado para posicionar todo o parênquima no interior do testículo (Figs. 25.36 e 25.37). Realiza-se, então, a síntese da escrototomia à moda usual.

Aspiração com Agulha Fina

Diante do desafio de melhor conhecimento da distribuição individual dos focos de espermatogênese entre portadores de azoospermia não obstrutiva e das possíveis falhas quando da aplicação liberal da microdissecção testicular, Turek descreveu uma ferramenta interessante e objetiva para o “mapeamento” testicular individual. Por meio de biópsias sistemáticas por aspiração utilizando agulhas finas em ambos os testículos, obtém-se uma pormenorização extremamente útil da distribuição dos potenciais focos de espermatogênese. Encontram-se espermatozoides viáveis em até 27% dos pacientes nos quais a biópsia testicular convencional falhou. Quando realizada de maneira sistemática, ou seja, aplicada a todos os portadores de azoospermia não obstrutiva, podem-se identificar pacientes com maiores chances de obtenção de espermatozoides por meio da microdissecção. Quando lembramos que a microdissecção testicular constitui técnica mais complexa, com necessidade de anestesia geral e grande experiência com microcirurgia, torna-se muito valioso conhecermos quais os pacientes que

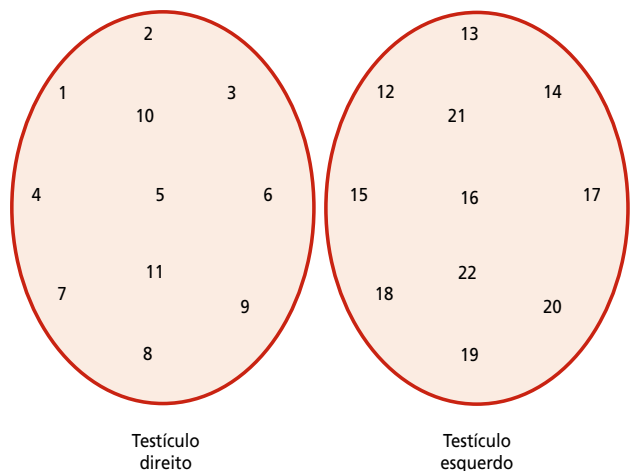


Figura 25.38 – Mapeamento dos testículos com pontos onde serão realizadas as punções.

realmente se beneficiarão com a sua aplicação. É interessante ressaltar que a FNA constitui boa ferramenta de diagnóstico e mapeamento, prestando-se adequadamente para a seleção dos pacientes a serem mais profundamente manipulados. O material aspirado deve ser analisado e interpretado por patologista habituado com o método. Quando essa condição é satisfeita, é obtida uma correlação de até 94% entre o material aspirado e o corte histológico propriamente dito.

Esse “mapeamento” pode ser realizado em caráter ambulatorial, desde que satisfeitas as condições de assepsia e antissepsia adequadas. Praticam-se a sedação e a anestesia local por meio de bloqueio do cordão espermático, bilateralmente. O auxiliar promove a preensão e a estabilização do testículo com as duas mãos, de forma a manter a pele do escroto esticada e imóvel e o epidídimo voltado posteriormente. Os pontos a serem abordados são demarcados sobre a pele, conforme a Figura 25.38, totalizando 22 sítios de punção.

A seguir, o cirurgião, munido de agulha 23 gauge instalada em seringa de 10mL, estando o conjunto acoplado em instrumento citoaspirador (Figs. 25.39 e 25.40), inicia o procedimento propriamente dito. Cada ponto é puncionado e, mantendo-se o vácuo, aplicam-se 10 a 30 movimentos de incursão/excursão, de modo a obter material adequado. Cada material é utilizado individualmente para a confecção de um esfregaço em lâmina, que é fixado com álcool 95%, imediatamente, seguindo-se a coloração Papanicolaou padrão. Suave compressão é então utilizada sobre o sítio de punção para hemostasia.



Figura 25.39 – Equipamento utilizado para FNA: citoaspirador, seringa de 10mL e agulha 23 gauge. FNA = *fine needle aspiration*.



Figura 25.40 – Conjunto montado, pronto para aspiração de material testicular. A empunhadura deve ser a da mão dominante.

Agradecimentos

Os autores gostariam de registrar especial agradecimento ao Dr. Fábio César Miranda Torricelli, pela valiosa colaboração com a elaboração deste capítulo.

Leitura Complementar

- BUFFAT, C. et al. ICSI outcomes in obstructive azoospermia: influence of the origin of surgically retrieved spermatozoa and the cause of obstruction. **Hum. Reprod.**, v. 21, n. 4, p. 1018-1024, 2006.
- CRAFT, I.; TSIRIGOTIS, M. Simplified recovery, preparation and cryopreservation of testicular spermatozoa. **Hum. Reprod.**, v. 10, n. 7, p. 1623-1626, 1995.
- HALLAK, J.; SHARMA, R. K.; FITZHUGH, M. T. Cryopreservation of human spermatozoa: comparison of test-yolk buffer and glycerol. **Int. J. Fertil. Women's Health**, v. 45, n. 1, p. 38-42, 2000.
- HALLAK, J.; KOLETTIS, P. N.; SEKHON, V. S. Sperm cryopreservation in patients with testis cancer. **Urology**, v. 54, n. 5, p. 894-899, 1999.
- LIN, Y. M. et al. Percutaneous epididymal sperm aspiration versus microsurgical epididymal sperm aspiration for irreparable obstructive azoospermia-experience with 100 cases. **J. Formos. Med. Assoc.**, v. 99, n. 6, p. 459-465, 2000.
- MENG, M. V. et al. Testicular fine-needle aspiration in infertile men: correlation of cytologic pattern with biopsy histology. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 25, n. 1, p. 71-79, 2001.
- PAVLOVICH, C. P.; SCHLEGEL, P. N. Fertility options after vasectomy: a cost-effectiveness analysis. **Fertil. Steril.**, v. 67, p. 133-141, 1997.
- PRACTICE COMMITTEE OF AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Sperm retrieval for obstructive azoospermia. **Fertil. Steril.**, v. 90 (5 Suppl), S213-S218, 2008 (Review).
- SCHLEGEL, P. N.; LI, P. S. Microdissection TESE: sperm retrieval in non-obstructive azoospermia. **Hum. Reprod. Update**, v. 4, p. 439, 1998.
- TUREK, P. J. et al. Diagnostic findings from testis fine needle aspiration mapping in obstructed and nonobstructed azoospermic men. **J. Urol.**, v. 163, n. 6, p. 1709-1716, 2000.

