

# ارزیابی اسپرمتوزن در آزواسپرمیای غیر انسدادی بوسیله دو روش هیستوپاتولوژی و سیتولوژی

محمد مهدی آخوندی (Ph.D.)<sup>۱،۲</sup>، محمد علی صدیقی گیلانی (M.D.)<sup>۳،۴</sup>، ناصر امیرجنتی (M.D.)<sup>۲</sup>.

۱- عضو تیم تخصصی، گروه جنین‌شناسی، پژوهشکده رویان، تهران، ایران.

۲- استادیار، گروه پژوهشی غدد تولیدمثل و جنین‌شناسی، پژوهشکده ابن‌سینا، تهران، ایران.

۳- عضو تیم تخصصی، گروه آندروولوژی، پژوهشکده رویان، تهران، ایران.

۴- استادیار، بخش اورولوژی، بیمارستان شریعتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران.

## چکیده

توانایی استفاده از تعداد اندک اسپرم بدست آمده از بافت بیضه با تکنیک میکرواینجکشن برای دستیابی به لقاح و حاملگی، انقلابی در درمان ناباروری بیماران آزواسپرم فراهم آورده است. در بیماران دچار آزواسپرمی غیرانسدادی، اسپرمتوزن مختل و دستیابی به اسپرم مشکل می‌باشد. در این پژوهش با ارزیابی اسپرمتوزن در آزواسپرمیای غیر انسدادی بوسیله دو روش هیستوپاتولوژی و سیتولوژی، تلاش شده است تا روشی حساستر و مطمئن‌تر ارائه شود و بدین ترتیب شانس درمان بوسیله میکرواینجکشن در این بیماران بالا رود. این پژوهش بصورت آینده نگر بر روی ۸۶ بیمار مبتلا به آزواسپرمی غیرانسدادی صورت گرفته است. ابتدا شرح حال و معاینه فیزیکی و سپس بررسی هورمونی از جمله اندازه‌گیری FSH انجام شد. ۳۶ بیمار قبل از مطالعه، گزارش پاتولوژی بیضه داشتند. بیماران تا حصول اسپرم/ اسپرمتاید تحت عمل بیوپسی باز متعدد و دو طرفه بیضه قرار گرفتند. نیمی از هر نمونه بیوپسی تحت بررسی سیتولوژی (TESE) به روش مکانیکالی و آنزیمی قرار گرفت و نیم دیگر آن برای بررسی به پاتولوژی (TBx) ارسال شد. میانگین سن مردان  $37 \pm 7/2$  سال (۵۹-۲۵) و همسرانشان  $32 \pm 1$  (۴۲-۲۳) سال و میانگین مدت نازایی  $7 \pm 1/8$  سال و میانگین حجم بیضه راست  $16/4$  ml و بیضه چپ  $16/2$  ml و میانگین FSH،  $18 \pm 2$  mIU/ml بود. در بررسی سیتولوژیک ۶۵ بیمار دارای اسپرمتوزوآ و ۱۸ داری بیمار اسپرمتاید بودند؛ ولی در پاتولوژی ۵۱ بیمار اسپرم و ۱۶ بیمار اسپرمتاید داشتند. در این مطالعه رابطه بررسی هیستوپاتولوژی با دسترسی به اسپرم/ اسپرمتاید در TESE دارای حساسیت ۸۰٪ و ارزش پیشگویی منفی ۱۵٪ بود. ۶۱ بیمار دارای اسپرم/ اسپرمتاید کافی برای انجام ICSI بودند که با انجام ۵۷ مورد انتقال جنین، ۷ مورد حاملگی بالینی دیده شد. بدین ترتیب بررسی روند اسپرمتوزن در مردان با آزواسپرمیای غیرانسدادی به روش TESE، حساستر و مطمئن‌تر از هیستوپاتولوژی می‌باشد و حتی در مواردیکه نتیجه پاتولوژی منفی است می‌تواند در تصمیم‌گیری درمان ناباروری دخیل باشد.

**کل واژگان:** آزواسپرمیای غیر انسدادی، بیوپسی باز بیضه، هیستوپاتولوژی بیضه، بازیافت اسپرم از نسج بیضه و میکرواینجکشن.

آدرس مکاتبه: دکتر محمد مهدی آخوندی، گروه غدد تولیدمثل و جنین‌شناسی، پژوهشکده ابن‌سینا، اوین، صندوق پستی ۱۷۷-۱۹۸۳۵، تهران، ایران.

پست الکترونیک: Akhondi@avesina.org

## مقدمه

رود میکرواینجکشن (ICSI)<sup>۱</sup> در زمرهٔ درمان‌های (ART)<sup>۲</sup> امکان باروری زوج‌هایی با مشکل آواسپرمیای غیرانسدادی<sup>۳</sup> را، که تا آن زمان غیر قابل درمان بنظر می‌رسید، فراهم ساخت. آواسپرمیای غیرانسدادی در واقع نارسایی اولیهٔ بیضه بدلائل اختلالات کروموزومی، مادرزادی، عفونی، بدخیمی، شیمی‌درمانی، اشعه درمانی و یا با دلایل ناشناخته است که اسپرم‌سازی را تا حد زیادی متوقف می‌کند. لذا در این بیماران امکان بررسی و مشاهدهٔ اندک اسپرم‌های موجود در کانونهای اسپرم‌ساز بیضه در انزال وجود ندارد (۱). اگرچه توانایی باروری اسپرم حاصل از بیضه بسیار کمتر از اسپرم حاصل از انزال، که مراحل بلوغ را در پی دیدیم طی نموده است، می‌باشد (۲ و ۳). بکارگیری روش‌های پیشرفتهٔ درمان ناباروری از قبیل میکرواینجکشن، امکان تزریق اسپرم حاصل از بیوپسی بیضه را فراهم کرده و بدین ترتیب امکان بارور نمودن تخمک و باروری زوجی که تا چندی پیش داشتن فرزند برای آنها متصور نبود، حاصل شده است. در چنین شرایطی حضور اسپرم در داخل بیضه حتی در تعداد اندک تعیین‌کننده خواهد بود و انتخاب بهترین روش بدست آوردن تعداد محدود اسپرم، از بیضه‌ای که نارسایی اولیه دارد ولی اسپرماتوژنز بصورت کانونهای معدودی در بیضه وجود دارد، برای درمان زوج نابارور با اهمیت خواهد بود. لازم به توضیح است که وجود اسپرم به تنهایی برای حصول به لقاح تخمک و حاملگی کفایت نمی‌کند و شرایطی نظیر سن همسر و وجود تخمک با کیفیت مطلوب نیز تعیین‌کننده خواهد بود. تلاش‌های زیادی برای تعیین عوامل پیشگویی‌کنندهٔ حضور اسپرم در بیضه صورت گرفته است. بررسی‌های کلینیکی نشان می‌دهد که بین حجم بیضه و

دستیابی به اسپرم از طریق بازیافت اسپرم از نسج بیضه (TESE)<sup>۴</sup> ارتباطی وجود ندارد (۵، ۶). البته در حجم‌های کمتر از *o ml* دستیابی به اسپرم بطور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۶). بررسی‌های آزمایشگاهی نشان می‌دهد که میزان طبیعی هورمونهای جنسی نظیر  $\beta$ -Inhibin, LH, FSH و تستوسترون داخل بیضه برای اسپرماتوژنز فعال ضروری است. در صورت اختلال در اسپرماتوژنز مانند آواسپرمیای غیر انسدادی، معمولاً در میزان سرمی این هورمون‌ها اختلال حاصل می‌شود. بگونه‌ای که در این حالت میزان FSH افزایش و میزان  $\beta$ -Inhibin کاهش می‌یابد؛ ولی در بسیاری از موارد با وجود این تغییرات سرمی، حضور اسپرم در بیضه مسجل شده است (۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱). تا کنون تکنیک‌های متنوعی برای تأیید حضور و حصول اسپرم در بیماران آواسپرمیای غیرانسدادی مورد استفاده قرار گرفته است. بیوپسی تفنگی<sup>۵</sup> بدلیل داشتن عوارض و ناکافی بودن از جهت دستیابی به اسپرم، کمتر بکار می‌رود (۱۲). درحالی‌که بیوپسی سوزنی (FNA)<sup>۶</sup> عوارض کمتری دارد و مؤثرتر<sup>۷</sup> است؛ ولی ناکافی بوده و بدین ترتیب بیوپسی باز بیضه روش استاندارد برای ارزیابی اسپرماتوژنز می‌باشد (۱۳) در این روش امکان استفاده از میکروسکوپ جراحی نیز وجود دارد که عوارض را کاهش و موفقیت عمل را افزایش می‌دهد (۱۴). روش متداول نمونه‌برداری از بیضه (TBx) و ارسال نمونه به منظور بررسی هیستولوژی و اسپرماتوژنز توسط پاتولوژیست معمولاً با محدودیت‌هایی مواجه می‌باشد (۱۵ و ۱۶، ۱۷).

از آنجا که با وجود حتی یک اسپرم در نمونه بیضه امکان باروری تخمک و حاملگی زوج نابارور فراهم می‌شود، نیاز به استفاده از روش‌های حساس‌تر، مطمئن‌تر و دقیق‌تر، ضروری است.

4-Testicular Sperm Extraction

5-Gun Needle Biopsy

6-Fine Needle Aspiration

7-Efficacy

1-Intracytoplasmic Sperm Injection

2-Assisted Reproductive Technology

3-Non-Obstructive azoospermia

WHO<sup>۵</sup> آنالیز شد. تشخیص آواسپرمی براساس عدم رؤیت اسپرم در نمونه مستقیم مایع منی و لام Pellet سانتریفوژ شده صورت گرفت، که با بررسی مشابه نمونه مجدد مایع منی تأیید شد. برای رد کردن انزال رتروگراد، ادرار بعد از انزال مورد بررسی قرار گرفت. تشخیص آواسپرمیای غیرانسدادی براساس معاینات بالینی (اندازه بیضه‌ها)، اندازه‌گیری هورمون‌ها و در مواردی بیوپسی بیضه‌ها بود. برای تشخیص قطعی وضعیت اسپرمتوژنز در این بیماران، بیوپسی دو طرفه بیضه بصورت سرپایی و تحت بلوک طناب اسپرمتاتیک و انفیلتره کردن موضعی اسکروتوم با لیدوکائین ۲٪ انجام شد. در هر مرحله بیوپسی هر تکه از بافت بیضه که حدود ۲۵ میلی‌گرم وزن داشت، در محیط کشت Ham's F10 (Sigma-U.S.A) قرار داده شد و در آزمایشگاه جنین‌شناسی به دو قسمت تقسیم گردید. یک دوم نمونه در اختیار پاتولوژیست و نیمی دیگر آن در اختیار جنین‌شناس قرار داده شد. در آزمایشگاه جنین‌شناسی قسمتی از نمونه بدقت توسط دو سرنگ انسولین و زیر دید میکروسکوپ نوری (Olympus-Japan)، خرد و دایسکت شد. محتوای دایسکت شده به روی لام آزمایشگاهی منتقل و با افزودن لامل بر آن و فشار مجدد بر لامل نهایت تلاش در خروج سلول‌های موجود در لوله‌های سمینفروس برای مشاهده آنها زیر میکروسکوپ بعمل آمد. لام تهیه شده به کمک میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰× مشاهده و وجود یا عدم وجود اسپرم و اسپرماتید گزارش شد. در صورت عدم رؤیت این سلول‌ها در نمونه مورد مطالعه، بخشی دیگر از نمونه در داخل یک ظرف کشت<sup>۶</sup> (Nunc-Denmark) استریل کوچک قرار داده شد. سپس آنزیم کلاژناز (Sigma-U.S.A) Type II به آن اضافه شده و نمونه پس از نیم ساعت توسط دو سوزن انسولین بدقت دایسکت و محتویات ظرف به یک لوله ۶ ml استریل

TESE یا حصول مستقیم اسپرم از بافت دایسکت<sup>۱</sup> شده بیضه، روشی است که علی‌الخصوص در مراکز درمان ناباروری بصورت متداول مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مطالعه سعی شده است تا با بررسی نقش هیستوپاتولوژی و سیتولوژی در ارزیابی اسپرمتوژنز بیماران آواسپرمیای غیرانسدادی، لزوم استفاده از یک یا هر دو روش، مورد مطالعه قرار گیرد تا در صورت اثبات وجود اسپرم در روش‌های فوق، امکان کمک به زوج نابارور با استفاده از روش‌های درمان ناباروری لقاح خارج رحمی، به کمک تزریق اسپرم حاصل از بیضه به داخل تخمک و باروری آن و انتقال جنین حاصل به داخل رحم، فراهم آید.

## مواد و روشها

در این مطالعه ۸۶ بیمار با آواسپرمیای غیرانسدادی که برای درمان ناباروری طی مدت یکسال به مرکز ناباروری رویان مراجعه کرده بودند مورد بررسی قرار گرفتند. بررسی‌های بالینی، مراحل آزمایشگاه جنین‌شناسی و پاتولوژی بترتیب توسط متخصص ارولوژی، متخصص جنین‌شناسی و پاتولوژیست انجام شد. برای بررسی ناباروری در این مردان شرح حال پزشکی و تولید مثلی گرفته شد. هر کدام از بیماران تحت معاینات بالینی شامل صفات ثانویه جنسی، معاینه آلت تناسلی، بیضه‌ها، وازدفران، اپیدیدیم و معاینه رکتال (برای رد کردن پاتولوژی پروستات) قرار گرفتند. برای تعیین وضعیت هورمونی (LH, FSH) و تستوسترون از بیماران خون گرفته شد. نمونه‌های منی<sup>۲</sup> بعد از ۵-۳ روز امتناع جنسی و بطریق استمناء<sup>۳</sup> در یک ظرف استریل جمع آوری و بمدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد تا مایع<sup>۴</sup> شود و سپس براساس شاخصهای

1-Dissected

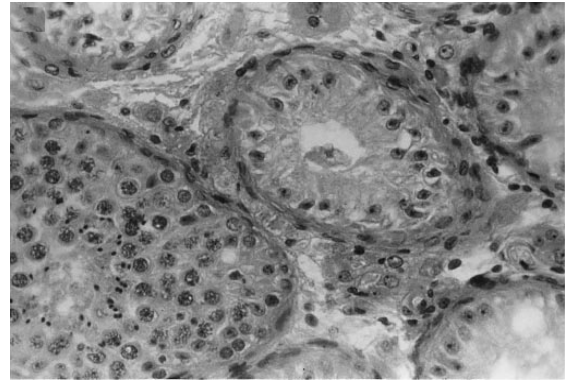
2-Semen

3-Masturbation

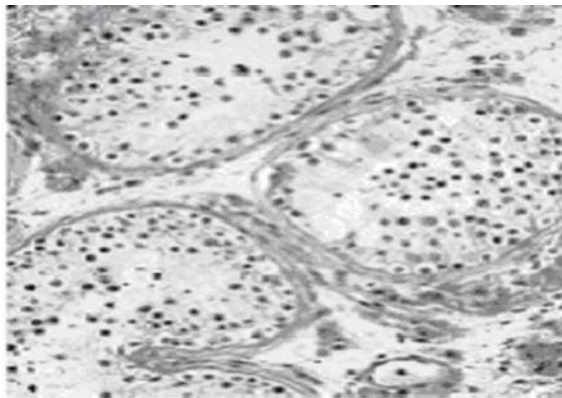
4-Liquefy

5-Word Health Organization

6-Petri dish



شکل ۱- اسپرمتوژنز طبیعی (هیستولوژی)



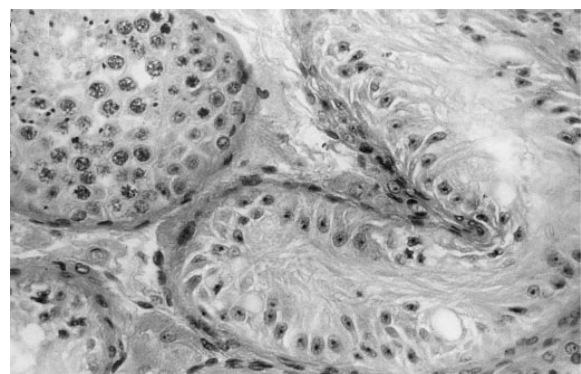
شکل ۲- توقف بلوغ اسپرم (هیستولوژی)

منتقل و با افزودن محیط کشت HF10 سانتریفوژ شد. رسوب حاصل در بین لام و لامل مورد بررسی قرار گرفت و وضعیت اسپرمتوژنز گزارش گردید. در صورت عدم رؤیت اسپرم در بررسی‌های فوق بوسیله تکنیک TESE، همزمان به ارولوژیست برای برداشت نمونه‌های جدید از محل دیگر بیضه اطلاع داده می‌شد و این روند تا حصول اسپرم در نمونه، حداکثر تا ۸ نمونه از دو بیضه تکرار می‌شد. یک دوم باقی‌مانده هر نمونه بیوپسی در محلول Bouin قرار داده و برای بررسی هیستوپاتولوژی برای پاتولوژیست ارسال شد. نمونه دریافتی توسط پاتولوژیست با پارافین ثابت<sup>۱</sup> و برش‌های ۴mm از آن تهیه شد. سپس این نمونه‌ها بوسیله الکل/گزیل از پارافین جدا، با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و بوسیله میکروسکوپ نوری با

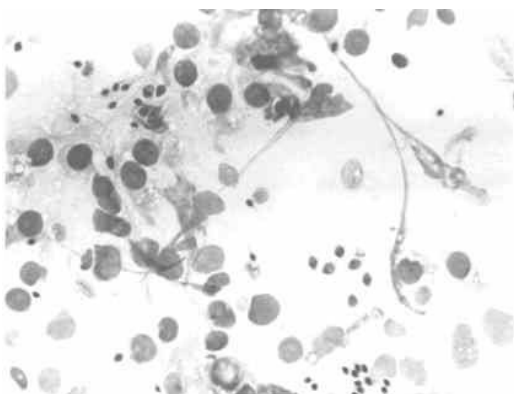
بزرگمایی ۱۰۰۰× (با تکنیک‌های استاندارد) تحت بررسی قرار گرفت. پاتولوژیست وضعیت اسپرمتوژنز در لومن توبولهای سمی نیفروس را گزارش کرد. در صورت گزارش وجود اسپرم/ اسپرمتاید در نمونه TESE (سیتولوژی)، TBx (پاتولوژی) و یا هر دو، بیمار برای درمان لقاح خارج رحمی به طریق ICSI و با استفاده از تزریق اسپرم/ اسپرمتاید بدست آمده از بیوپسی بیضه بدخل تخمک، کاندید می‌شد.

### نتایج

در این مطالعه ۸۶ زوج نازا که میانگین سنی بیماران مرد  $37 \pm 7/2$  سال (۵۹-۲۵ سال) و میانگین سنی همسرانشان  $32 \pm 7/0$  سال (۴۲-۲۳ سال) بود تحت



شکل ۳- سندرم سلول سرتولی تنها (هیستولوژی)



شکل ۴- اسپرمتوژنز طبیعی (سیتولوژی)

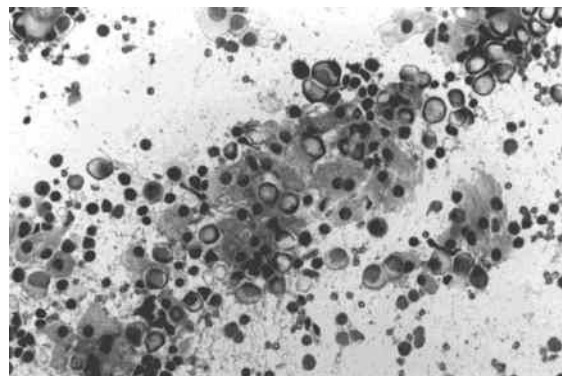
1-Fixed

آن در جدول شماره ۱ آمده است. شکل شماره ۱، تصویر هیستولوژی و اشکال ۲ و ۳ دو نوع پاتولوژی شایع اسپرماتوژنز را نشان می‌دهد.

متوسط تعداد نمونه‌های بیوپسی برداشته شده در هر فرد ۳/۱ (۲-۸) بود. جدول شماره ۲ نتایج گزارش پاتولوژیست و سیتولوژیست (آزمایشگاه جنین‌شناسی) را از نمونه‌های همزمان بیوپسی باز بیضه نشان می‌دهد. در جدول شماره ۲، مثبت به معنی حضور اسپرم/ اسپرماتید در هر یک از روشها و منفی به معنای عدم حضور آن دو می‌باشد.

همانگونه که در جدول شماره ۲ دیده می‌شود در TESE ۳ بیمار اسپرم/ اسپرماتید دیده نشد. در حالیکه این وضعیت در پاتولوژی ۱۹ بیمار گزارش گردید. بدین ترتیب در ۱۶ موردیکه پاتولوژیست قادر به رؤیت اسپرم/ اسپرماتید نبود، سیتولوژیست توانست این سلولها را جدا کند. همچنین سیتولوژیست علاوه بر تأیید تمام موارد پاتولوژی، در ۱۴ بیماریکه پاتولوژیست پاسخ منفی گزارش کرده بود توانست از بیضه اسپرم بدست آورد. ۶۱ بیمار دارای اسپرم/

بررسی قرار گرفتند. از میان مردان ۱۸٪ سن بیش از



شکل ۵- توقف بلوغ اسپرم (سیتولوژی)

۴۵ سال و در میان زنان ۱۲٪ سن بیش از ۴۰ سال داشتند. میانگین مدت نازائی ۷±۱/۸ سال بود. ۹ نفر از مردان سابقه ازدواج قبلی داشتند که ۲ نفر آنها صاحب فرزند بودند. فقط یک زن سابقه ازدواج قبلی داشت؛ ولی هیچ زنی در سابقه، فرزندی نداشته است.

میانگین حجم بیضه راست ۱۶/۴ ml و بیضه چپ ۱۶/۲ ml و میانگین میزان FSH، ۱۸/۱±۴/۲ mIU/ml بود. تعدادی از بیماران بیوپسی قبلی بیضه داشتند که نتایج

جدول ۱- فراوانی مطلق و نسبی یافته‌های هیستولوژیک در ۳۶ بیمار با سابقه بیوپسی بیضه

درصد	تعداد بیمار	تشخیص هیستولوژیک
۴۱/۶	۱۵	توقف ناکامل بلوغ اسپرم آتروفی (Incomplete Maturation Arrest)
۲۲/۳	۸	آتروفی (Atrophy)
۱۳/۸	۵	هایپواسپرماتوژنز (Hypo spermatogenesis)
۱۱/۲	۴	توقف کامل بلوغ اسپرم (Complete maturation Arrest)
۸/۴	۳	سندرم سلول سرتولی تنها (Sertoli Cell Only Syndrome)
۲/۷	۱	نمای مخلوط (Mixed pattern)
۱۰۰	۳۶	جمع

جدول ۲- مقایسه نتایج TESE (سیتولوژی) و TBx (پاتولوژی) روی نمونه‌های همزمان بیوپسی باز بیضه

سیتولوژی			نوع بررسی
مجموع	منفی	مثبت	نتایج بررسی
۶۷	۰	۶۷	مثبت
۱۹	۳	۱۶	منفی
۸۶	۳	۸۳	مجموع

ارزش پیشگویی منفی (N.P.V.)<sup>۲</sup> ۱۵٪ پاتولوژی بیضه، بدین ترتیب بررسی سیتولوژی، روشی مطمئن‌تر و دقیقتر نسبت به بررسی پاتولوژی درخصوص حضور اسپرم/ اسپرماتید در بیضه می‌باشد (جدول شماره ۲). در ۱۶ بیمار (۱۹ درصد) در پاتولوژی آنها اسپرماتوزوآ و اسپرماتید دیده نشده است؛ ولی در TESE، این سلولها رؤیت شده‌اند و لذا پاسخ منفی پاتولوژیست در این زمینه را نباید پایان راه دانست (جدول شماره ۲). مشابه مطالعه Soe JT. و مطالعه

اسپرماتید کافی برای انجام درمان ناباروری به روش ICSI بودند. اطلاعات حاصل از انجام عمل TESE-ICSI در باروری تخمکها و حاملگی ناشی از آن در جدول شماره ۳ آورده شده است. تصاویر ۴ و ۵ سیتولوژی اسپرمتوژنز طبیعی و توقف بلوغ<sup>۱</sup> را نشان می‌دهد.

### بحث

این مطالعه آینده‌نگر ارتباط وضعیت اسپرمتوژنز توسط پاتولوژی با سیتولوژی از نمونه‌های بیوپسی باز

جدول ۳- نتایج TESE – ICSI

تعداد M±SD	نتایج میانگین
۸/۸±۶/۲	تخمک بدست آمده در هر بیمار
۲/۴±۳	تخمک بارور شده در هر بیمار
۲/۷±۱/۸	جنین انتقال یافته در هر بیمار
۵۷	کل موارد انتقال جنین
۷	حاملگی بالینی
۲	سقط

Kahraman در سال ۲۰۰۱، در این مطالعه نیز افزایش FSH سرم، کوچک‌بودن بیضه‌ها و نیز نارسایی اولیه

بیضه در بیماران آزواسپرمیای غیرانسدادی را مورد بررسی قرار داده است. با توجه به حساسیت ۸۰٪<sup>۲</sup> و

3-Negative Predictive Value

1-Maturation arrest

2-Sensitivity

بیضه دلیلی برای عدم بیوپسی بیضه نیستند (۴ و ۵).

مطالعه Seo JT در سال ۲۰۰۱ نشان داده است که روش هیستوپاتولوژی بیضه می‌تواند بعنوان موفق‌ترین روش بدست آوردن اسپرم از بیضه به کار رود. در این مطالعه در ۱۶/۳٪ از بیماران با سندرم سلول سرتولی تنها<sup>۱</sup> و در ۶۲/۵٪ از بیماران باتوقف بلوغ اسپرم<sup>۲</sup> اسپرم بطور موفقیت‌آمیز به روش TESE خارج شد (۴). همچنین این مطالعه، مشابه مطالعه حاضر، در مواردیکه پاتولوژی نامیدکننده بود TESE را منتفی ندانسته و اقدام به انجام دادن آن کرده است. در مطالعه Soe JT طبقه‌بندی بیوپسی‌های بیضه براساس نمای غالب دیده شده در هیستولوژی بود. در مطالعه ما حضور اسپرم/ اسپرماتید (که رده‌های انتهایی فرآیند اسپرماتوزن می‌باشند و در تصمیم‌گیری درمانی دخالت دارند) در بررسی‌های هیستولوژی مورد نظر بود تا اینکه به یک نمای هیستولوژی خاص اشاره شود.

در مطالعه ما رابطه بررسی هیستوپاتولوژی با دسترسی به اسپرم/ اسپرماتید در TESE دارای حساسیت ۸۰٪، اختصاصی بودن ۱۰۰٪، ارزش پیشگویی مثبت (P.P.V.)<sup>۳</sup> ۱۰۰٪ و ارزش پیشگویی منفی ۱۵٪ بود. در مطالعه Ezech در سال ۱۹۹۸ رابطه بین رؤیت اسپرماتید در پاتولوژی با TESE دارای حساسیت ۷۱٪، ویژگی<sup>۴</sup> ۹۲٪، ارزش پیشگویی مثبت ۹۷٪ و ارزش پیشگویی منفی ۵۸٪ بود. بدین ترتیب در مطالعه Ezech در ۴۲٪ مواردی که در پاتولوژی اسپرماتید دیده نشده بود TESE توانست اسپرماتوزوآی متحرک<sup>۵</sup> را از نمونه‌ها خارج کند. در حالیکه در مطالعه ما در ۸۵٪ مواردی که در پاتولوژی، اسپرم/ اسپرماتید دیده نشد TESE مثبت بود. علت این

اختلاف این است که در مطالعه Ezech فقط دستیابی به اسپرماتوزوآی متحرک در TESE مورد نظر بود در حالیکه در مطالعه ما علاوه بر آن، حضور اسپرماتید نیز بعنوان TESE مثبت تلقی شد و حتی مورد استفاده درمانی قرار گرفت. علت دیگر این تفاوت آن است که در مطالعه حاضر به هنگام TESE از آنزیم کلاژناز نیز استفاده شد؛ در حالیکه در مطالعه Ezech عمل TESE صرفاً به روش مکانیکی بوده است (۱). از طرفی همانگونه که عدم رؤیت اسپرم در هیستولوژی بیضه نمی‌تواند احتمال تولید اسپرم را رد کند فقدان اسپرماتید در هیستولوژی نیز نمی‌تواند بیانگر فقدان اسپرماتوزن و به تبع آن عدم رؤیت اسپرم و یا اسپرماتید در TESE باشد. مطالعه Ezech در ۱۹۹۸ نیز به مطلب فوق پرداخته است (۱).

از ویژگی‌های بررسی بیوپسی بیضه از طریق TESE نسبت به بررسی پاتولوژی این است که حجم نمونه بیشتری از مجموع بافت بیضه برداشته شده مورد ارزیابی قرار می‌گیرد؛ در حالیکه در بررسی پاتولوژی (TBx) تنها چند برش از مجموع نمونه‌های ارسالی مورد مطالعه قرار می‌گیرد. بنابراین ارزیابی TESE امکان مطالعه کانونهای اسپرم‌ساز بیشتری از بیضه را فراهم می‌کند.

این مطالعه نیز مشابه مطالعات دیگر نشان داد که میزان FSH سرمی و اندازه بیضه‌ها برای پیشگویی حضور اسپرم در TESE تعیین‌کننده نخواهند بود و علی‌رغم افزایش FSH و کوچک‌بودن بیضه‌ها بیوپسی و جست و جوی اسپرماتوزوآ در بیضه انجام شد (۶ و ۷، ۴، ۱).

اگرچه استفاده از روش TESE در ارزیابی وضعیت اسپرماتوزن در آرواسپرمیای غیرانسدادی منجر به دستیابی اسپرم/ اسپرماتید در ۶۵ بیمار شد؛ ولی در زمان درمان زوجین با استفاده از ICSI/TESE بوسیله تزریق اسپرم/ اسپرماتید، تنها در ۶۱ بیمار درمان انجام گردید. شاید علت این امر علی‌رغم نمونه‌برداری متعدد،

1-Sertoli Cell Only Syndrome  
2-Maturation Arrest  
3-Positive Predictive Value  
4-Specificity  
5-Motile

اسپرم حاصل از بیضه بداخل تخمک) باشد که به موارد درمانی اضافه شده است. بطوریکه در مطالعه Chan P.T. در سال ۲۰۰۱ میزان حاملگی بالینی ۳۳٪ و مطالعه Koci K. در سال ۱۹۹۸، ۲۷٪ بود (۱۷ و ۱۶). می‌توان نتیجه گرفت که هیچکدام از روشهای بالینی (اندازه بیضه‌ها)، آزمایشگاهی (میزان FSH) و هیستولوژی بیضه در بیماران آزواسپرمیای غیرانسدادی نمی‌تواند دستیابی موفقیت‌آمیز به اسپرم را در TESE پیشگویی کند و بررسی روند اسپرماتوژنز با روش TESE حساستر و مطمئن‌تر از پاتولوژی می‌باشد و حتی در مواردیکه بررسی‌های پاتولوژی منفی باشند می‌تواند در تصمیم‌گیری درمان ناباروری دخیل باشد. در صورت دستیابی به اسپرم در نمونه‌های TESE تشخیصی، منجمد کردن<sup>۱</sup> توصیه می‌شود؛ تا در صورت عدم دسترسی به اسپرم در TESE درمانی (که احتمال آن هم نشان داده شده است) از نمونه‌های منجمد شده استفاده شود.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه همکاران آزمایشگاه جنین‌شناسی پژوهشکده رویان که ما را در این مطالعه یاری نمودند، کمال تشکر و سپاس را داریم.

عدم دسترسی به کانونهای اسپرم ساز بیضه در روز درمان باشد. از دلایل دیگر عدم دسترسی به اسپرم در زمان درمان، محدودیت استفاده از روش آنزیمی بود؛ در حالیکه در زمان تشخیص علاوه بر روش مکانیکی از روش آنزیمی نیز استفاده شد. چون تأثیر این آنزیمها در درمان ناباروری مورد ارزیابی دقیق واقع نشده، در این مطالعه در روند درمان از این روش استفاده نگردیده است. مطالعات بیشتر برای اطمینان از عدم تأثیر آنزیم‌هایی مانند کلاژناز بر عملکرد اسپرم ضروری است تا بدون نگرانی، استفاده از آن در بررسی این بیماران امکان‌پذیر شود.

در ۱۰ بیمار (۱۲٪) در حالیکه TESE تشخیصی وجود اسپرماتوزوآ و اسپرماتید را در بافت بیضه گزارش کرد، در TESE درمانی، سلول دیده نشد و یا تعداد کافی برای انجام ICSI وجود نداشت. در این بررسی، در مواردیکه در TESE و یا TBx، اسپرماتید گزارش شد از تلاش بعدی برای درمان ناباروری و تزریق بداخل تخمک حذف نشدند و نهایتاً در ۱۲ مورد از TESE‌ها که در آنها اسپرماتوژنز تا مرحله اسپرماتید موجود بود، ICSI انجام شد و در کلیه موارد انتقال جنین صورت پذیرفت. اگر چه هیچ حاملگی از این موارد گزارش نشد. شاید یکی از دلایل پایین بودن میزان حاملگی بالینی در این مطالعه (ده درصد) نسبت به مطالعات دیگر (تزریق

## References

- 1-Ezeh U.I.O., Moore H.D.M., Cooke I.D. Correlation of testicular sperm extraction with morphological, biophysical and endocrine profiles in men with azoospermia due to primary gonadal failure. *Hum Reprod.* 1998; 13(11): 3066-3074.
- 2-Akhondi M.A., Chapple C., Moore H.D.M. Prolonged survival of human spermatozoa where Co-incubated with epididymal cell cultures. *Hum Reprod.* 1997;3:514-22.
- 3-Sadeghi M.R., Akhondi M.A., Zahraei M. Role of surface proteins with epididymal origin on fertilization. *Med J Reprod & Infertil.* 2000;3:43-54.
- 4-Seo J.T., KO W.J. Predictive factors of successful testicular sperm recovery in non obstructive azoospermia patients. *Int J Androl.* 2001;24(5):306-10.
- 5-Kahramans S., Yakin K., Samli M., Vanlioglu F., Karlikaya G., Sertyel S., Donmez E. A comparative study of three techniques for the analysis of sperm recovery: touch-print cytology, wet preparation, and testicular histopathology. *J Assist Reprod Genet.* 2001;18(7):357-63

1-Cryo preservation



- 6-Glander H.J., Horn L.C., Dorschner W., Paasch U., Kratzsch J. Probability to retrieve testicular spermatozoa in azoospermic patients. *Asian J Androl.* 2000;2(3):199-205
- 7-Jezek D., Knuth U.A., Schulze W. Successful testicular sperm extraction (TESE) in spite of high serum follicle stimulating hormone and azoospermia: correlation between testicular morphology, TESE results, semen analysis and serum hormone values in 103 infertile men. *Hum Reprod.* 1998; 13(5): 1230-1234.
- 8-Ballescà Jose L., Balasch J., Calafell Josep M., Alvarez R., Fabregues F., Osaba M., Ascaso C., Vanrell A. Serum inhibin B determination is predictive of successful testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 2000; 15(8): 1734-1738.
- 9-Bohring C., Schroeder I., Weidner W., Krause W. Serum levels of inhibin B and follicle stimulating hormone may predict successful sperm retrieval in men with azoospermia who are undergoing testicular sperm extraction. *Fertil Steril.* 2002; 78(6): 1195-9.
- 10-Vernaev V., Tournaye H., Schiettecatte J., Verheyen G., Van Steirteghen A., Devroey P. Serum inhibin B can not predict testicular sperm retrieval in patients with nonobstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 2002; 17(4): 971-6.
- 11-Houser R., Botchan A., Yorgev L., Gamzu R., Ben Yosef D., Lessing JB., Amit A., Yavetz H. Probability of sperm detection in nonobstructive azoospermic men undergoing testicular sperm extraction procedures unrelated to clinical parameters. *Arch Androl.* 2002; 48(4): 301-5
- 12-Walsh P., Retik and Vaughan. *Campbell's urology.* 7<sup>th</sup> Edition, Saunders's Co. 1998; PP1334.
- 13-Meng M.V., Cha I., Ljung B.M., Turek P.J. Testicular fine needle aspiration in infertile men: correlation of cytologic pattern with biopsy histology. *Am J surg pathol.* 2001; 25(1): 71-9
- 14-Dardashti K., Williams R.H., Goldstein M. Microsurgical testis biopsy: a novel technique for retrieval of testicular tissue. *J Urol.* 2000;163(4): 1206-7
- 15-Sousa M., Cremades N., Silva J., Oliveira C., Ferraz L., Teixeira da Silva J., Viana P., Barros A. Predictive value of testicular histology in secretory azoospermic subgroups and clinical outcome after microinjection of fresh and frozen-thawed sperm and spermatids. *Hum Reprod.* 2002;17(7): 1800-1810
- 16-Chan P.T., Palemo G.D., Veeck L.L., Rosenwaks Z., Schlegel P.N. Testicular sperm extraction combined with intracytoplasmic sperm injection in the treatment men with persistent azoospermic postchemotherapy. *Cancer.* 2001; 92(6):1632-7
- 17-Koci K., Lachman M., Mayer Z., Mrazek M., Jarolimkov AK., Tepla O., Mika J., Nejezchlebova L. MESA, TESA, TESE+ICSI: result of the first 50 cases. *Ceska Gynecol.* 1998; 63(1): 13-9. Czech.