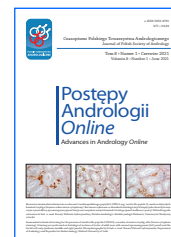




Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

BIOPSJA JĄDRA Z UŻYCIEM MIKROSKOPU OPERACYJNEGO (m-TESE) MICRODISSECTION TESTICULAR SPERM EXTRACTION (m-TESE)

Jan Karol Wolski 

Przychodnia Lekarska nOvum, Warszawa; Klinika Nowotworów Układu Moczowego, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa

Adres do korespondencji/corresponding author:

Jan Karol Wolski, Przychodnia Lekarska nOvum, 02-807 Warszawa, Bociania 13
tel.+ 48 501 580 793

e-mail: jkwolski@op.pl

Otrzymano/received: 21.06.2021 r. • Zaakceptowano/accepted: 22.07.2021 r.

DOI: [10.26404/PAO_2353-9791.2021.05](https://doi.org/10.26404/PAO_2353-9791.2021.05)



Jan Karol Wolski – Specjalista urolog FEBU (ang. *Fellow of the European Board of Urology*), specjalista chirurg dziecięcy, specjalista urolog dziecięcy. Absolwent II Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Warszawie (1981). Konsultant ds. andrologii od 1995 r. w Przychodni Leczenia Niepłodności nOvum w Warszawie. W latach 1981–2003 pracował w Klinice Urologii Dziecięcej Centrum Zdrowia Dziecka. Od 2008 r. pracuje w Klinice Nowotworów Układu Moczowego, Centrum Onkologii w Warszawie, jako urolog operujący pacjentów ze schorzeniami uroonkologicznymi. Nagrody: Polskiego Towarzystwa Chirurgów Dziecięcych (1988 r.), *American Society of Andrology* (1997 r.), Wyróżnienie Komitetu Naukowego Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka (2002 r.), Polskiego Towarzystwa Urologicznego (2002 r., 2014 r., 2015 r.). Członek wielu towarzystw naukowych, m.in. założyciel Polskiego Towarzystwa Andrologicznego i Polskiego Towarzystwa Urologii Dziecięcej.

Jan Karol Wolski – Urologist FEBU (Fellow of the European Board of Urology), paediatric surgeon, paediatric urologist. Graduated from the Medical University of Warsaw, faculty of medicine (1981, Poland). Consultant in andrology (since 1995), the Fertility Clinic nOvum, Warsaw, Poland. From 1981 to 2003 he worked in Department of Paediatric Urology, The Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland. Since 2008 he works in the Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology, Warsaw, Poland; Department of Urology-Oncology, as an active urologist that operates patients with uro-oncologic diseases. Awards: Polish Society of Pediatric Surgeons (1988), the American Society of Andrology (1997), the Scientific Committee of The Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland (2002), Polish Association of Urology (2002, 2014, 2015). A member of many scientific societies; the founder of the Polish Society of Andrology and the Polish Society of Pediatric Urology.



Artykuł jest udostępniany na podstawie Licencji Creative Commons BY NC ND 3.0 Polska:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.pl>

Streszczenie

Problem niepłodzenia w rozrodzie towarzyszy gatunkowi człowieka od zawsze, występuje globalnie, niezależnie od rasy czy miejsca zamieszkania. Według WHO dotyczy to nawet co szóstej pary starającej się o ciążę, a udział czynnika męskiego sięga 50%. Rozwój technik wspomaganego rozrodu: inseminacja (1790 r.) czy przeprowadzone niemal dwa wieki później zapłodnienie pozaustrojowe – IVF (1978 r.) dawały szansę na rodzicielstwo wielu starającym się parom. Mimo tych osiągnięć niepłodne związki z dominującym czynnikiem męskim, gdzie stwierdzano brak plemników w nasieniu, pozostawały przez lata nierozwiązalnym problemem klinicznym. Od chwili wprowadzenia do medycyny rozrodu człowieka zapłodnienia pozaustrojowego z iniekcją do oocytu męskiej gamety – ICSI (1992 r.) rozwinęły się techniki pozyskiwania plemników od pacjentów z azoospermią. Opisana w 1998 r. operacyjna biopsja jądra z użyciem mikroskopu operacyjnego – microTESE (m-TESE) okazała się w tym zakresie najbardziej efektywną chirurgiczną procedurą i umożliwiła włączenie do rozrodu kolejnej grup niepłodnych mężczyzn, uprzednio dyskwalifikowanych z powodu azoospermii. Autor przedstawia osobiste doświadczenia w wykonywaniu biopsji jąder z zastosowaniem mikroskopu operacyjnego, przeprowadzonych w jednym ośrodku leczenia niepłodności od 2012 r.

Słowa kluczowe: azoospermia, biopsja jąder, zapłodnienie pozaustrojowe

Abstract

The problem of infertility has always accompanied the human species, it occurs globally, regardless of race or place of residence. According to the WHO, this applies even to every 6th couple seeking pregnancy, and the share of the male factor reaches 50%. The development of assisted reproductive techniques: insemination (1790) or performed almost two centuries later in vitro fertilization procedure – IVF (1978), gave birth to many struggling couples. Despite these achievements, infertility compounds with the dominant male factor, where sperm was absent in semen, remained an unsolvable clinical problem for years. Since the introduction into human reproduction medicine in-vitro fertilization with injection into the oocyte male generative cell – ICSI (1992), sperm obtaining techniques have developed from patients with azoospermia. Described in 1998, a testicular biopsy using an operating microscope – microTESE (m-TESE), proved to be the most effective surgical procedure in this regard and enabled the inclusion in reproduction of next group of infertile men, previously disqualified due to azoospermia. The author presents personal experience in performing testicular biopsies using an operating microscope, carried out in one infertility center since 2012.

Key words: azoospermia, testicular biopsy, in vitro fertilization

Skróty / Abbreviations

cTESE – klasyczna chirurgiczna (otwarta) biopsja jądra (ang. *conventional testicular sperm extraction*); EAU – Europejskie Towarzystwo Urologiczne (ang. *European Association of Urology*); ESAU – sekcja andrologii urologicznej EAU (ang. *EAU Section of Andrological Urology*); FSH – hormon folikulotropowy (ang. *follicle stimulating hormone*); GCNIS – neoplazja komórek germinalnych *in situ* (ang. *germ cell neoplasia in situ*); ICSI – docyt oplazmatyczna iniekcja plemnika (ang. *intracytoplasmic sperm injection*); LH – hormon luteinizujący (ang. *luteinizing hormone*); MD-TESE / microscopic-TESE / micro-TESE; m-TESE – otwarta biopsja jądra z zastosowaniem mikroskopu operacyjnego (synonimy ang. *microdissection-testicular sperm extraction*, *microdissection-TESE*, *microdissection TESE*); NOA – azoospermia nieobstrukcyjna (ang. *non-obstructive azoospermia*); OA – azoospermia obstrukcyjna (ang. *obstructive azoospermia*); SRR – skuteczność pozyskiwania plemników (ang. *sperm retrieval rate*)

Azoospermia występuje w populacji ogólnej u ok. 1% mężczyzn, natomiast w grupie mężczyzn starających się o ciążę osiąga poziom 10–15% ([Jarow i wsp., 1989](#)). Przyczyny azoospermii przedjądrowej, jądrowej i pozajądrowej podane są w tabeli 1 ([Westlander, 2020](#)).

Biopsja tkanki jąder

Azoospermia – brak plemników w nasieniu, przy zachowanej najczęściej sprawności seksualnej – budziła zainteresowanie lekarzy od dawna, ale dopiero w latach 40. XX w. [Charny \(1940\)](#), a po nim [Hotchkiss \(1942\)](#)

wprowadził do kliniki andrologii biopsję jąder jako narzędzie diagnostyczne w niepłodności męskiej. Była to procedura chirurgiczna, otwarta, nosząca obecnie nazwę biopsji konwencjonalnej (cTESE, ang. *conventional testicular sperm extraction*). W 1969 r. [Hendricks i wsp. \(1969\)](#) opisał pozyskanie tkanki jądra drogą przezskórnej biopsji igłowej, co uczyniło samo pobranie tkanki procedurą małoinwazyjną.

Przeprowadzona w 1992 r. przez [Palermo i wsp. \(1992\)](#) procedura wstrzyknięcia pojedynczego plemnika do komórki jajowej (ICSI, ang. *intracytoplasmic sperm injection*) dała szansę na włączenie do rozrodu mężczyzn ze skrajnie niską koncentracją plemników w nasieniu,

Tabela 1. Przyczyny azoospermii/aspermii (Westlander, 2020)

Rodzaje azoospermii	Przyczyny azoospermii
Przedjądrowa azoospermia	hipogonadyzm hipogonadotropowy
Jądrowa azoospermia nieobstrukcyjna (NOA)	wrodzona - aberracje chromosomalne: – zespół Klinefeltera (47,XXY) – translokacje – inwersje - wnętrostwo - nieznana przyczyna
	nabyta - choroby nowotworowe: – leczenie chirurgiczne – radioterapia – chemioterapia - mięscowy uraz - zapalenie jądra - uszkodzenie posterydowe - nieznana przyczyna
Pozajądrowa azoospermia	azoospermia obstrukcyjna - wrodzona: – mukowiscydoza/CBAVD – wrodzona obustronna agenezja nasieniowodów - nabyta: – zapalenie najądrzy – uraz miejscowy – chirurgia w obrębie miednicy mniejszej – wazektomia – nieznana przyczyna
	czynnościowa aspermia/azoospermia - dysfunkcja erekcyjna - wytrysk wsteczny - urazy rdzenia kręgowego - obwodowa neuropatia

Table 1. Etiologies of azoospermia/aspermia (Westlander, 2020)

Types of azoospermia	Etiologies of azoospermia
Pre-testicular azoospermia	hypogonadotropic hypogonadism
Testicular non-obstructive azoospermia (NOA)	congenital - chromosomal aberrations: – Klinefelter syndrome (47,XXY) – translocations – inversions - cryptorchismus - unknown origin
	acquired - malignant disease: – surgery – post irradiation - chemotherapy - local trauma - orchitis - abuse of anabolic steroids - unknown origin
Post-testicular azoospermia	congenital: – cystic fibrosis/CBAVD (congenital bilateral absence of the vas deferens)
	obstructive azoospermia - acquired – epididymitis – local trauma – pelvic surgery – vasectomy – unknown origin
	dysfunctional aspermia/azoospermia - erectile dysfunction - retrograde ejaculation - spinal lesion - peripheral neuropathy

a także pacjentów z azoospermia nieobstrukcyjną (NOA, ang. *non-obstructive azoospermia*), gdzie zastosowano plemniki z biopsji. Oczekiwania zespołów z ośrodków leczenia niepłodności, a także niepłodnych par wobec zwiększenia efektywności procedur pozyskiwania męskich komórek rozrodczych wpłynęły na poszukiwanie nowych rozwiązań operacyjnych (tabela 2). Wdrażano kolejne techniki przeszskórne (Shrivastav i wsp., 1994; Wolski i wsp., 1996) oraz modyfikowano opisane wcześniej techniki operacji otwartych (Wolski, 2021).

Biopsja mikroskopowa

Znaczącym postępem w pozyskiwaniu plemników okazało się wprowadzenie do andrologii zabiegowej mikroskopu operacyjnego. Schlegel (1999) jako pierwszy zastosował technikę otwartej biopsji jądra z użyciem mikroskopu operacyjnego (m-TESE, ang. *microdissection-testicular sperm extraction*) i wykorzystaniem mikroskopowego powiększenia 20–25-krotnego, wykazując znamienne różnicę w pozyskiwaniu plemników w porównaniu z klasyczną biopsją otwartą cTESE. Późniejsze metaanalizy potwierdziły korzyści

i przewagę m-TESE w porównaniu z innymi technikami biopsji jąder i pozyskiwania plemników do procedury ICSI (Esteves, 2015; Esteves i wsp., 2013; Bernie i wsp., 2015; Chiba i wsp., 2016; Shah i Gupta, 2018; Westlander, 2020). W wytycznych Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (EAU, ang. *European Association of Urology*) dotyczących leczenia męskiej niepłodności (Salonia i wsp., 2021) uzasadnieniem zastosowania m-TESE jest zwiększenie prawdopodobieństwa pozyskania plemników (1,5-krotnie wyższe niż w przypadku cTESE) przy mniejszej ilości tkanki w pobranych próbkach, co w konsekwencji zmniejsza ryzyko powikłań. Tymczasem w 2019 r. opublikowano wyniki metaanalizy (1236 badań, 117 spełniających kryteria włączenia, 21 404 pacjentów) porównującej skuteczność cTESE do m-TESE w grupach mężczyzn z NOA, w której nie udowodniono jednoznacznej przewagi techniki mikroskopowej. Uzyskano 50% skuteczności pozyskiwania plemników (SRR, ang. *sperm retrieval rate*) w obu grupach (Corona i wsp., 2019). Należy jednak podkreślić, że w podsumowaniu tej metaanalizy autorzy stwierdzili potrzebę przeprowadzenia na dużej grupie mężczyzn z NOA dobrze zaprojektowanego randomizowanego badania porównującego m-TESE z cTESE.

Tabela 2. Rodzaje biopsji jąder i technik pozyskiwania plemników – nazewnictwo (*Shin i Turek, 2017*)

Rodzaje biopsji jąder	Techniki
PVSA	przezskórna aspiracja z nasieniowodu (cienka igła)
MVSA	mikroskopowe pozyskanie plemników z nasieniowodu (operacja otwarta)
PESA	przezskórna aspiracja z najądrza (cienka igła)
MESA	mikroskopowa aspiracja plemników z najądrza (operacja otwarta)
MESE	mikroskopowe pozyskanie plemników z najądrza (operacja otwarta)
TESA	przezskórna aspiracja tkanki z jądra
TeLNA	biopsja gruboigłowa (14–18 G)
TeFNA	biopsja cienkoigłowa (20–23 G)
TESE – <i>conventional</i> TESE(cTESE)	biopsja otwarta, chirurgiczna (konwencjonalna)
Micro-TESE (m-TESE, mTESE)	otwarta biopsja jądra z zastosowaniem mikroskopu operacyjnego
FNA <i>mapping</i>	biopsja mapująca jądra (cienka igła)

Table 2. Types of testicular biopsy and techniques for obtaining sperm cells – naming (*Shin and Turek, 2017*)

Types of testicular biopsy	Techniques
PVSA	percutaneous vasal sperm aspiration
MVSA	microscopic vasal sperm aspiration
PESA	percutaneous epididymal sperm aspiration
MESA	microscopic epididymal sperm aspiration
MESE	microscopic epididymal sperm extraction
TESA	testicular sperm aspiration
TeLNA	testicular large needle aspiration
TeFNA	testicular fine needle aspiration
TESE = conventional TESE(cTESE)	testicular sperm extraction
micro-TESE (m-TESE, mTESE)	microdissection-testicular sperm extraction
FNA mapping	fine needle aspiration (FNA) mapping

Stymulacja hormonalna spermatogenezy

Stosowanie leczenia gonadotropiną jest dobrze udokumentowane w przedjądrowym NOA u mężczyzn z hipogonadyzmem hipogonadotropowy. W przypadkach tych opisywano naturalne ciąże, pojawiające się zwykle w ciągu 6–9 miesięcy prowadzonej terapii, choć raportowano także przypadki mówiące o poczęciu nawet podczas 24-miesięcznego leczenia. Opublikowano kilka retrospektywnych analiz grup pacjentów z NOA, a także pojedynczych przypadków, mówiących o korzystnym efekcie oddziaływania terapii rekombinowanym hormonem folikulotropowym (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*) 3×150 j/tydzień na gonadę męską i stosowaniu przed biopsją (*Colacurci i wsp., 2018; Laursen i wsp., 2019; Shinjo i wsp., 2013*). *Shiraishi i wsp. (2016)* stosował duże dawki hormonu luteinizującego (LH, ang. *luteinizing hormone*) 3×5000 j/tydzień po pierwszej negatywnej m-TESE i uzyskał pojawienie się spermatogenezy w kolejnej m-TESE u 10% pacjentów. Z kolei *Hussein i wsp. (2005)* przeprowadzili prospektywne badanie z udziałem 612 pacjentów z NOA i leczyli 496 mężczyzn w grupie interwencyjnej klomifenem (selektywny modulator receptora estrogenowego) przed pobraniem plemników. Stwierdzono, że u 64,3% mężczyzn pojawiły się plemniki w ejakulatach i w związku z tym nie wymagali oni dalszych interwencji chirurgicznych.

Dane zawarte w dostępnym piśmiennictwie są jednak ograniczone ze względu na niejednorodną metodologię pod względem stosowanych leków, protokołów leczenia i zróżnicowanych kohort pacjentów. Ponadto współczesne dowody są niskiej jakości, z niedostatkami randomizowanych kontrolowanych badań. Dlatego wytyczne EAU nie optują za stosowaniem terapii hormonalnej u mężczyzn z NOA i pierwotnym hipogonadyzmem, określając siłę rekomendacji jako słabą. Podstawą diagnostyki

i ustalania dalszego postępowania w azoospermii jest wynik biopsji cTESE lub m-TESE (*Salonia i wsp., 2021*).

Badania autorskie

Pacjenci z NOA

Wobec wzrastającej liczby niepłodnych par kwalifikowanych do ICSI, z dominującym czynnikiem męskim z NOA i zaawansowaną patologią jąder, dla których dotychczasowe techniki pozyskiwania plemników do rozrodu były nieefektywne, powstała konieczność implementacji w naszym ośrodku (Przychodni Lekarskiej nOvum) procedury biopsji jąder z użyciem mikroskopu operacyjnego, m-TESE. Przed pierwszą operacją dr J.K. Wolski, dr G. Kapuściński oraz biolog M. Radziejewicz odbyli trening w czołowym ośrodku andrologicznym – Giessen (Niemcy), którego kierownikiem był prof. Wolfgang Weidner – ówczesny przewodniczący sekcji andrologii urologicznej EAU (ESAU, ang. *EAU Section of Andrological Urology*). Certyfikaty ze szkolenia były przepustką do wdrożenia metody. Pierwsza procedura m-TESE odbyła się w nOvum 06.10.2012 r. Pozyskano plemniki, a następnie przeprowadzono procedurę ICSI, która zakończyła się urodzeniem zdrowego dziecka (rycina 1, 2).

W okresie od 6.10.2012 r. do 5.03.2021 r. w Przychodni Lekarskiej nOvum wykonano 396 biopsji m-TESE u niehomogennej kohorty mężczyzn z azoospermia: średnia wieku 34. r.ż. (17.–44. r.ż.). U zdecydowanej większości pacjentów była to kolejna biopsja, w poprzednich uzyskano bowiem negatywny wynik (brak plemników). Natomiast pierwszą biopsję przeprowadzono u 55 z 396 mężczyzn (14%). W ramach przygotowania do procedury biopsyjnej wszystkich pacjentów poddano kompleksowej diagnostyce (lub weryfikacji uzupełniającej dotychczasowe wyników badań) wg zaleceń EAU



Ryc. 1. Szkolenie m-TESE, Klinika Urologii, Urologii Dziecięcej i Andrologii, Uniwersytet Giessen i Marburg (od lewej: mgr Marta Radziewicz, prof. Wolfgang Weidner, doc. Agnieszka Paradowska, dr Jan Karol Wolski)

Fig. 1. m-TESE training, Department of Urology, Pediatric Urology and Andrology, University of Giessen and Marburg (from left to right: ms. Marta Radziewicz, prof. Wolfgang Weidner, doc. Agnieszka Paradowska, dr. Jan Karol Wolski)

(Salonia i wsp., 2021), zawierającej szczegółowy wywiad kliniczny, badanie fizykalne, USG układu moczowo-płciowego oraz profil hormonalny pod kątem podstawowej etiologii i określenia chorób towarzyszących. Obligatoryjnie wykonywano testy genetyczne: określenie kariotypu (badanie cytogenetyczne), weryfikacja mutacji w genie *CFTR* (ang. *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) i mikrodelecji chromosomu Y w regionie AZF (ang. *azoospermia factor*). Trudności w pogrupowaniu pacjentów z NOA, pod kątem wstępnego prognozowania istotnego prawdopodobieństwa obecności plemników w jądrach, wynikały z mnogości przyczyn tego schorzenia (Westlander, 2020; Tharakan i wsp., 2021). Na podstawie rekomendacji z piśmiennictwa (SRR 50%) (Corona i wsp., 2017) diagnostyczną biopsją m-TESE objęto także grupę pacjentów z zespołem Klinefeltera. Grupa ta liczyła 47 mężczyzn (12%). U pacjentów z niskim poziomem testosteronu (<300 ng/dL) i podwyższonym stężeniem FSH (>12 mIU/mL) w surowicy krwi przed zabiegiem włączano terapię w intencji normalizacji hormonów jako element promujący proces spermatogenezy: androgen + antyestrogen (Adamopoulos i wsp., 1997), gonadotropiny (LH 5000 j/tydzień; FSH 3 × 75 j/tydzień) oraz kłomifen 50 mg/dobę (Hussein i wsp., 2005). Zakładany czas terapii wynosił 12 tygodni. Po 6 tygodniach kontrolowano poziomy LH, FSH oraz testosteronu i w przypadku elewacji FSH przerywano hormonoterapię. Dodatkowo włączano antyoksydanty jako wspomaganie procesu spermatogenezy poprzez próbę zmniejszania stresu oksydacyjnego (Salonia i wsp., 2021; Singh i wsp., 2010).

Zabieg m-TESE

Zabiegi m-TESE przeprowadzano w znieczuleniu ogólnym. Pierwszych 5 mężczyzn poddano procedurze w ramach pobytu 1-dobowego, z kolei od 6. pacjenta procedurę wykonano w ramach chirurgii 1 dnia (pobyt pacjenta



Ryc. 2. Pierwsza w Polsce operacja m-TESE 06.10.2012 r. (dr Grzegorz Kapuściński, dr Jan Karol Wolski)

Fig. 2. The first m-TESE surgery in Poland 06.10.2012 (dr. Grzegorz Kapuściński, dr. Jan Karol Wolski)

w placówce do 6 godzin). Operacje przeprowadzano z użyciem maksymalnego powiększenia 25-krotnego. U 94 pacjentów zastosowano mikroskop Seiler Evolution XR6 (Saint Louis, USA), u 6 Carl Zeiss S7 (Jena, Niemcy), z kolei u 296 pacjentów zastosowano mikroskop Leica M680 2 × 2 (Heerbrugg, Szwajcaria).

Początkowo dostęp do jąder uzyskiwano poprzez cięcie na mosznie nad poszczególną gonadą, po przeprowadzeniu kilkunastu zabiegów wprowadzono jako standard cięcie w linii pośrodkowej przez szew moszny (łac. *raphe scrotum*). Umożliwia to swobodny dostęp do gonad, z wytworzeniem niewielkiej i praktycznie niewidocznej blizny na mosznie. Po wyłonieniu jądra zawsze oceniano jego wielkość, konsystencję, obecność innych patologii (wodniak, torbiel nasienna [ang. *spermatocele*], powiększony przyczepek jądra oraz najądrza, obecność żyłaków powrózka nasiennego). U pierwszych pacjentów osłonkę białawą do pobrania tkanki jądra nacinano osobno na 3 poziomach wg Weidnera (Marconi i wsp., 2012) (rycina 3).

U kolejnych chorych jako standard wprowadzono cięcie sekcyjne, wzdłuż długiej osi gonady (od głowy najądrza do dolnego bieguna). Kierowano się tu anatomią ukrwienia narządu (najmniejsza możliwość uszkodzenia tętniczek naprzeciw wnęki jądra) (rycina 4). Uzyskano zdecydowanie większy wgląd w głąb gonady, co umożliwiło lepszą obserwację pod mikroskopem i wybór najlepszej tkanki. Przy pomocy mikrochirurgicznych narzędzi pobierano tkankę z tzw. obiecującymi kanalikami, z 3 poziomów: górna, środkowa i dolna część jądra. Z każdego poziomu pozyskiwano tkankę do kriokonserwacji z badaniem doraźnym przed mrożeniem oraz do badania histopatologicznego. Patolog określał nie tylko architekturę jądra i obecność komórek germinalnych, ale dokonywał także analizy weryfikującej neoplazję komórek germinalnych *in situ* (GCNIS, ang. *germ cell neoplasia in situ*), gdyż korelacja między NOA, dysgenezą jąder a nowotworem może mieć miejsce, co ma istotne znaczenie klinicznie (Słowikowska-Hilczer, 2014). Po pobraniu



Ryc. 3. Dostęp do jądra „Trifocal” wg Weidner podczas operacji m-TESE
Fig. 3. Weidner “Trifocal” access to the testis during m-TESE surgery



Ryc. 4. Cięcie sekcyjne jądra podczas operacji m-TESE
Fig. 4. Testicular sectional cutting during m-TESE surgery



Ryc. 5. Wygląd moszny po operacji m-TESE – cięcie nad poszczególnym jądrem
Fig. 5. Appearance of the scrotum after m-TESE surgery – cutting above the individual testis



Ryc. 6. Wygląd moszny po operacji m-TESE – cięcie w linii pośrodkowej przez szew moszny
Fig. 6. Appearance of the scrotum after m-TESE surgery – cut on raphe scroti

wycinków i starannej hemostazie, odtwarzano ciągłość tkanek, stosując szwy wchłanialne: tkankę jądra zaopatrywano szwami vicryl 6/0, osłonkę białawą 5/0, błonę surowiczą oraz warstwę moszny 4/0, skórę szwem ciągłym vicryl-rapid 4/0. W każdym przypadku drenażowano mosznę, sączki usuwano po 24 godzinach (rycina 5, 6). Przeciwbólowo po zabiegu ostrzykiwano powrózek nasienny 0,25-procentową marcainą. Operację kończyła instalacja uciskowego opatrunku elewacyjnego. Po zabiegu stosowano przez 2–3 dni kompresy z lodu na mosznę oraz typowe leki przeciwbólowe (paracetamol, ketoprofen, metamizol). U wszystkich stosowano prewencję zakażeń – okołooperacyjną osłonę antybiotykową (cefalosporyna) z kontynuacją do 5 dni. W dalszej fazie gojenia zalecano noszenie suspensorium przez 30 dni oraz unikanie dużych wysiłków fizycznych przez 3 miesiące (standardowy czas gojenia tkanek).

Skuteczność procedury

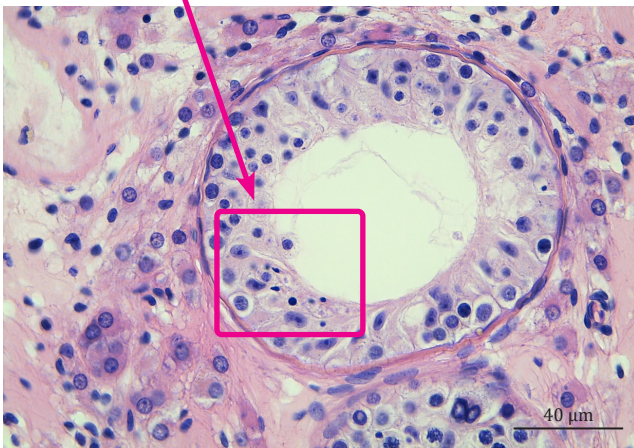
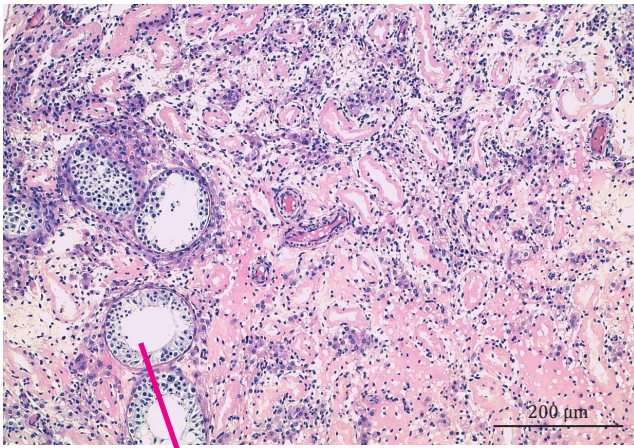
Opierając się na ocenie doraźnej i ostatecznym raporcie patologa (badanie histopatologiczne), przeanalizowano skuteczność pozyskiwania plemników do procedury ICSI. W poszczególnych latach uzyskano następujący

SRR: 2012–2018 r. – 30,5%; 2019 r. – 36,7%; 2020 r. – 42%. W grupie z zespołem Klinefeltera plemniki stwierdzono u 8 z 47 mężczyzn (17%) (rycina 7). Z kolei powikłania pooperacyjne wystąpiły u 11 z 396 mężczyzn: u 3 (0,76%) były to krwiaki moszny wymagające interwencji chirurgicznej; u 5 (1,26%) rozległe zasinienia moszny i prącia, a kolejnych 3 (0,76%) gojenie rany *per secundam* (rycina 8, 9).

Pozyskane plemniki za pomocą m-TESE wykorzystano w 152 procedurach ICSI przeprowadzonych w latach 2012–2021 (tabela 3). Uzyskano 50 ciąż (32,89%), w 22 uzyskanych ciążach stosowano niemrożone plemniki, a w 28 wykorzystano plemniki mrożone. Urodziło się 29 dzieci (w tym jeden przypadek bliźniaków). U 13 kobiet wystąpiło poronienie (7 przypadków po procedurze z zastosowaniem niemrożonych plemników oraz 6 przypadków po procedurze z zastosowaniem mrożonych plemników). Aktualnie 8 ciąż (w tym 1 bliźniacza) jest monitorowanych (dane z dnia: 20.07.2021 r.).

Podsumowanie badań autorskich

Biopsja jąder z użyciem mikroskopu operacyjnego m-TESE zwiększa szansę na znalezienie plemników



Ryc. 7. Mikrofotografie biopsatu jądra uzyskanego po operacji m-TESE wykonanej u pacjenta z zespołem Klinefeltera. Widoczne przekroje przez kanaliki nasienne (panel górny). W obrębie nabłonka plemnikotwórczego obecne plemniki (panel dolny) (mikroskop świetlny)

Fig. 7. Micrographs of testis biopsat obtained after m-TESE surgery in a patient with Klinefelter syndrome. Cross section through seminiferous tubules are visible (upper panel). Sperm cells are present in seminiferous epithelium (lower panel) (light microscope)



Ryc. 8. Rozejście się rany po operacji m-TESE – gojenie *per secundam*

Fig. 8. Wound spread after m-TESE surgery – healing *per secundam*



Ryc. 9. Krwaki moszny i prącia po operacji m-TESE wymagający rewizji operacyjnej

Fig. 9. Scrotum and penile hematoma after m-TESE requiring surgical revision

Tabela 3. Wyniki otrzymane po wykonaniu procedury ICSI w latach 2012–2021, z wykorzystaniem plemników uzyskanych za pomocą m-TESE (opracowali Bartosz Sierakowski i Adriana Strzałkowska, Laboratorium Embriologiczne, Przychodnia Lekarska nOvum, Warszawa)

Zestawienie		Dane z dnia 20.07.2021
Liczba zabiegów, do których użyto plemniki świeże lub mrożone		152
Liczba ciąż klinicznych po ET – w procedurze użyto świeże plemniki		22
Liczba ciąż klinicznych po ET – w procedurze użyto mrożone plemniki		28
Liczba urodzonych dzieci	29	po ET – w procedurze użyto świeże plemniki: 15 po ET – w procedurze użyto mrożone plemniki: 14 (w tym 1 × bliźniaki)
Liczba poronień po ET – w procedurze użyto świeże plemniki		7
Liczba poronień po ET – w procedurze użyto mrożone plemniki		6
Liczba ciąż nadal się rozwijających		8 (w tym 1 × bliźniacza)
Brak informacji o ciąży po ET – w procedurze użyto mrożone plemniki		1

ET – wprowadzenie zarodka do jamy macicy, ICSI – docyt oplazmatyczna iniekcja plemnika, m-TESE – otwarta biopsja jądra z zastosowaniem mikroskopu operacyjnego

u mężczyzn z NOA, którzy byli uprzednio zdyskwalifikowani z rozrodu z powodu negatywnych pierwszych biopsji. Finalnie pozyskanie plemników pozwala na włączenie do protokołu wspomaganego ICSI. Biopsja m-TESE okazała się także przydatna u chorych z zespołem

Klinefeltera, którzy na wcześniejszych etapach rozwoju technik wspomaganego prokreacji byli niedopuszczani do procedury ICSI.

Podstawowym dokumentem postępowania w przypadku azoospermii nieobstrukcyjnej są wytyczne EAU

Table 3. Results after ICSI treatments in the years 2012–2021 using m-TESE sperm cells (by Bartosz Sierakowski and Adriana Strzałkowska, Embryology Laboratory, Fertility Center nOvum, Warsaw)

Summary	data of the day 20.07.2021	
Number of cycles with m-TESE fresh or frozen sperm	152	
Number of clinical pregnancies after ET – fresh sperm cells were used in the procedure	22	
Number of clinical pregnancies after ET – frozen sperm cells were used in the procedure	28	
Number of children born	29	After ET– fresh sperm cells were used in the procedure: 15 After ET– frozen sperm cells were used in the procedure: 14 (incl. 1 × twins)
Number of miscarriages after ET – fresh sperm cells were used in the procedure	7	
Number of miscarriages after ET – frozen sperm cells were used in the procedure	6	
Number of ongoing pregnancies	8 (incl. 1 × twins)	
No information after ET – frozen sperm cells were used in the procedure	1	

ET – embryo-transfer, ICSI – intracytoplasmic sperm injection, m-TESE – microdissection-testicular sperm extraction

Tabela 4. Rekomendacje Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (EAU) w postępowaniu w azoospermii nieobstrukcyjnej (NOA) (*Salonia i wsp., 2021*)

Zalecenia	Siła rekomendacji
Pacjenci z NOA powinni przejść kompleksową ocenę, zawierającą szczegółową historię choroby, profil hormonalny i testy genetyczne w celu zbadania podstawowej etiologii i określenia chorób towarzyszących. Doradztwo genetyczne jest obowiązkowe u par z zaburzeniami genetycznymi przed jakimikolwiek protokołami technologii wspomaganej rozrodu	mocna
Operację pobierania nasienia można wykonać u mężczyzn, którzy są kandydatami do technologii wspomaganego rozrodu (tj. ICSI). U pacjentów z mikrodelecjami AZFa i AZFb operacja jest przeciwwskazana, ponieważ prawdopodobieństwo pozyskania plemników wynosi zero	mocna
Biopsja aspiracyjna cienkoigłowa (FNA) i przeszskórna biopsja aspiracyjna plemników z jąder (TESA) nie powinny być uważane za wybraną opcję leczenia u pacjentów z NOA, biorąc pod uwagę mniejsze prawdopodobieństwo pozytywnego pozyskania plemników w porównaniu z cTESE i m-TESE	słaba
Biopsja aspiracyjna cienkoigłowa jako procedura prognostyczna przed ostateczną ekstrakcją plemników z jąder (dowolnego typu) u pacjentów z NOA nie jest zalecana do stosowania w rutynowej praktyce klinicznej	słaba
Konwencjonalne TESE (cTESE) i mikroskopowa TESE (m-TESE) to wybrane techniki pozyskania plemników u pacjentów z NOA	słaba
U pacjentów z NOA nie można uznać przedoperacyjnych wyników biochemicznych i klinicznych za wystarczające i wiarygodne predyktory pozytywnego pozyskania plemników w ramach procedur chirurgicznych	słaba
Nie można przedstawić jednoznacznych zaleceń dotyczących rutynowego stosowania terapii medycznej (np. rekombinowanego hormonu folikulotropowego [FSH]; wysoce oczyszczonego FSH; ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej [hCG]; inhibitorów aromatazy lub selektywnych modulatorów receptora estrogenowego [SERM]) u pacjentów z NOA i dlatego nie są obecnie zalecane rutynowo przed TESE	słaba

ICSI – docytoplazmatyczna iniekcja plemnika

Table 4. European Association of Urology (EAU) recommendations for non-obstructive azoospermia (NOA) (*Salonia i wsp., 2021*)

Recommendations	Strength rating
Patients with (NOA) should undergo a comprehensive assessment, including detailed medical history, hormonal profile and genetic tests to investigate the underlying aetiology and associated co-morbidity. Genetic counselling is mandatory in couples with genetic abnormalities prior to any assisted reproductive technology protocols	strong
Sperm collection surgery can be performed in men who are candidates for assisted reproductive technology (i.e. ICSI). In patients with microdeletions AZFa and AZFb, surgery is contraindicated, since the probability of acquiring sperm is zero	strong
Fine needle aspiration biopsy (FNA) and percutaneous aspiration biopsy of testicular sperm (TESA) should not be considered as a treatment option in NOA patients, given the lower likelihood of positive sperm yield compared to cTESE and mTESE	weak
Fine needle aspiration biopsy as a prognostic procedure prior to final extraction of sperm from the testicles (of any type) in PATIENTS with NOA is not recommended for use in routine clinical practice	weak
Conventional TESE (cTESE) and microscopic TESE (m-TESE) are selected techniques for obtaining sperm in NOA patients	weak
In patients with NOA, preoperative biochemical and clinical outcomes cannot be considered sufficient and reliable predictors of positive sperm acquisition in surgical procedures	weak
No clear recommendations can be made regarding routine use of medical therapy (e.g. recombinant follicle-stimulating hormone [FSH]; highly purified FSH; human chorionic gonadotropin [hCG]; aromatase inhibitors or selective estrogen receptor modulators [SERMs]) in NOA patients and are therefore not currently recommended routinely before TESE	weak

ICSI – intracytoplasmic sperm injection

(tabela 4) (*Salonia i wsp.*, 2021). Hormonoterapia przed m-TESE jest nadal przedmiotem dyskusji, ale coraz więcej prac sugeruje sens takiego przygotowania. Z punktu widzenia chirurgicznego, mimo kosztów zaawansowanego technicznie oprzyrządowania, jest to procedura małoinwazyjna z niskim procentem powikłań, z istotnie większym procentowo pozyskiwaniem plemników u chorych z NOA.

Piśmiennictwo

Adamopoulos D.A., Nicopoulou S., Kapolla N., Karamertzanis M., Andreou E.: The combination of testosterone undecanoate with tamoxifen citrate enhances the effects of each agent given independently on seminal parameters in men with idiopathic oligozoospermia. *Fertil Steril.* 1997, 67(4), 756–762. doi: 10.1016/s0015-0282(97)81379-9. PMID: 9093207.

Bernie A.M., Mata D.A., Ramasamy R., Schlegel P.N.: Comparison of microdissection testicular sperm extraction, conventional testicular sperm extraction, and testicular sperm aspiration for nonobstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2015, 104(5), 1099–1103. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.07.1136. PMID: 26263080.

Charny C.W.: Testicular biopsy: its value in male sterility. *JAMA.* 1940, 115(17), 1429–1433.

Chiba K., Enatsu N., Fujisawa M.: Management of non-obstructive azoospermia. *Reprod Med Biol.* 2016, 15(3), 165–173. DOI 10.1007/s12522-016-0234-z. PMID: 29259433.

Colacurci N., De Leo V., Ruvolo G., Piomboni P., Caprio F., Pivonello R. i wsp.: Recombinant FSH Improves Sperm DNA Damage in Male Infertility: A Phase II Clinical Trial. *Front. Endocrinol.* 2018, 9, 383. doi: 10.3389/fendo.2018.00383. PMID: 30042737.

Corona G., Minhas S., Giwercman A., Bettocchi C., Dinkelmann Smit M., Dohle G. i wsp.: Sperm recovery and ICSI outcomes in men with non-obstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis *Hum Reprod Update.* 2019, 25(6), 733–757. doi: 10.1093/humupd/dmz028. PMID: 31665451.

Corona G., Pizzocaro A., Lanfranco F., Garolla A., Pelliccione F., Vignozzi L. i wsp.: Sperm recovery and ICSI outcomes in Klinefelter syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2017, 23(3), 265–275. doi:10.1093/humupd/dmx008. PMID: 28379559.

Esteves S.C., Miyaoka R., Orosz J.E., Agarwal A.: An update on sperm retrieval techniques for azoospermic males. *Clinics* 2013, 68(S1), 99–110. doi: 10.6061/clinics/2013(Sup01)11. PMID: 23503959.

Esteves S.C.: Clinical management of infertile men with nonobstructive azoospermia. *Asian J Androl.* 2015, 17(3), 459–470. doi: 10.4103/1008-682X.148719. PMID: 25677138.

Hendricks F.B., Lambird P.A., Murphy G.P.: Percutaneous needle biopsy of the testis. *Fertil. Steril.* 1969, 20(3), 478–481. doi: 10.1016/s0015-0282(16)37036-4. PMID: 4890015.

Hotchkiss R.S.: Testicular biopsy in the treatment of sterility in the male. *Bull NY Acad Med.* 1942, 18(9), 600–605. PMID: 19312286.

Hussein A., Ozgok Y., Ross L., Niederberger C.: Clomiphene administration for cases of nonobstructive azoospermia: a multicenter study. *J Androl.* 2005, 26(6), 787–791. doi: 10.2164/jandrol.04180. PMID: 16291975.

Jarow P., Espeland M.A., Lipshultz L.I.: Evaluation of the azoospermic patient. *J Urol.* 1989, 142(1), 62–65. doi: 10.1016/s0022-5347(17)38662-7. PMID: 2499695.

Laursen R.J., Elbaek H.O., Povlsen B.B., Lykkegaard J., Jensen K.B., Sandro C. i wsp.: Hormonal stimulation of spermatogenesis: a new way to treat the infertile male with non-obstructive azoospermia? *Int Urol Nephrol.* 2019, 51(3), 453–456. doi: 10.1007/s11255-019-02091-8. PMID: 30756283.

Marconi M., Keudel A., Diemer T., Bergmann M., Steger K., Schuppe H.-C. i wsp.: Combined Trifocal and Microsurgical Testicular Sperm Extraction Is the Best Technique for Testicular Sperm Retrieval in “Low-Chance” Nonobstructive Azoospermia. *Eur Urol.* 2012, 62(4), 713–719. doi: 10.1016/j.eururo.2012.03.004. PMID: 22521095.

Palermo G., Joris H., Devroey P., Van Steirteghem A.C.: Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet.* 1992, 340, 17–18. doi: 10.1016/0140-6736(92)92425-f. PMID: 1351601.

Salonia A., Bettocchi C., Carvalho J., Corona G., Jones T.H., Kadioglu A. i wsp.: EAU Guidelines on Sexual and Reproductive Health. 2021. <https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-on-Sexual-and-Reproductive-Health-2021.pdf>, data wejścia 22.07.2021 r.

Schlegel P.: Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod.* 1999, 14(1), 131–135. doi: 10.1093/humrep/14.1.131. PMID: 10374109.

Shah R., Gupta C.: Advances in sperm retrieval techniques in azoospermic men: A systematic review. *Arab J Urol.* 2018, 16(1), 125–131. doi: 10.1016/j.aju.2017.11.010. PMID: 29713543.

Shin D.H., Turek P.J.: Sperm retrieval techniques. *Nat Rev Urol.* 2013, 10, 723–730. doi: 10.1038/nrurol.2013.262. PMID: 24296703.

Shinjo E., Shiraishi K., Matsuyama H.: The effect of human chorionic gonadotropin-based hormonal therapy on intratesticular testosterone levels and spermatogonial DNA synthesis in men with non-obstructive azoospermia. *Andrology.* 2013, 1(6), 929–935. doi: 10.1111/j.2047-2927.2013.00141.x. PMID: 24123916.

Shiraishi K., Ishikawa T., Watanabe N., Iwamoto T., Matsuyama H.: Salvage hormonal therapy after failed microdissection testicular sperm extraction: A multi-institutional prospective study. *Int J Urol.* 2016, 23(6), 496–500. doi: 10.1111/iju.13076. PMID: 26989893.

Shrivastav P., Nadkarni P., Vensvoort S., Craft I.: Percutaneous epididymal sperm aspiration for obstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 1994, 9(11), 2058–2061. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138393. PMID: 7868674.

Singh A.K., Tiwari A.K., Singh P.B., Dwivedi U.S., Trivedi S., Singh S.K. i wsp.: Multivitamin and micronutrient treatment improves semen parameters of azoospermic patients with maturation arrest. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2010, 54(2), 157–163. PMID: 21090533.

Słowikowska-Hilczner J.: Dysgeneza jąder jako przyczyna męskiej niepłodności. *Post Androl Online.* 2014, 1 (2), 5–13.

Tharakan T., Luo R., Jayasena C.N., Minhas S.: Non-obstructive azoospermia: current and future perspectives. *Faculty Reviews*, 2021, 10, 7. doi: 10.12703/r/10-7. PMID: 33659925.

Westlander G.: Utility of micro-TESE in the most severe cases of non-obstructive azoospermia. *Ups J Med Sci.* 2020, 125(2), 99–103. doi: 10.1080/03009734.2020.1737600. PMID: 32233715.

Wolski J.K.: Biopsja jądra. W: *Andrologia. Zdrowie mężczyzny od fizjologii do patologii*. Red. J. Słowikowska-Hilczner. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2021, 429–440.

Wolski J.K., Kozioł K., Lewandowski P., Biarda B.: ICSI-PESA jako alternatywa operacji rekonstrukcyjnych dróg wyrowadzających nasienie u pacjentów z azoospermią obstrukcyjną. *Urol Pol.* 1996, 3A, 130–131.

Zegers-Hochschild F., Adamson G.D., Dyer S., Racowsky C., de Mouzon J., Sokol R. i wsp.: The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Hum Reprod.* 2017, 32(9), 1786–1801. doi: 10.1093/humrep/dex234. PMID: 29117321.