

A BIÓPSIA DO TESTÍCULO NA ESTERILIDADE MASCULINA

I — Técnica, avaliação e interpretação

Luís F. Gonçalves, Henrique de Carvalho, A. Galvão-Teles

Serviço de Anatomia Patológica. Serviço de Urologia. Núcleo de Endocrinologia e Consulta de Andrologia. Serviço de Medicina 2. Hospital de Santa Maria. Lisboa. Portugal

RESUMO

Apresenta-se uma revisão do modo de utilização da biópsia do testículo na esterilidade humana com discussão das indicações absolutas e relativas, descrição do método, suas complicações e avaliação. Referem-se as lesões elementares observadas nos diferentes compartimentos do tecido testicular. Enunciam-se alguns problemas quanto à avaliação do método, ressaltando-se a necessidade de padronizar o tipo de informação histológica que o andrologista deve receber do patologista, de molde que a biópsia do testículo, método diagnóstico essencial no estudo da esterilidade masculina, seja eficaz e permita uma correcta utilização do arsenal terapêutico disponível.

Em 1913 Huhner¹ propôs a utilização da biópsia do testículo como método diagnóstico da esterilidade em indivíduos azoospermicos. Contudo, o emprego, de forma sistemática, deste método de estudo da biópsia testicular na esterilidade masculina, verificou-se somente a partir de 1940.²

Apesar de novos métodos terem sido introduzidos na avaliação da função testicular, tais como o doseamento radioimunológico das hormonas hipofisárias e testiculares e os estudos bioquímicos, imunológicos e citogenéticos do esperma, a biópsia do testículo continua a ser um método de inegável valor no diagnóstico, prognóstico e controlo terapêutico da esterilidade masculina, desde que cumpridas com rigor as suas indicações.

INDICAÇÕES

A indicação para a execução de uma biópsia testicular no estudo da esterilidade masculina, é habitualmente dada por 2 parâmetros: a contagem do número de espermatozoides no líquido seminal e as características dos testículos, obtidas por palpação.³⁻⁵

Indicações Absolutas

As indicações absolutas para a biópsia testicular são a azoospermia e a oligozoospermia grave (inferior a um milhão de espermatozoides por mililitro) quando coincidem com um volume testicular normal (volume igual ou superior a 15 mililitros). A associação de testículos de características muito alteradas (volume inferior a 15 mililitros e grande modificação de consistência) e azoospermia, não é uma indicação absoluta para biópsia, uma vez que é óbvia a alteração do tecido testicular e nenhuma indicação de grande utilidade poderá advir da biópsia.

Indicações Relativas

Deverá aconselhar-se a biópsia do testículo na oligozoospermia moderada (inferior a 20 milhões de espermatozóides por mililitro), quando outros métodos diagnósticos não forem conclusivos, e quando se pretenda obter uma informação prognóstica, isto é, em situações em que seja necessário determinar o grau de compromisso dos diferentes compartimentos do testículo, com vista à instituição de uma terapêutica.

A biópsia pode estar ainda indicada em situações em que seja necessário efectuar um controlo terapêutico como, por exemplo, em indivíduos submetidos a tratamentos hormonais, em que uma leitura de tipo quantitativo permitirá precisar as modificações temporais observadas no tecido testicular e possibilitar comparações objectivas com estádios anteriores.^{6, 7}

MÉTODO

Colheita

Há autores que defendem a biópsia unilateral enquanto outros são partidários da bilateral.⁸ Argumentam os que defendem a biópsia bilateral que, para além da obtenção de maior quantidade de material, ele provém de diferentes locais, minimizando assim um dos aspectos limitativos do método, a existência de testículos muito gravemente lesados, mas com lesões de distribuição focal, com áreas normais e outras anormais.^{5, 9} Pensamos que esta posição é a mais correcta. A biópsia bilateral deverá ser adoptada, mesmo quando utilizada unicamente para efeitos diagnósticos. Para fins de investigação, a biópsia bilateral é obrigatória.

No estudo da esterilidade, os autores são unânimes em afirmar a ineficácia da biópsia aspirativa com agulha, defendendo a biópsia a céu aberto.

Pode efectuar-se sob anestesia local ou geral, sendo esta menos lesiva da integridade das estruturas em estudo. Contudo, a anestesia local não tem desvantagens significativas, pelo que poderá ser executada sempre que, por motivos relacionados com o doente ou com a organização geral das estruturas hospitalares, seja desaconselhável a anestesia geral.

Descreve-se em seguida a técnica de biópsia testicular utilizada por nós, existindo, contudo, outras técnicas nomeadamente a descrita por Glazenburg.⁹

Após anestesia loco-regional, por infiltração do cordão espermático com uma solução de xilocaína a 1%, efectua-se uma incisão de cerca de 2,5 cm ao nível da zona mediana do testículo. Aberta a *túnica vaginalis*, fica exposto o tecido testicular, devendo a incisão realizar-se numa zona pouco vascularizada da túnica albugínea. Com uma lâmina muito fina, deverá fazer-se uma incisão de 0,5 cm, através da qual se dá a protusão do tecido testicular, que é removido cuidadosamente e imediatamente colocado em líquido fixador.

A biópsia deve efectuar-se por cirurgião e ajudante. A função deste é extremamente importante, pois, mantendo elevados os testículos e evitando fazer pressão, apresentará a superfície de corte sem distorção ao operador, e impedirá, ao segurar a região do epidídimo, que se recolha, o tecido deste órgão.⁸

Fixação

O material colhido deverá ser imediatamente colocado numa mistura fixadora de acção rápida, como os líquidos de Bouin (o mais utilizado), de Zencker, de Helly

ou de Cleland. Está totalmente contra-indicada a utilização de formalina a 10%, por provocar marcadas alterações e distorções das estruturas tecidulares, conduzindo principalmente à perda do padrão da cromatina nuclear (Fig. 1), elemento essencial na identificação dos diferentes tipos celulares.⁸

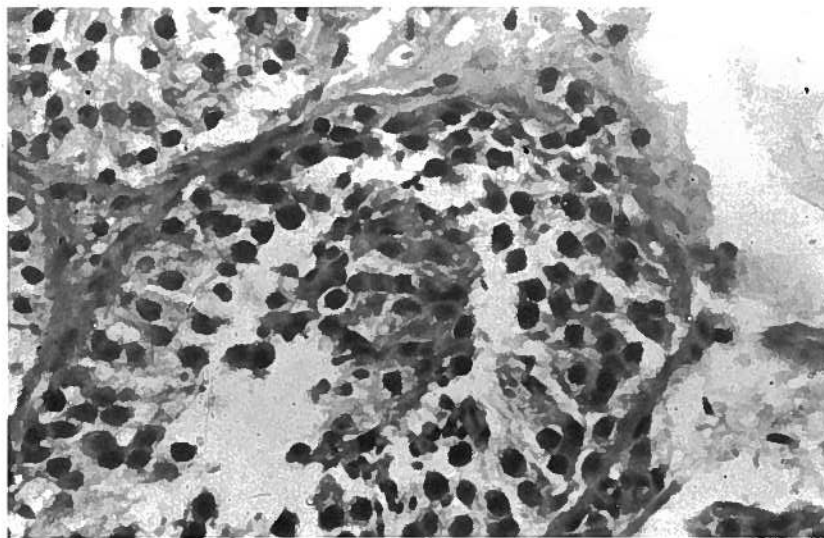


Fig. 1 — Células do tubo seminífero com perda do padrão de cromatina nuclear como consequência da utilização como fixador da formalina a 10%. HE X 250

Inclusão e Corte

Os fragmentos são incluídos em parafina e os cortes devem ter uma espessura de 5 μ m.

Coloração

Para o estudo de uma biópsia testicular é suficiente a coloração pela hematoxilina-eosina. Contudo, para valorização de determinados aspectos do tecido testicular, devem utilizar-se outras colorações. As três colorações complementares por nós utilizadas, são o *tricroímio de Masson*, que evidencia melhor as alterações do tecido conjuntivo e de determinadas estruturas celulares, quer nucleares como a cromatina, quer citoplasmáticas como os cristais de Reinke e as granulações das células de Leydig; o *PAS* (ácido periódico — Schiff) que evidencia as estruturas que contêm glicogénio, a membrana basal dos tubos seminíferos e o sistema *acrosómico* das espermátides, e a *fucsina-resorcina de Weigert*, que põe em relevo o tecido elástico da parede tubular.

COMPLICAÇÕES

A biópsia do testículo é praticamente inócua. Existe um risco limitado de hemorragia local, de infecção e ainda de produção de lesões pós-traumáticas nos cones

eferentes e no canal epididimário. Em 1.000 biópsias testiculares Mancini et al, só tiveram 3 complicações, um hematoma e duas dermatites escrotais. ⁴

AValiação DO MÉTODo

A leitura pelo patologista, da biópsia do testículo, quando não obedece a critérios uniformes, depende muito do *subjectivismo* do observador. Da não *quantificação* dos elementos observados resulta uma dificuldade interpretativa do andrologista, com conseqüente menor eficácia no diagnóstico e tratamento.

Descreveram-se diversos métodos de *quantificação* das leituras das biópsias testiculares.

Roosen-Runge ^{10, 11} propôs uma técnica de contagem, ao acaso, em que se efetuava o cálculo do volume relativo de vários elementos constituintes do testículo.

Mancini ¹² descreveu um método quantitativo que aplicou ao estudo de testículos de rapazes com e sem criptorquídia, e no qual seleccionou 50 cortes transversais de cada biópsia, sendo contadas todas as células pertencentes a diferentes tipos celulares, com um cálculo final da percentagem de cada tipo por 50 tubos seminíferos.

Clermont ¹³ definiu diferentes tipos de associação celular em testículos humanos normais, descreveu 6 estádios de ciclos espermatogénicos e determinou a sua duração.

Steinberg e Tjhoë ¹⁴ propuseram a contagem dos tubos seminíferos com medição dos respectivos diâmetros com um instrumento de precisão. A média de contagem de, pelo menos, 25 tubos era calculada para cada tipo celular.

Johnsen ¹⁵ propôs um método de contagem (*score count method*) que consiste na atribuição de um valor de 1 a 10 por cada tubo seminífero, consoante a presença ou ausência dos diferentes tipos celulares. Assim, a presença de espermatozoides corresponderia aos valores 10, 9, ou 8; espermátides 7 ou 6; espermátócitos 5 ou 4; espermatogónias 3; células de Sertoli 2 e sem células 1.

Hellings, ^{9, 16} que denominou o seu método de *contagem semi-quantitativa morfológica*, estuda um mínimo de 50 tubos de cada biópsia. Avalia em primeiro lugar a presença ou ausência de sinais de *desorganização* e *degenerescência* celulares. No caso de ausência daqueles determina o estádio da espermatogénese, que enquadra do modo seguinte: espermatogénese completa, hipoespermatogénese, três estádios de paragem de maturação, aplasia seminal e regressão completa. Como dados adicionais, avalia o diâmetro dos tubos (valor médio a partir de 15 tubos), a espessura da membrana basal e actividade da membrana intersticial.

O método proposto por Johnsen, ¹⁵ ainda que mais rigoroso, tem limitações de ordem prática, pois exige métodos de colheita e de fixação uniformizados. A técnica proposta por Hellings ^{9, 16} não obstante o seu menor rigor, pela maior facilidade de aplicação, presta informação complementar de muito valor na interpretação final da biópsia.

Para além dos métodos atrás referidos, em que se pretende uma *quantificação*, existem os métodos de leitura clássicos, em que se faz um descrição dos elementos constituintes do testículo e se obedece a uma determinada programação.

Assim, Schirren ¹⁷ propôs que se faça a leitura da biópsia do testículo, apurando e avaliando a biópsia, determinando subjectivamente o diâmetro dos tubos seminíferos em relação ao normal, a existência em quantidade normal ou anormal de tecido conjuntivo, o conteúdo celular do lume dos tubos seminíferos e finalmente a avaliação da glândula intersticial.

LESÕES ELEMENTARES NOS DIFERENTES COMPARTIMENTOS DO TESTÍCULO

A leitura da biópsia testicular permite avaliar os diferentes tipos de lesão ao nível dos diversos compartimentos do testículo. Pela definição e conjugação das lesões elementares, identificam-se as diversas síndromes da esterilidade.

Epitélio seminal e células de Sertoli^{6, 7, 17, 18-23}

Aplasia seminal — Caracterizada pela ausência de células do epitélio seminal no lume dos tubos seminíferos e pela existência de células de Sertoli de tipo maduro (Fig. 2, 3).

Hipoplasia seminal — Existe um reduzido número de espermatogónias de tipo imaturo; as células de Sertoli são de tipo imaturo (Fig. 4).

Hipoespermatogénese — Verifica-se a presença, no lume dos tubos, de elementos celulares correspondentes a todos os estádios da espermatogénese, mas em número reduzido. Esta diminuição numérica pode ser ligeira, moderada ou intensa. As células de Sertoli são de tipo maduro.

Paragem ou bloqueio da maturação — Há uma paragem de maturação das células do epitélio seminal no mesmo estádio da espermatogénese, quer a nível de espermatogónia, de espermatócito I ou de espermátide (Fig. 5).

Descamação e desorganização — Evidencia-se pela separação prematura das células dos estádios mais avançados da espermatogénese das restantes células, notando-se concomitantemente um arranjo anárquico de todo o epitélio seminal. Observam-se células descamadas na zona central dos lumes tubulares, especialmente espermátides e espermatozóides (Fig. 6, 7).

Regressão ou atrofia — Caracteriza-se pela redução dos diâmetros tubulares e a diminuição do número e do tamanho dos diferentes tipos celulares que apresentam sinais de degenerescência nuclear e citoplasmática. No lume dos tubos pode existir uma *espermatogénese completa* (Fig. 8, 9), isto é, os tubos apresentam os aspectos morfológicos próprios de um testículo de um indivíduo normal. Quando uma espermatogénese completa coincide com azoospermia o diagnóstico é de azoospermia pós-testicular. Não se deverá, porém, esquecer uma situação descrita por Afzelius et al e Paderson e Robbe em que embora existindo um número normal de espermatozóides, estes são desprovidos de motilidade pela ausência de braços do axonema.

*Células de Leydig*¹⁹⁻²³

Aplasia — Há uma paragem no desenvolvimento das células de Leydig, só se observando no corte células precursoras.

Hipoplasia — Identificam-se células precursoras e algumas células de Leydig de tipo imaturo, correspondendo a uma insuficiência parcial do seu desenvolvimento.

Hipertrofia — Nota-se um aumento evidente dos constituintes citoplasmáticos e nucleares destas células.

Hiperplasia — Há um aumento do número de células de Leydig, que pode resultar da proliferação das suas células precursoras, (hiperplasia verdadeira) ou da fusão de células de Leydig vizinhas pelo colapso e condensação de fibras de reticulina (hiperplasia falsa) (Fig. 10).

Regressão — Verifica-se uma diminuição do número de células de Leydig, com aparecimento de aspectos degenerativos.

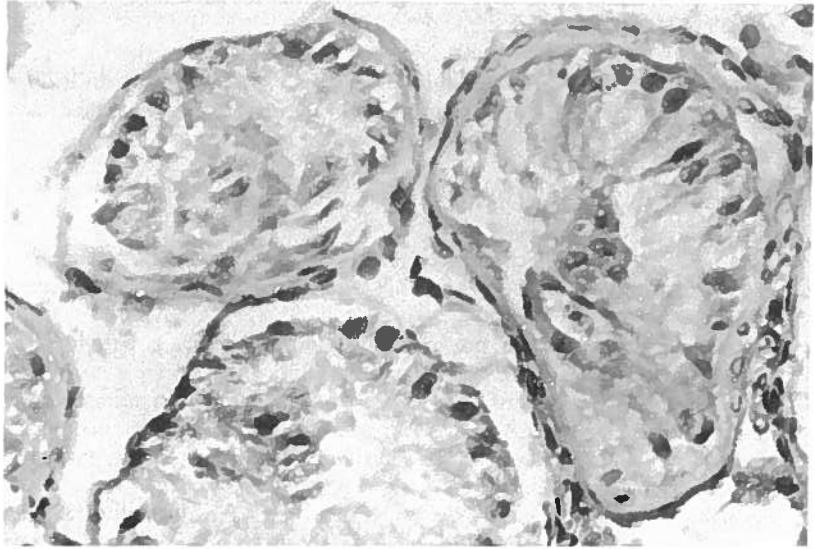


Fig. 2 — *Aplasia seminalis*. HE X 160

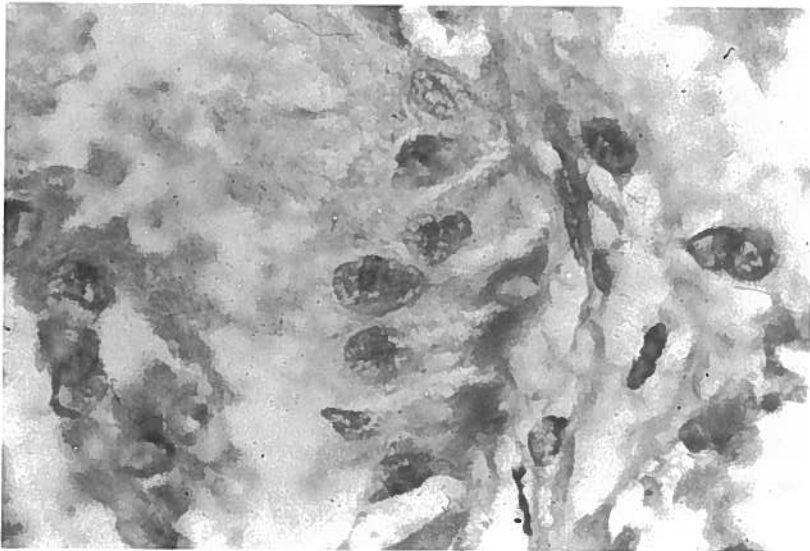


Fig. 3 — *Aplasia seminalis*. HE X 400

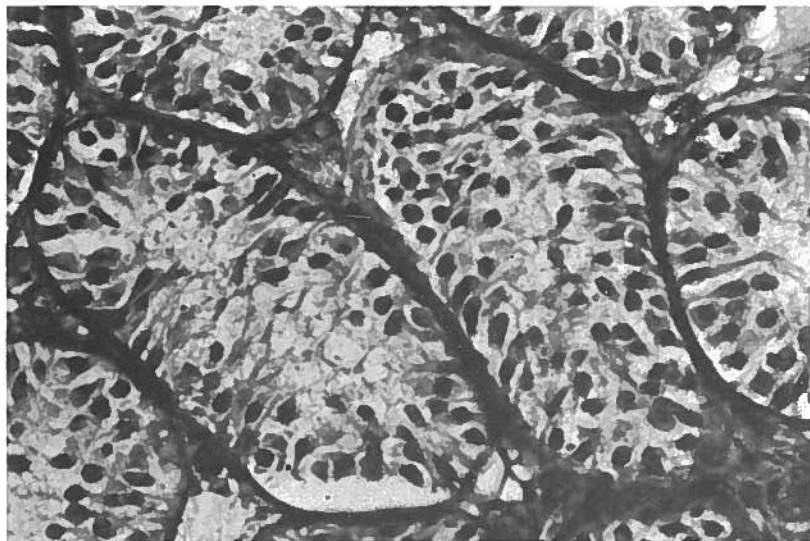


Fig. 4—*Hipoplasia seminal. Tricrômio de Masson X 160*

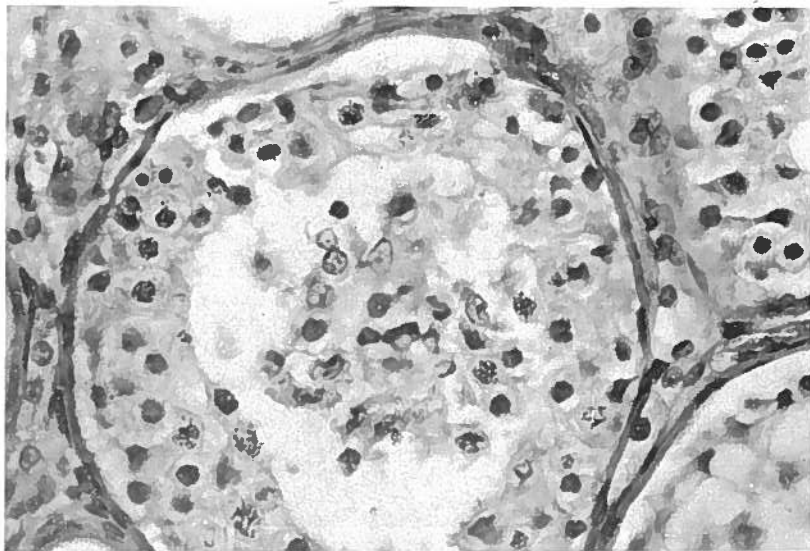


Fig. 5—*Paragem de maturação em espermatocito I. HE X 250*

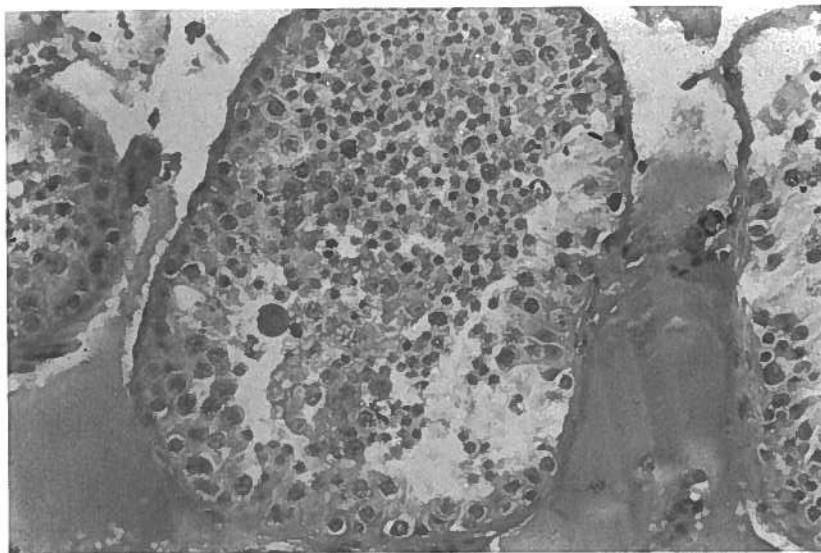


Fig. 6—Espermatogênese completa mas com arranjo anárquico (desorganização). HE X 160.

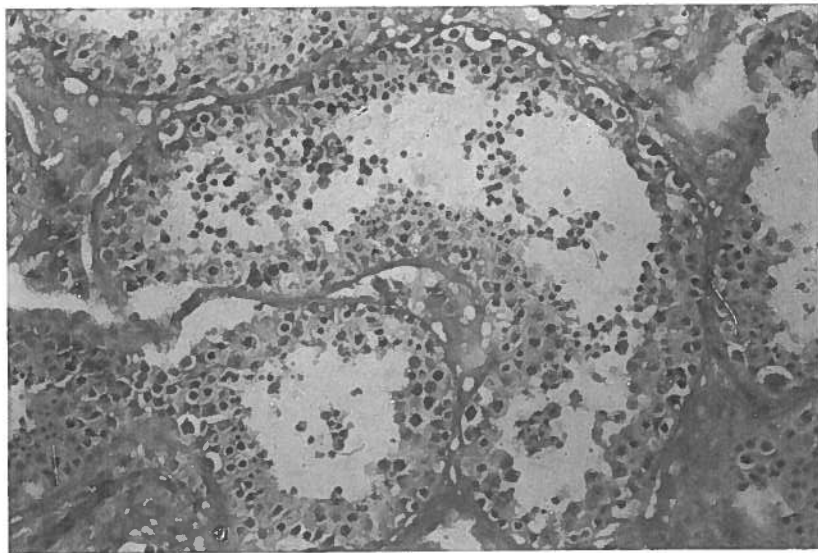


Fig. 7—Espermatogênese completa com separação prematura dos seus diferentes estádios com demarcação celular na zona central dos lumes tubulares HE X 100

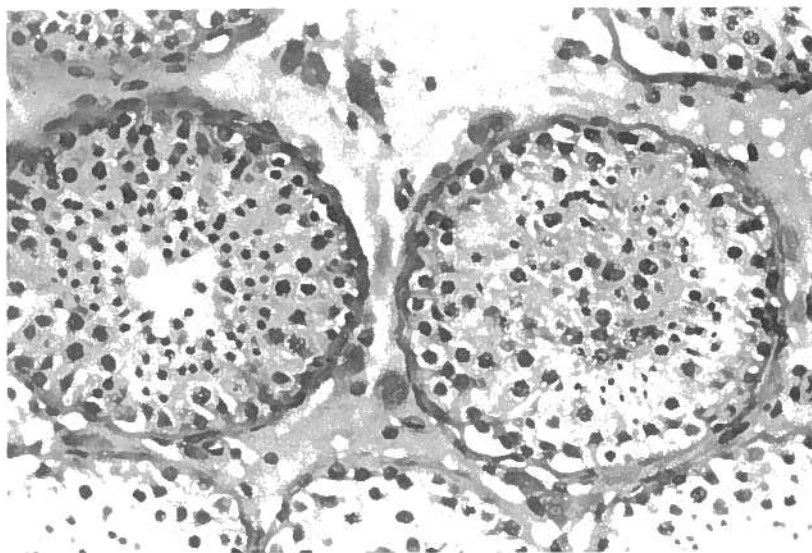


Fig. 8 — *Espermatogênese completa HE X 160*

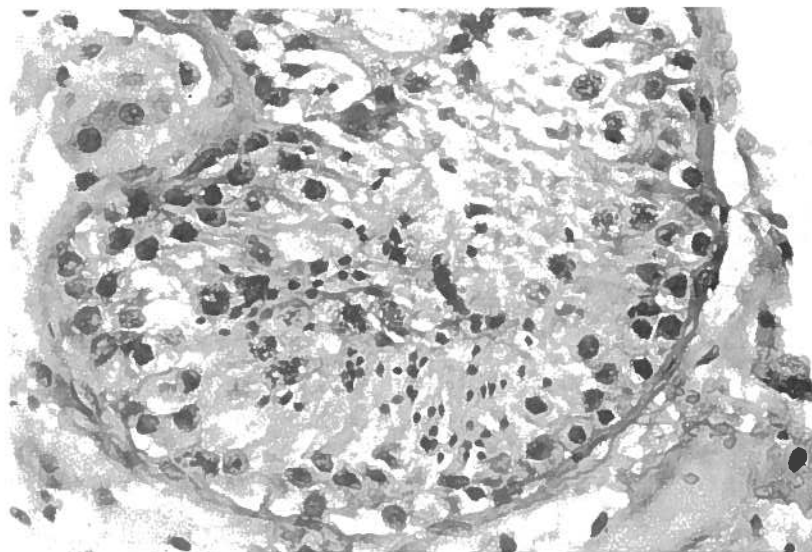


Fig. 9 — *Espermatogênese completa HE X 250*

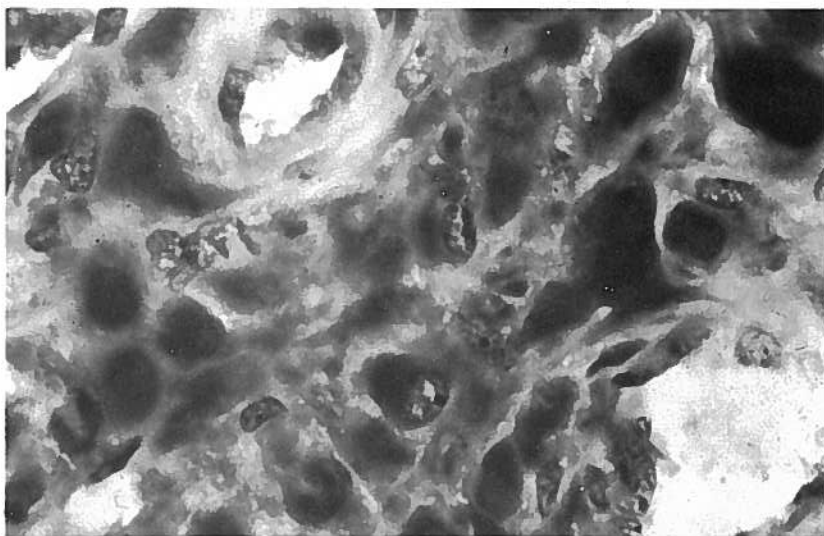


Fig. 10 — Hiperplasia verdadeira das células de Leydig do interstício Tricrômio de Masson X 400

*Tecido Conjuntivo*²⁴

Albugínea

Aplasia — Observa-se uma diminuição da espessura da albugínea devido à fusão do tecido conjuntivo.

Hipoplasia — A albugínea tem uma espessura diminuída não se distinguindo as camadas consecutivas, com redução da celularidade; as fibras colagénias estão horizontalizadas e *fundidas*. Há situações em que está presente a camada mais profunda com numerosos vasos e tecido conjuntivo jovem.

Hipertrofia — A espessura da albugínea está aumentada devido a um aumento do número de fibras colagénias em todas as camadas.

Atrofia — A albugínea tem uma espessura reduzida coincidindo com gradual desaparecimento das três camadas.

Espaço intertubular

Edema — É consequência dos mecanismos habituais de produção do edema e resulta de alterações gerais ou locais.

Isquémia — Resulta da trombose da artéria espermática e ocasiona necrose do tecido do testículo.

Fibrose — Há um alargamento do espaço intertubular por hiperprodução de fibras colagénias.

Infiltrado celular — Podem existir polimorfonucleares, plasmocitos, linfocitos, mastócitos em maior ou menor quantidade consoante a situação clínica subjacente.

Parede tubular

Hipoplasia — O diâmetro dos tubos seminíferos está reduzido, o que demonstra a persistência no testículo adulto das características pré-pubescentes.

Espessamento — A membrana tubular está aumentada de espessura, o que se exprime por dois processos diferentes: 1) *Fibrose* — que consiste na exagerada produção do colagénio, facto que origina o aumento de camadas concêntricas de fibras e células peritubulares (Fig. 11). A membrana basal encontra-se também espessada e forma várias camadas com aspecto lamelar, como se observa ao microscópio electrónico. 2) *Hialinose* — encontra-se, em microscopia de luz um material amorfo, homogéneo e eosinófilo e, em microscopia electrónica uma estrutura fibrilar, que substitui as fibras elásticas da membrana tubular. As fibras aparecem fragmentadas e distorcidas e as células peritubulares são por vezes atrofiadas. A membrana basal pode apresentar-se descontínua ou mesmo completamente desintegrada (Fig. 12).

O espessamento da parede tubular pode aparecer isolado ou associado a fibrose, sendo ambos responsáveis pela diminuição do diâmetro dos tubos seminíferos.

Dissociação — Na dissociação há separação das fibras colagénias e células peritubulares, que pode conduzir ao afastamento da membrana basal em relação ao epitélio seminal e às células de Sertoli.

Da avaliação e conjugação das lesões elementares ao nível dos diferentes compartimentos do testículo, identificam-se as várias síndromes da esterilidade masculina. Este aspecto será tratado na segunda parte deste trabalho.

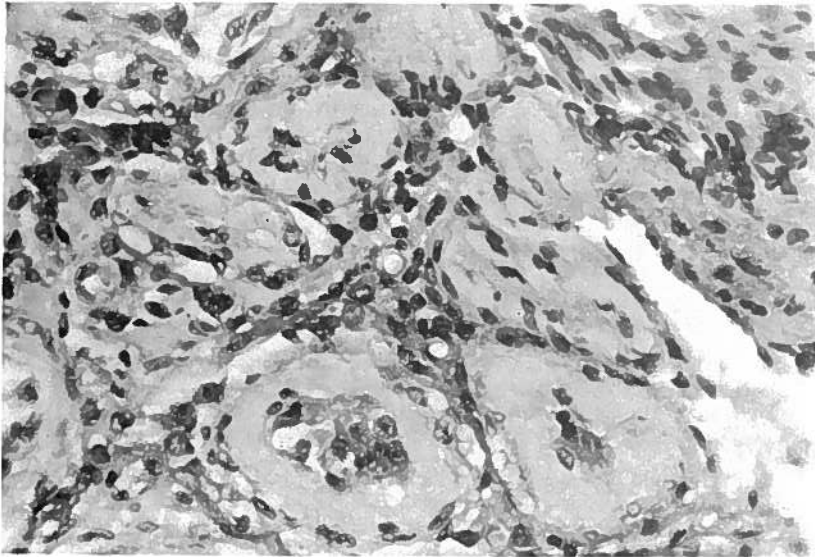


Fig. 11 — *Espessamento da parede tubular HE X 160*

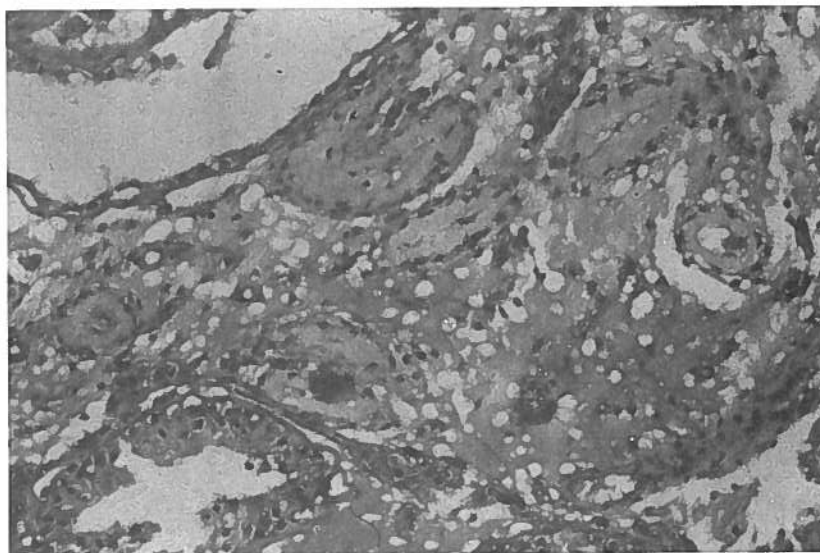


Fig. 12 — Esclero-hialinose das paredes tubulares. Tricrômio de Masson X 160.

SUMMARY

TESTICULAR BIOPSY IN MALE STERILITY

Technique, avaluation and interpretation

We review the use of testicular biopsy in male sterility considering the absolute and relative indications of the method, its description, complications and avaluation. The different lesions observed in the several testicular compartments are emphasized. Some of the problems concerning the avaluations of the method, particularly the need for establishing a standardized way of conveying the histological observation from the pathologist to the andrologist, are taken into account so that the testicular biopsy be in fact a crucial diagnostic tool in the study of male sterility and provide the correct application of the therapies available.

BIBLIOGRAFIA

1. CHARNY CW: Testicular biopsy-its value in male sterility. *Jama* 1940; 115 (17): 1429.
2. HOTCHKISS RS: Testicular biopsy in the diagnosis and treatment of sterility in the male. *The Bulletin* 1941; 600
3. WONG TW, STRAUSS FH, WARNER NE: Testicular biopsy in the study of male infertility. *Arch Pathol* 1973; 95: 151
4. HAFEZ ESE: Introduction to andrology. In: *Techniques of Human Andrology*. Vol 1. 1.^a Ed. Ed E. S. E. Hafez. Elsevier/North Holland Biomedical Press. p 3, 1977.
5. GIRGIS SM, HAFEZ ESE. Evaluation of testicular biopsy. In: *Techniques of human andrology*. Vol 1. 1.^a Ed. ESE Hafez. Elsevier/North Holland Biomedical Press. p 83, 1977.
6. COLGAN TJ, BEDARD IC, STANDBRIDGE HTG, BUCKSPAN MB, KLOTZ PHG: Reappraisal of the value of testicular biopsy in the investigation of infertility. *Fertil Steril* 1980; 33 (1): 56.

7. LEVIN HS: Testicular biopsy in the study of male infertility — its current usefulness, histologic techniques and prospects for the future. *Human Pathology* 1979; 10 (5): 569.
8. ROWLEY JJ, MILLER CG: The testicular biopsy: surgical procedure, fixation and staining techniques. *Fertil Steril* 1966; 17 (2): 177.
9. HELLINGA G: Techniques. In: *Clinical Andrology*. 1. 1.^a Ed Williams Heinemann Medical Book Ltd. p 29, 1976.
10. ROOSEN RUNGE EC: Quantitative investigations of human testicular biopsies. I Normal Testis. *Fertil Steril* 1956; 7: 251.
11. ROOSEN-RUNGE EC, MARBERGER E, NESON WO: Quantitative investigations on human testis biopsies. II. Infertility and other conditions. *Fertil Steril* 1957; 8: 203.
12. MANCINI RE, ROSEMBERG E, CULLEN M, LAVIERI JC, VILAR O, BERGADA C, ANDRADA JA: Cryptorchid and scrotal testis. I. Cytological, cytochemical and quantitative studies. *J Clin Endocr* 1965; 25: 927.
13. HELLER CG, CLERMONT Y: Kinetics of the germinal epithelium in man. *Recent Progr Horm Res* 1964; 20: 545.
14. STEINBERGER E, TJHOE DY: A method for quantitative analysis of human seminiferous epithelium. *Fertil Steril*, 1968; 19: 960
15. JOHNSEN SG: Testicular biopsy score count — a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970; 1: 1.
16. HELLINGA G, SWAEN GJV, VAN DER ESCH EP: Morphological semi-quantitative scoring of testicular biopsy in infertility. *Andrologia* 1972; 4 (1): 55.
17. SCHIRREN C: Diagnosis of andrological disorders. In: *Practical andrology*. 1.^a Ed. Ed Verlag Brüder Hartmann Berliner. p 34, 1972.
18. SILVESTRE F, CASPURRO MS: Quadros morfológicos da patologia testicular em material de biópsia. *Boletim do Hospital Geral de Santo António*, 1978; 1 (7): 71.
19. HELLINGA G: Abnormal function of the testis. In: *Clinical Andrology*. 1.^a Ed. Ed William Heinemann Medical Books Ltd. p 137, 1976.
20. MANCINI RE, VILAR O, LAVIERI JC, ANDRADA JA, HEINRICH JJ: Development of Leydig cells in the normal human testis. *Am J Anat* 1963; 112: 203.
21. RUBIN PH, CESARIN JP, MATTEI A, LAFFARGUE P, VAGUE J. Étude en microscope électronique de la cellule de Leydig chez l'homme normal. *Ann Endocr* 1971; 32 (5): 661.
22. SCHIRREN C, TOYOSI JO, WURST I. Testicular histology in Klinefelter's Syndrome. *Int Urol Nephrol* 1970; 2 (2): 187.
23. JANCZEWSKI E, BABLOK L: The diagnostic and prognostic significance of the testicular biopsy. *Andrologia* 1978; 10 (5): 393.
24. MANCINI RE, VILAR O, PEREA DEL CARMO, M, LAVIERI JC. Changes in the stromal connective tissue of the human testis. A histological, histochemical and electronmicroscopical study *Acta Phys Latino-Americana* 1964; 14: 382.

Pedido de separatas: *Luis F. Gonçalves*
Serviço de Anatomia Patológica
Hospital de Santa Maria
1600 Lisboa - Portugal