



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
"ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES"**

**Valores hormonales y volumen testicular en la
azoospermia no obstructiva**

T E S I S

Que para obtener el título de:

**ESPECIALISTA EN BIOLOGÍA DE LA
REPRODUCCIÓN HUMANA**

**P R E S E N T A
JOSÉ ARTURO YÁÑEZ ESPINOSA**

PROFESOR TITULAR DEL CURSO:

DR. FERNANDO GAVIÑO GAVIÑO

DIRECTOR DE TESIS :

DR. ARMANDO JUÁREZ BENGUA



MÉXICO, D. F. 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A U T O R I Z A C I Ó N D E T E S I S

Valores hormonales y volumen testicular en la azoospermia no obstructiva

DR CARLOS RAMIREZ ISARRARAZ
SUBDIRECTOR ACADEMICO Y DE GESTION EDUCATIVA

DR. FERNANDO GAVIÑO GAVIÑO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

DR. ARMANDO JUAREZ BENGOA
DIRECTOR DE TESIS Y ASESOR METODOLÓGICO

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad de existir

A mis padres por haberme educado y apoyado siempre con amor y valores

A mi esposa e hijo por su enorme paciencia y amor incondicional

A mis profesores por todo lo que me han enseñado

A mi familia y amigos por su apoyo en tiempos difíciles

Gracias

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a ti Annel y a ti Emilio, gracias por su cariño y comprensión, perdón por el tiempo que les debo

Los amo

ÍNDICE

1. Introducción		
1.1	Espermatogénesis	8
1.2	Azoospermia	11
1.3	Clasificación de la azoospermia	11
1.4	Valores hormonales normales	12
1.5	Volumen testicular	15
1.6	Causas de azoospermia no obstructiva	18
1.7	Diagnostico de la azoospermia no obstructiva	19
1.8	Tratamiento de la azoospermia no obstructiva	22
1.9	Pronostico del tratamiento de la azoospermia no Obstructiva	29
2. Planteamiento del problema		32
3. Pregunta de investigación		32
4. Justificación		32
5. Objetivos		32
5.1.	Objetivo general	32
5.2.	Objetivos específicos	33
6. Material y métodos		33
6.1.	Diseño del estudio, método de muestreo y análisis estadístico	33
6.2.	Definición operacional de variables	34
6.3.	Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	36
7. Resultados		37
8. Discusión		44
9. Referencias bibliográficas		47

RESUMEN

Objetivo: Conocer los valores hormonales y volúmenes testiculares en pacientes con azoospermia no obstructiva

Diseño: Estudio observacional, descriptivo, transversal

Participantes: Pacientes con azoospermia en la espermatobioscopia directa analizada en la coordinación de infertilidad en el periodo de octubre de 2005 a junio de 2010 y cuyo expediente clínico contaran con datos requeridos para el estudio. Solo se incluyeron pacientes con azoospermia no obstructiva

Mediciones de desenlace principal: Valores hormonales de LH, FSH, testosterona estradiol y volumen testicular, correlación de los valores hormonales con volumen testicular con cálculo del coeficiente de correlación de Pearson para cada caso.

Resultados: Los niveles medios de FSH fueron de 28.6 ± 18.1 . Volumen testicular derecho por USG 3.47 ± 3.0 , testículo izquierdo 3.5 ± 3.5 . Coeficiente de correlacion negativo entre FSH y volumen testicular de -0.42 y de LH de -0.74 . Coeficiente de correlacion negativa entre FSH, LH y testosterona

Conclusiones:

Se encontró una prevalencia de 1.14% para azoospermia no obstructiva, se encontro una correlacion entre niveles de FSH, LH y volumen testicular, asi como una correlacion entre niveles de FSH, LH y testosterona.

Palabras clave: Azoospermia no obstructiva, valores hormonales, volumen testicular

ABSTRACT

Objective: To assess the hormonal profile and testicular volume in men with non-obstructive azoospermia

Design: Descriptive, cross-sectional study

Participants: Patients with azoospermia in the andrology clinic in the period of October of 2005 to June of 2010 and whose clinical record would count on data required for the study. We only include patients with non-obstructive azoospermia.

Measurements and main outcomes: Hormonal values of LH, FSH, testosterone, estradiol and testicular volume, correlation of the hormonal values with testicular volume with calculation of the coefficient of correlation of Pearson for each case.

Results: The mean levels of FSH of 28,6 was 28.6 ± 18.1 . Testicular volume using ultrasonography was $3.47 \pm 3,0$ for right testicle and $3,5 \pm 3.5$ for left testicle. Negative coefficient of correlation was seen between FSH and testicular volume of -0,42 and LH of -0.74 respectively. Coefficient of negative correlation was seen between FSH, LH and testosterone

Conclusions: There was a prevalence of 1,14% for non-obstructive azoospermia, we find a correlation between FSH levels, LH and testicular volume, as well as a correlation between FSH levels, LH and testosterone as described in some other reports

Key words: Non-obstructive azoospermia, hormonal values, testicular volume

1.0 Introduccion

1.1 Espermatogénesis. El término espermatogénesis se refiere a la secuencia completa de fenómenos mediante los cuales las espermatogonias se transforman en espermatozoides. Este proceso de maduración se inicia en la pubertad, entre los 13-16 años y continúa hasta la vejez.

Ocurre en los túbulos seminíferos durante la vida sexual activa como consecuencia del estímulo producido por las hormonas gonadotrópicas de la hipófisis anterior. Estos túbulos tienen gran número de células pequeñas y medianas denominadas espermatogonias, las cuales están situadas en dos o tres capas a lo largo del borde externo del epitelio tubular. Durante la primera etapa de la espermatogénesis las espermatogonias primitivas, localizadas junto a la membrana basal del epitelio llamadas espermatogonias tipo A, se dividen y originan células diferenciadas llamadas espermatogonias tipo B.

Después de varias divisiones adicionales estas células se convierten en espermátocitos primarios de gran tamaño, los que se a su vez se dividen para formar dos espermátocitos secundarios, los cuales generan cuatro espermátides. Cada una de ellas cambia gradualmente hasta convertirse en un espermatozoide por medio de la pérdida de citoplasma, de la reorganización del material cromatínico del núcleo, de la formación de una cabeza compacta, de la acumulación del citoplasma residual y de la membrana celular en un extremo de la célula para formar la cola. El proceso completo de espermatogénesis dura aproximadamente 74 días. La diferenciación de las células germinales masculinas, de espermatogonia a espermatozoide en el epitelio seminífero, es controlada por hormonas, factores de crecimiento, temperatura e interacción con las células de Sertoli.

El defecto de la especialización ectoplásmica (estructura del área cortical de las células de Sertoli y de la superficie de la región acrosomal de las espermátides) lleva a la detención de la espermatogénesis en la meiosis. Las células de Sertoli tienen un importante papel nutricional: sintetizan transferrina, inhibina, proteína fijadora de andrógenos (ABP) y factores de crecimiento; están en

contacto con las células germinales y participan en la división celular. La actividad secretora de las células de Sertoli es modulada por las células germinales (en particular por los espermatocitos en fase de paquiteno y espermátides tempranas).

Las células peritubulares producen un factor paracrino dependiente de la testosterona que modula la función de las células de Sertoli, estimulando *in vitro* la producción de transferrina y de ABP. La síntesis de ABP, inhibina y transferrina es también activada por la hormona folículo estimulante. La hormona luteinizante secretada por la hipófisis anterior estimula a las células de Leydig para que secreten la testosterona necesaria para la actividad espermatogénica en sus últimos pasos; además, se estimula la división meiótica de los espermatocitos primarios para que formen espermatocitos secundarios.

La hormona folículo estimulante estimula a las células de Sertoli; sin este estímulo no ocurre la conversión de espermátide en espermatozoide y se incrementa en presencia de daño severo de los túbulos seminíferos debido a la disminución de la secreción de inhibina, la cual juega un papel importante en la regulación de la secreción de hormona folículo estimulante.

En algunos hombres con detención en el nivel de espermatocito primario se registraron concentraciones elevadas de hormona folículo estimulante, lo cual puede deberse a la disminución de la población germinal basal, lo que ocurre en conjunto con el decremento en el número de espermátides. Los receptores de hormona folículo estimulante se localizaron en las células de Sertoli y en la espermatogonia. La actividad mitótica de la espermatogonia es estimulada por la hormona folículo estimulante (en particular durante la pubertad) la cual se utiliza para la insuficiencia gonadotrópica. La hormona del crecimiento propicia, de manera específica, la división temprana de las espermatogonias; en su ausencia hay deficiencia grave o falta absoluta de espermatogénesis.

La apoptosis acelerada, más que la disfunción proliferativa en la fase meiótica, puede inducir disminución en el número de espermatogonias. Esto sugiere que las alteraciones del control y la regulación de apoptosis pueden participar en la patogénesis de la hipoespermatogénesis idiopática.

Cuando cada espermatocito primario se divide para formar dos espermatocitos secundarios, la división celular no es del tipo ordinario en la cual se reproducen los 23 pares de cromosomas, sino que sólo se dividen entre sí y permiten que pasen 23 cromosomas impares hacia cada espermatocito secundario.

A continuación se divide cada espermatocito secundario para formar dos espermátides, en este momento se reproduce cada cromosoma impar, y cada uno de los cromosomas nuevos pasa hacia una espermátide secundaria. Cada espermátide retiene un juego completo de 23 cromosomas impares y cada espermatozoide maduro contiene también sólo cromosomas impares.

Todo este proceso de división de los pares de cromosomas y de formación de nuevas células con sólo cromosomas impares, se denomina meiosis. Este proceso en humanos es complejo y con limitaciones en su comprensión total. Este proceso puede ser deficiente tanto en cantidad como en calidad.^{1,2}

La espermatogénesis se lleva a cabo en el compartimento tubular. Este compartimento representa cerca del 60-80% del volumen testicular total. Contiene las células germinales y 2 tipos de células somáticas, las células peritubulares y las células de Sertoli. El testículo está dividido en septos de tejido conectivo en cerca de 250-300 lóbulos, cada uno contiene de 1 a 3 túbulos seminíferos altamente enrollados. En términos generales el testículo humano contiene cerca de 600 túbulos seminíferos. La longitud de cada túbulo seminífero es de aproximadamente 60 cm.⁴

1.2 Azoospermia.

El término de azoospermia se define como la ausencia de espermatozoides en el eyaculado usando al examen microscópico de alto poder de una muestra de semen centrifugado, por lo menos en 2 ocasiones.⁶ La OMS recomienda centrifugación por 15 minutos a una velocidad preferentemente de 3000g ó mayor. El estudio requiere al menos 2 muestras con un periodo entre cada una de ellas de por lo menos 4 a 6 semanas.⁷

La prevalencia de la azoospermia es aproximadamente del 1% en la población masculina y varía de 10 al 15% en hombres con infertilidad.⁸

Se ha encontrado que hasta dos tercios son de tipo no obstructivo.⁹ Antes del advenimiento y desarrollo de la ICSI, la donación de semen era la única opción para estos hombres. Con la experiencia ganada, ahora un gran número de hombres con azoospermia no obstructiva pueden ser sometidos a fertilización *in vitro* e ICSI (32). Con el desarrollo de esta técnica muchos hombres con azoospermia no obstructiva, como el síndrome de sólo células de Sertoli o pacientes con hipoespermatogénesis se pueden someter a tratamientos de reproducción asistida (TRA); el objetivo primordial es la obtención de espermatozoides maduros.^{10,11}

1.3 CLASIFICACIÓN DE AZOOSPERMIA. La evaluación del paciente con azoospermia esta dirigida a determinar la causa y opciones de tratamiento que puedan ser efectivas. Las causas de azoospermia pueden ser divididas en 3 principales categorías:

Pre testicular. Incluyen causas como anomalías endocrinológicas que tengan efectos adversos en la espermatogénesis y son raras.

Testiculares. También llamada falla testicular primaria, conjunta trastornos de la espermatogénesis por causas directas del testículo

Post testiculares. Relacionadas a disfunción eyaculatoria u obstrucciones ductales las cuales previenen que los espermatozoides lleguen al meato uretral; éstas se pueden identificar en 40% de los casos.⁸

Otra forma de clasificar la azoospermia consiste en azoospermia obstructiva y no obstructiva. La azoospermia obstructiva (AO) se caracteriza por una espermatogénesis adecuada y una oclusión física del tracto reproductor distal al testículo, la cual previene que los espermatozoides entren en contacto con el semen. La azoospermia no obstructiva (ANO) es causada por una producción espermática reducida, causando la ausencia de espermatozoides en el semen. Aún cuando la recuperación espermática y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) sean empleadas, la distinción en el tipo de azoospermia es importante debido a 2 factores: el éxito en la recuperación espermática es más probable en la azoospermia obstructiva y existe un potencial subyacente de defectos genéticos en ambas.¹²

1.4 Valores hormonales normales.

Las determinaciones aisladas de gonadotropinas permiten identificar pacientes con estados hiper ó hipogonadotrópicos, si los valores se encuentran muy por encima o por debajo de los valores normales. Cuando éstos rondan en el límite normal, la interpretación puede alterarse por la secreción pulsátil de gonadotropinas, que introduce error en muestras aisladas, de $\pm 60\%$ para la LH y $\pm 20\%$ para la FSH. Se sugiere la toma única de muestra, y si los valores se encuentran por arriba o por debajo de los valores de referencia se deben de tomar 4 muestras con intervalo de 20 minutos.

Existen otros factores que pueden influir en los niveles hormonales: el envejecimiento altera éstos, por lo que se recomienda correlacionar los resultados con la edad. El ritmo diurno de la testosterona requiere que la muestra sea obtenida temprano, entre las 8 y 10 am. Las pruebas inmunológicas que detectan LH y FSH pueden ser afectadas por determinantes antigénicos aberrantes en la molécula de gonadotropina. Bajo estas circunstancias pueden existir diferencias entre el método bioquímico e

inmunológico. Así mismo pueden existir mutaciones en los genes de las gonadotropinas, lo que produce hormonas biológicamente similares, pero que carecen de sitios apropiados de reconocimiento antigénico, sucediendo hasta en el 28% de ciertas poblaciones.⁵

Las hormonas juegan un papel vital en el inicio y el mantenimiento de la función reproductiva masculina y aún no es bien comprendido qué tanto la variabilidad en distintos niveles afecta a la calidad seminal. Algunos estudios han reportado que títulos de ciertas hormonas circulantes se encuentran relacionados con parámetros de calidad seminal. En particular la inhibina B y la FSH se han propuesto como marcadores de espermatogénesis y la función de la célula de Sertoli, y se ha sugerido que la medición de estas hormonas puede servir como sustituto de medidas de calidad seminal o fecundabilidad en estudios epidemiológicos.

En un estudio se encontró que los niveles de inhibina B se correlacionaron positivamente con la concentración espermática, mientras que la FSH se correlacionó negativamente. Ese estudio también reportó un valor predictivo positivo para detectar concentraciones espermáticas por debajo de 20×10^6 en pacientes con valores de inhibina B por debajo de 80pg/ml y el valor de FSH mayor de 10 UI/L fue de 100%. Otras publicaciones han encontrado relaciones similares. En otros estudios se ha encontrado relación entre valores de inhibina B y concentración espermática, motilidad y morfológica así como una correlación negativa entre la FSH y la concentración espermática y morfológica.

Esta asociación es explicable debido a que la FSH es una gonadotropina es producida y secretada por la hipófisis anterior que actúa en las células de Sertoli en los túbulos seminíferos para iniciar la espermatogénesis. Las células de Sertoli secretan inhibina B la cual es una hormona proteica. De esta manera existe una asociación entre la concentración espermática y la concentración espermática debido a que la regulación de ambos factores es dependiente de la función de la célula de Sertoli. Asimismo la relación inversa entre la FSH e inhibina B y la concentración espermática puede deberse al efecto de la

retroalimentación negativa ejercida por la inhibina B en la hipófisis anterior para inhibir la secreción de FSH.¹⁶

Niveles hormonales basales	
Hormona	Valor
LH	4-20mUI/ml
FSH	4-20mUI/ml
Testosterona	300-1.200ng/ml

Yen Samuel, Jaffe R, Barbieri R. Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico. 4a edición. Editorial Panamericana

Los estudios para una evaluación hormonal adecuada incluyen FSH y testosterona. Usualmente la distinción entre la azoospermia obstructiva de la no obstructiva puede realizarse basado en los hallazgos clínicos. Se ha encontrado que hasta el 96% de los hombres con azoospermia obstructiva tienen niveles de FSH menores o iguales a 7.6 mIU/ml ó volúmenes testiculares en su eje mayor de 4.6cm o superiores, mientras que el 89% de los hombres con azoospermia no obstructiva tienen niveles de FSH mayores de 7.6 mIU/ml ó volúmenes testiculares en su eje mayor menores de 4.6cm.⁸

Aunque en la mayoría de los hombres con FSH elevada tienen disfunción espermática, no existe un nivel de FSH arriba del cual se pueda descartar una obstrucción. Hombres azoospermicos con FSH menor a 2 veces el valor de referencia y al menos 1 conducto deferente palpable, potencialmente tienen obstrucción. La biopsia testicular se indica en estos hombres. Los hombres azoospermicos con valores de FSH mayor a 2 veces el valor de referencia fueron en el pasado descartados para practicárseles biopsia testicular debido a que la posibilidad de obstrucción era muy baja. Sin embargo aunque estos hombres probablemente presenten falla testicular, pueden tener espermatozoides presentes y pueden potencialmente establecer un embarazo mediante la extracción testicular de espermatozoides (TESE) e ICSI. Pacientes con sospecha de falla testicular pueden aun así beneficiarse de la biopsia testicular.

Niveles bajos de FSH, testosterona y LH sugieren hipogonadismo hipogonadotrópico. En estos casos se debe descartar una tumoración ocupativa en cráneo mediante imagenología. Pacientes azoospermicos con volumen seminal disminuido, FSH normal y al menos 1 conducto deferente palpable, debe de realizarse ultrasonografía transrectal para evaluar obstrucción ductal.¹²

1.5 Volumen testicular. El testículo adulto tiene forma ovalada de aproximadamente 4.5 x 2.5 x 3cm. Cada testículo contiene de 500 a 1000 túbulos seminíferos, cada uno conteniendo 800 millones de células germinales. Estos túbulos se encuentran rodeados por aproximadamente 700 millones de células de Leydig en el intersticio de los testículos. Aproximadamente el 80-90% del volumen testicular consiste en túbulos seminíferos y células intratubulares. Un decremento en el ancho tubular puede reflejarse en un volumen disminuido del testículo. La determinación del tamaño, forma y consistencia del testículo es una parte esencial en la evaluación de la infertilidad masculina. El uso de medidas estandarizadas ya sea por orquidómetros, calibrador Vernier o ultrasonido se sugiere ampliamente.¹³

La medición correcta del volumen testicular es una manera de valorar la función testicular. En hombres infértiles el volumen testicular se ha correlacionado con el perfil seminal. Tradicionalmente el volumen testicular se ha obtenido usando instrumentos de medición tales como el orquidómetros de Prader, calipers y el ultrasonido.

El volumen testicular puede ser medido fácilmente mediante el orquidómetros de Prader, el cual fue introducido en 1966 y es de uso común en la actualidad. Consiste en una cuenta de 12 modelos ovoideos numerados con los cuales se comparan los testículos. Actualmente el ultrasonido es usado para estimar el volumen testicular y existe una fuerte correlación entre los estimados obtenidos por el orquidómetros y el ultrasonido.¹⁴ Algunos autores señalan un volumen testicular normal de 19 ml o mayor.⁸

De acuerdo a un estudio reciente se determino la exactitud en la medición del volumen testicular usando el orquidometro de Prader y el ultrasonido. Se midieron los testículos de 20 pacientes con cáncer prostático y se midieron con los 2 instrumentos, las formulas usadas por el ultrasonido fueron: Largo (L) x Ancho (A) x Alto (Al) x 0.52, Largo (L) x Ancho (A)² x 0.52 y Largo (L) x Ancho (A) x Alto (Al) x 0.71. Los volúmenes testiculares fueron determinados por el desplazamiento de agua de los especímenes quirúrgicos.

La media de volumen fue de 9.3cm³, las 3 formulas usadas por ultrasonido tuvieron una correlación mayor que las medidas del orquidómetro; de estas formulas Largo (L) x Ancho (A) x Alto (Al) x 0.71 fue la que tuvo la menor diferencia. Como conclusión este estudio muestra que la medición del volumen testicular por la ultrasonografía es mas exacto que el orquidometros de Prader, y que la formula Largo (L) x Ancho (A) x Alto (Al) x 0.71 fue la mas exacta en calcular el volumen testicular.¹⁹

Otras mediciones comparativas en cuanto al tamaño testicular son las siguientes:

Tamaño Testicular			
Método	Prepuberal	Puberal	Adulto
Orquidometro (ml)	1-6	8-15	20-30
Medición con regla (cm)			
Largo	1.6-2.9	3.1-4.0	4.1-5.5
Ancho	1.0-1.8	2.0-2.5	2.7-3.2

Yen Samuel, Jaffe R, Barbieri R. Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico. 4a edición. Editorial Panamericana

De acuerdo a otras publicaciones en el adulto se habla de hipotrofia testicular cuando existe un volumen menor a 14,0 una diferencia mayor a 3 cc con el testículo contralateral.²⁰

El decremento en la función testicular al avanzar la edad ha sido efecto de numerosos estudios. Se ha reportado una disminución en el tamaño testicular y testosterona circulante en ancianos, sin embargo estudios más recientes en los cuales se aplicaron pacientes preseleccionados para excluir enfermedades concomitantes no han demostrado una disminución en el tamaño testicular o niveles de testosterona. Otros estudios han sugerido que el volumen testicular disminuye con la edad. Debido a que el 90% del volumen testicular se encuentra ocupado por túbulos seminíferos, la espermatogénesis probablemente disminuya paralelamente a la disminución del volumen testicular.

También se ha mencionado que la producción espermática disminuye al aumentar la edad, mientras que los niveles de FSH, los cuales están inversamente relacionados a la integridad funcional de la espermatogénesis aumentan conforme aumenta la edad.

Tradicionalmente en pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO) se presentan frecuentemente con testículos pequeños y suaves y concentraciones elevadas de FSH.²¹

En un estudio realizado en 1056 necropsias en hombres entre 18 a 96 años se ha demostrado que el volumen testicular no disminuye hasta la octava década de la vida en hombres por muerte súbita sin evidencia de enfermedades asociadas. Sin embargo los efectos del envejecimiento y/o algunas enfermedades pueden influir en el volumen testicular indirectamente así como directamente a las células del compartimento intersticial. La razón de la disminución del volumen testicular después de los 70 años no está clara; probablemente este asociada a cambios vasculares o degeneración por microangiopatía. Se demostró que los valores medidos en cadáveres fue al menos 20% menor que en aquellos reportes con uso de orquímetros. Esta variabilidad se puede deber a la inclusión del epidídimo, variabilidad de el grosor y elasticidad de la piel escrotal o compresión del contenido escrotal. Asimismo se encontraron diferencias en el volumen testicular entre varios grupo étnicos.¹⁸

1.6 Causas de azoospermia no obstructiva

Principalmente se debe a falla espermatogénica primaria, la cual se define como cualquier alteración en la espermatogénesis. Las formas severas de la falla espermática tiene diferentes etiologías, pero se presentan clínicamente como azoospermia no obstructiva (ANO).⁵¹

Causas de falla espermatogénica
Anorquia
Factores congénitos (disgenesia testicular)
Factores adquiridos (trauma, torsión testicular, tumores, cirugía)
Fallo en el descenso testicular
Síndrome de Klinefelter
Alteraciones cromosómicas
Aplasia de células germinales
Aplasia focal o completa de células germinales (Síndrome de células de Sertoli), congénito o adquirido: Fallo en el descenso testicular, radiaciones, fármacos citotóxicos
Arresto espermático
Orquitis postinflamatoria
Factores exógenos (medicamentos, toxinas, radiación, calor)
Tumor testicular
Varicocele
Cirugías que puedan dañar la vascularización de los testículos
Idiopáticas

Dohle G, Jungwirth A, Colpi G, et al. Guidelines on male infertility. European Association of Urology 2008

De otra manera la etiología de la azoospermia no obstructiva (ANO) se puede definir como falla testicular, falla primaria de las células germinales, síndrome de células de Sertoli, hipogonadismo hipogonadotrópico o idiopático.³

Relación entre etiología y niveles hormonales			
Causa	FSH	LH	Testosterona
Falla testicular	>14U/L	>8U/L	Normal o baja (270-1.1ng/dl)
Falla primaria de células germinales	>14U/L	1-8U/L	>270ng/dl
Hipogonadismo hipogonadotrópico	<14U/L	1-8U/L	<270ng/dl

Fogle R, Steiner A, Marshall F, et al. Etiology of azoospermia in a large inner-city population. Fertil Steril 2006;86:197-199

1.7 Diagnostico de azoospermia no obstructiva. La evaluación del paciente con azoospermia se lleva a cabo para determinar la etiología en la condición del paciente. Esto permite al clínico establecer si la causa de la azoospermia es susceptible de terapia, identificar apropiadamente las opciones de tratamiento y determinar si existe un trastorno medico subyacente como causa de azoospermia.¹⁵

Para el diagnostico de la azoospermia se debe de realizar un análisis seminal de acuerdo con las guías establecidas por la OMS. La ausencia de espermatozoides en el análisis microscópica estándar debe de ser confirmado con la centrifugación de la muestra a 3000 g por 15 minutos con un examen microscópico meticuloso del pellet. Se deben de obtener 2 muestras en un periodo mayor a 4 semanas de diferencia.⁷

Es importante antes de la evaluación inicial tener en cuenta los principales factores que influyen en el pronóstico de la infertilidad, entre los cuales se pueden considerar la duración de la infertilidad, la edad y estado de fertilidad de la pareja femenina, si la infertilidad es primaria o secundaria y los resultados del examen seminal

Cuando la duración de la infertilidad excede 4 años, la tasa de concepción por mes es solamente de 1.5%. Así mismo es importante señalar que mientras más retrase la mujer su primer embarazo, menor será la probabilidad de éste, siendo en una mujer de 35 años del 50%, a los 38 años del 25% y a la edad de 40% sólo del 5%. La edad materna es la variable más importante que interviene en el resultado en reproducción asistida. En el diagnóstico y manejo de la infertilidad masculina es esencial considerar las probabilidades de fertilidad de la mujer.²³

La evaluación inicia con una historia clínica detallada y un examen físico. La historia clínica se debe de incluir antecedente de fertilidad, enfermedades en la infancia, trastornos como orquitis o criptorquidia, trauma pélvico o genital,

cirugía inguinal, infecciones como epididimitis o uretritis, exposición a gonadotóxicos tales como radiación o quimioterapia, fiebres recientes o exposición a calor y tratamientos médicos. Otros antecedentes como historia familiar de defectos al nacimiento, retardo mental, infertilidad o fibrosis quística.

En el examen físico es importante notar presencia de cicatrices umbilicales o escrotales, volumen testicular (normal >19ml) así como la consistencia, características sexuales secundarias, habitus, distribución del vello, ginecomastia, presencia o ausencia de deferentes, consistencia de los epidídimos, presencia de varicocele y tumoraciones palpables en el tacto rectal.

La evaluación por el laboratorio es imprescindible para conocer el estado hormonal del paciente. Los trastornos endocrinos pueden identificarse en hasta 20% de los pacientes infértiles. La testosterona sérica y la FSH pueden identificar el 99% de todos los trastornos endocrinos en hombres con testículos suaves y concentración espermática menor a 1 millón/ml. Otros parámetros hormonales incluyen la LH, prolactina y estradiol, los cuales deben de realizarse de acuerdo con los resultados de las determinaciones hormonales iniciales.²⁴

En términos generales una FSH elevada y niveles disminuidos o normales de testosterona apuntan a una falla testicular primaria, en estos pacientes se deben ofrecer estudios genéticos para excluir anomalías cromosómicas y microdeleciones del cromosoma Y.

Concentraciones séricas bajas de FSH y testosterona apuntan a un hipogonadismo hipogonadotrófico; de igual forma la LH se encuentra disminuida. Este trastorno puede deberse a síndrome de Kallmann o trastornos congénitos o adquiridos de la hipófisis, incluyendo tumores funcionantes o no funcionantes. En estos pacientes se debe evaluar los niveles de prolactina así como estudios de imagen.⁸

Una vez que el diagnóstico de azoospermia se ha establecido, es necesario clasificarlo en obstructiva y no obstructiva. La azoospermia obstructiva (AO) es causada por la obstrucción del sistema ductal a cualquier nivel del ducto deferente a los ductos eyaculadores. La azoospermia no obstructiva (ANO) puede estar causada por una enfermedad intrínseca del testículo (falla testicular primaria) o por alguna alteración endocrina o alguna otra causa (andrógenos exógenos, calor, gonadotóxicos) que suprima la espermatogénesis (falla testicular secundaria).⁷

La azoospermia no obstructiva (ANO) se caracteriza típicamente por testículos con volumen disminuido y FSH elevada y se puede presentar hasta en el 1% de todos los hombres. Los pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO) tienen una deficiencia en la espermatogénesis, con una producción espermática inadecuada como para llegar al eyaculado, a pesar de esto hasta el 60% de los hombres con azoospermia no obstructiva (ANO) pueden tener producción espermática testicular.

La evaluación histológica de los testículos en estos pacientes es siempre anormal y demuestra ya sea un patrón único de células de Sertoli dentro de los túbulos seminíferos, arresto en la maduración o hipoespermatogénesis. Comúnmente se encuentra una combinación de diferentes patrones en la espermatogénesis dentro de los túbulos seminíferos.²⁵

Los pacientes con azoospermia obstructiva típicamente presentan testículos de forma y volumen normales, posiblemente debido al llenado epididimario, así como niveles adecuados de FSH. Los pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO) se presentan frecuentemente con testículos pequeños o suaves y niveles elevados de FSH. Aproximadamente el 21.4% de los pacientes con azoospermia no obstructiva quienes no presentan espermatozoides en el espermatobioscopia inicial presentarán espermatozoides móviles en el centrifugado del pellet considerándose como no azoospermicos.²¹

La fructosa es secretada por las vesículas seminales. Es el carbohidrato más abundante en el plasma seminal, provee más de la mitad de los carbohidratos consumidos por los espermatozoides y es esencial para la motilidad espermática. La fructosa seminal a menudo se mide en forma rutinaria en la evaluación de la función de las vesículas seminales y del factor masculino de infertilidad. De acuerdo con un estudio reciente el cual determinó las concentraciones seminales de fructosa en pacientes con azoospermia obstructiva (AO), azoospermia no obstructiva (ANO) y pacientes fértiles, las concentraciones de fructosa fueron en promedio 2.5mg/dl, 3.22mg/dl y 2.5mg/dl respectivamente, siendo las de azoospermia obstructiva y controles fértiles significativamente menores ($p < 0.0001$ y $p < 0.0002$). Este es el primer informe sobre concentraciones seminales elevadas de fructosa en muestras de pacientes con azoospermia no obstructiva. Ello se debe a metabolismo de fructosa disminuido asociado con azoospermia o a producción aumentada de fructosa por las vesículas seminales.²²

1.8 Tratamiento de la azoospermia no obstructiva

Preparación preoperatoria.

Las pruebas genéticas usadas para identificar la causa de la producción disminuida de espermatozoides pueden proveer información pronóstica y diagnóstica en pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO). El cariotipo y las microdeleciones del cromosoma Y pueden identificar la causa de producción disminuida de espermatozoides hasta en el 15 a 20% de los pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO). Como factores favorables se tienen al síndrome de Klinefelter así como pacientes con microdeleciones AZFc, mientras que el pronóstico es malo en pacientes con microdeleciones AZFa o AZFb. Al determinar alguna alteración en el cariotipo es necesaria la biopsia de blastómeros con diagnóstico genético preimplantación (DGP) ya que éstas pueden transmitirse al embrión.

En pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO) en donde puede haber pequeñas zonas de producción espermática, éstas deben de optimizarse antes del procedimiento invasivo. Generalmente debe dejarse pasar por lo menos 6 meses a cualquier procedimiento invasivo testicular, ya que la inflamación y

cicatrización pueden afectar los resultados. Se pueden mejorar en las concentraciones endógenas de testosterona mediante el uso de inhibidor de aromatasa anastrozole, que aumenta las concentraciones de testosterona y disminuye los niveles de estradiol con el consecuente incremento en la producción espermática en pacientes con oligospermia. El tratamiento consiste en la administración oral de anastrozole 1mg durante 1 mes con repetición de niveles de testosterona y estradiol. Con este tratamiento no se espera que la testosterona incremente lo suficiente como para encontrar espermatozoides en el eyaculado, pero si como para optimizar los niveles intratesticulares de testosterona y la espermatogénesis.²⁵

Biopsia testicular. La biopsia testicular ha sufrido una serie de cambios en los últimos 30 años y con el uso creciente de la biopsia por aspiración se han observado cambios en las indicaciones, técnicas e interpretación de los resultados de ésta. Sin embargo no existe un consenso en cuanto al reporte histopatológico de las biopsias. No existen términos estandarizados para el reporte, y comúnmente se reportan conclusiones vagas y subjetivas. Los avances tecnológicos y la introducción del ICSI han hecho que los patólogos tengan un cuidado especial en el reporte del desarrollo de las células germinales y usen criterios objetivos para la detección de espermatozoides y sus precursores. A la fecha la azoospermia constituye la única indicación para biopsia testicular, en cuanto a opciones para técnicas de reproducción asistida se refiere.

La biopsia testicular comúnmente se ha empleado en dos maneras distintas: para diagnóstico y para la obtención de espermatozoides para técnicas de reproducción asistida de alta complejidad, ICSI.⁴⁶

Se han implicado muchos factores pronósticos para la recuperación de espermatozoides por biopsia testicular como volumen testicular, niveles de testosterona y FSH y otros, pero ninguno ha demostrado realmente ser predictivo^{26,27,28}. También se ha utilizado a la Inhibina B, un factor producido por las células de Sertoli, como factor pronóstico, habiéndose obtenido a la

fecha resultados oscuros. Otros factores implicados en el pronóstico serían la histología testicular y las deleciones del cromosoma Y (AZF).^{29,30}

Técnicas de la Biopsia Testicular

Aspiración Percutánea. En esta técnica se aspiran los espermatozoides por vía percutánea directamente del testículo bajo anestesia local con una jeringa de mariposa de 19-21 G. Utilizando un pistón de jeringa Cameco para aspiración, la jeringa se manipula dentro-fuera, fuera-dentro para liberar túbulos seminíferos. Estos túbulos se sujetan a la piel, se colectan en un medio especial para su análisis y se recuperan los espermatozoides si es posible.

Mercan et al reportaron su experiencia utilizando esta técnica en 452 hombres con azoospermia no obstructiva. La tasa de recuperación fue de 64.4%; aproximadamente el 15% tuvo un procedimiento exitoso, los restantes 228 pasaron a TESE (Testicular Sperm Extraction). De los hombres que tuvieron éxito con esta técnica se encontró que tendían a hipoespermatogénesis y muy pocos a arrestos en la maduración o aplasia de células germinales. Parejas sometidas a TRA con esta técnica tuvieron mayores tasas de embarazo en comparación a aquellas que utilizaron biopsia aleatorias (46% vs. 29%) pero este resultado puede ser influenciado por el número de embriones transferidos (4.3 vs. 3.9).³¹

Otra serie de 55 pacientes reportada por Vicari et al refiere tasas de éxito con esta técnica del 47.3% y éxito en 100% en pacientes con hipoespermatogénesis o arresto en la maduración con espermatogénesis focal por biopsia testicular. En esta serie encontraron tasas de éxito sólo del 42.3% en aquellos pacientes con arresto total de la maduración y del 14.3% en paciente con síndrome de sólo células de Sertoli.³²

La ventaja de esta técnica es que es mínimamente invasiva, lo que disminuye las tasas de complicaciones. La principal complicación es la formación de hematomas intratesticulares detectados por ultrasonido, lo que se reporta entre

el 11.1 % y el 6.3% de los casos, con resolución espontánea del 100% a los 3 meses del procedimiento.³³ La escasa cantidad de tejido testicular obtenido por esta técnica limita la obtención de espermatozoides particularmente en pacientes con falla en la espermatogénesis. Esta técnica se prefiere en hombres que presentan grados más avanzados de espermatogénesis.^{34,35}

Biopsia testicular a Cielo Abierto. En esta técnica se pueden utilizar varios métodos: biopsias aleatorias, múltiples biopsias directas y micro TESE (Testicular Sperm Extraction). Estas técnicas varían en el grado de invasividad, cantidad de tejido obtenido, y tasas de éxito en la obtención de espermatozoides.

Biopsia Aleatoria. Se utiliza para obtener muestras múltiples de todo el testículo. Con estas biopsias se obtienen adecuadas cantidades de tejido aunque sus resultados son variables. Regiones avasculares de la porción media de las caras anterior, lateral o medial de la túnica albugínea son incididas, evadiendo los vasos testiculares y capsulares. La cantidad de tejido obtenido varía de 150 mg a 400-500mg. Una serie reciente refiere tasas de recuperación y éxito en 62%.³⁶

En una serie pasada de 628 hombres con azoospermia no obstructiva se realizaron 784 procedimientos de biopsia a cielo abierto, obteniéndose tasas de éxito en 48%, siendo de 41.6% el éxito en el primer procedimiento.³⁷ La mayoría de los cirujanos refieren que con esta técnica se obtiene mayor cantidad de tejido que con la biopsia directa, pero menos éxitos., con un riesgo de tasas de complicaciones altas.³⁸

Harintog demostró por ultrasonido que el 29% de estos pacientes presentaban hematoma intratesticular considerable secundario a la ablación parenquimatosa seguida de descenso en el suministro sanguíneo testicular y atrofia. En otro estudio 64% de los hombres presentaron áreas hipoecogénicas por ultrasonido secundarias a cicatrices después de la biopsia abierta.^{40,41}

Por el riesgo elevado de complicaciones de la técnica, las bajas tasas de recuperación espermática, las biopsia aleatorias no son la primera elección de obtención de espermatozoides en pacientes con azoospermia no obstructiva., pero algunos pacientes con hipoespermatogénesis se pueden beneficiar.

Múltiples Biopsia Directas. Esta técnica se auxilia de estudios imagenológicos como el Doppler Power para identificar áreas de mayor producción de espermatozoides a nivel de los túbulos seminíferos. Estos estudios de imagen reflejan diferencias en el suministro de sangre, demostrando que las áreas más vascularizadas se asocian a una mayor producción espermática con espermatogénesis más avanzada, haciendo que el cirujano identifique más fácilmente las áreas de obtención de biopsia.^{41,42}

Mapeo testicular. Esta técnica se desarrolló con el fin de identificar los mejores sitios de obtención espermática y para minimizar los costos económicos y emocionales de cancelación de ciclos de TRA de alta complejidad. La técnica se basa en el principio de que la espermatogénesis es un proceso intratesticular que se produce en forma esporádica en cualquier sitio del testículo.⁴³ En esta técnica intraoperatoria se mapea el testículo por cuadrante, identificando la presencia o ausencia de espermatozoides. Esta técnica ha demostrado ser más sensible y específica para demostrar la presencia de espermatozoides que las biopsias directas. Turek demostró que con esta técnica se identifican espermatozoides en el 47% de los pacientes con azoospermia no obstructiva (27/57) y se obtienen espermatozoides suficientes en el 95% de los casos para realizar TRA, con tasas de embarazo del 48%. Las desventajas de esta técnica en cuanto a riesgo de complicaciones quirúrgicas son las mismas observadas en otros procedimientos percutáneos; asimismo requieren de una lectura histopatológica exhaustiva del tejido obtenido.⁴⁴

Microdissección testicular con obtención de espermatozoides (microTESE). Con esta técnica se obtienen túbulos seminíferos que se extraen y son meticulosamente examinados al microscopio en búsqueda de espermatozoides maduros, logrando obtener éstos con extracción mínima de tejido testicular. Estudios comparativos demuestran que con esta técnica se obtienen 160,000

espermatozoides por 9.4 mg de tejido a diferencia del TESE convencional con el que se obtienen 64,000 espermatozoides por 720 mg de tejido obtenido

Numerosos autores han reportado tasas de recuperación de espermatozoides del 50% con esta técnica en pacientes no seleccionados. Las complicaciones con esta técnica son mínimas, pero se puede producir hematoma intratesticular (12% el primer mes, 2.5% a los 6 meses), hipotrofia testicular (2.5%), descenso de los valores séricos de testosterona, y teóricamente insuficiencia hormonal a largo plazo, siendo estas inherentes a cualquier técnica de obtención de espermatozoides.⁴⁵

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) con espermatozoides obtenidos por extracción testicular (TESE) es empleada en pacientes con azoospermia. Sin embargo en pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO) no es posible obtener espermatozoides en 50% de los casos, siendo un problema con implicaciones financieras, de aquí la necesidad de contar con pruebas predictivas no invasivas. Se han propuesto diversos marcadores clínicos, bioquímicos e histopatológicos como FSH, inhibina B, volumen testicular y biopsia testicular diagnóstica.¹⁷

En pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO) deben realizarse estudios genéticos antes de proceder a técnicas de reproducción asistida (TRA). Aproximadamente un 40-60% de estos pacientes tendrán espermatozoides presentes en los testículos, los cuales pueden ser usados para ciclos de ICSI. En estos pacientes la biopsia testicular no debe de realizarse solo como una modalidad diagnóstica sino también como una maniobra terapéutica para la recuperación espermática.²¹

El primer embarazo con espermatozoides obtenidos de testículo e ICSI fue reportado en 1993 en un paciente con azoospermia obstructiva no reconstruible.⁷

La extracción testicular de espermatozoides (TESE) aunado a la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) se han aplicado a la azoospermia no obstructiva (ANO) y representa un extraordinario avance en el

tratamiento para una de las formas más severas de infertilidad por factor masculino. Se ha logrado una recuperación espermática exitosa en aproximadamente 77% de acuerdo a varias series (Turek et al 1997, Schlegel 1999, Meng et al 2000). En una serie de casos de TESE guiados con mapeo de aguja fina hubo una tasa exitosa de recuperación espermática del 95%.

Predecir una recuperación espermática exitosa es difícil. De hecho de los mejores predictores en el éxito son los patrones histológicos de una biopsia previa. TESE no es un procedimiento inocuo, puede presentarse atrofia subsecuente a varias biopsias. La evidencia sugiere que si es necesario repetir el procedimiento, éste debe de repetirse en un plazo de al menos 6 meses para minimizar el riesgo de daño testicular.

El éxito de la recuperación espermática en la azoospermia no obstructiva (ANO) depende del adecuado muestreo del testículo. La mayoría de los reportes de TESE emplean un abordaje abierto. Se han realizado estudios al respecto en donde se ha demostrado que el abordaje abierto tiene mejores oportunidades de recuperación espermática. En un reporte reciente se describió la recuperación espermática con aguja fina vía percutánea sugiriendo esta vía como alternativa.

Se han desarrollado 2 nuevas técnicas para mejorar las oportunidades de recuperación espermática al mismo tiempo de limitar la cantidad de tejido removido en la TESE. 1) Mapeo y aspiración con aguja fina descrito por Turek. Este procedimiento puede ser empleado para identificar cúmulos de espermatogénesis dentro del testículo el cual puede ser muestreado al tiempo del TESE. En un estudio reciente con una cohorte pequeña de pacientes, esta técnica permitió una recuperación exitosa en el 95% de los casos. 2) Técnica de micro disección desarrollada por Schlegel. En este procedimiento la tunica albugínea es abierta ampliamente para exponer el parénquima testicular. Bajo un microscopio operatorio se pueden identificar y diferenciar túbulos dilatados (contienen espermatozoides) de aquellos escleróticos, así los primeros son muestreados, limitando el tejido removido, aumentando las oportunidades de una recuperación exitosa.¹²

1.9 Pronostico de la azoospermia no obstructiva. Es de esperar que en los casos de pacientes con azoospermia no obstructiva tanto la cantidad como la calidad de los espermatozoides recuperados por biopsia sean menores que en los casos de pacientes con azoospermia obstructiva. Comparativamente los datos de fertilización, embarazo e implantación embrionaria son más altos en pacientes con azoospermia no obstructiva que en pacientes con azoospermia obstructiva. Diferentes autores han encontrado una reducción significativa en las tasas de fertilización y embarazo casos de pacientes con azoospermia no obstructiva.⁴⁷

De Croo et al realizaron un análisis retrospectivo donde se reflejaron las tasas de fertilización, embarazo y tasas de implantación embrionaria en pacientes sometidos a ICSI con espermatozoides obtenidos de testículo en pacientes con azoospermia obstructiva y no obstructiva. En total de 193 ciclos de ICSI se realizaron con espermatozoides frescos obtenidos por biopsia testicular, en 139 casos de pacientes con azoospermia obstructiva y en 54 casos de azoospermia no obstructiva. La tasa de fertilización después de ICSI en pacientes con azoospermia no obstructiva fue significativamente más baja en comparación a los pacientes con azoospermia no obstructiva (67.8% vs. 74.5% $p= 0.0167$). Las tasas de embarazo por transferencia embrionaria en los 2 grupos fue similar (36.8% NOA vs. 36.7% OA). Igualmente las tasas de implantación no mostraron diferencias significativas (25.8% NOA vs. 19.6% OA). Concluyeron que la tasa de fertilización después de ICSI en pacientes con azoospermia no obstructiva es significativamente menor que en casos de azoospermia obstructiva, pero que las tasas de embarazo e implantación embrionaria eran similares.⁴⁷

Ghazzawi et el, realizaron un estudio prospectivo comparando la capacidad de fertilización y tasas de embarazo en procedimientos de ICSI con espermatozoides obtenidos por eyaculados, o quirúrgicamente por aspiración de epidídimo o biopsia testicular. Un total de 77 ciclos de ICSI (uno por paciente) fue incluido. En total, 28 pacientes tenían oligoastenoteratozoospermia severa, 19 tenían azoospermia obstructiva y 30

pacientes tenían azoospermia no obstructiva. En pacientes con oligoastenoteratozoospermia las tasas de fertilización y embarazo fueron 79% y 25%, respectivamente. En pacientes con azoospermia obstructiva, en quienes se utilizaron espermatozoides tomados de epidídimo, éstas fueron 75% y 28% respectivamente, y en pacientes con azoospermia no obstructiva, en quienes se tomo biopsia testicular las tasas de fertilización y embarazo fueron de 69% Y 21%, respectivamente. Tanto las tasas de fertilización como las de embarazo en los 3 grupos no mostraron diferencia estadísticamente significativa ($p=0.85$ y $p=0.14$), lo que sugiere que los espermatozoides obtenidos por eyaculado, epidídimo o por biopsia testicular son capaces de fertilizar igualmente utilizando ICSI. Las tasas de nacimientos vivos por embrión en el grupo de pacientes con azoospermia no obstructiva fueron significativamente menores (10%) en comparación con los otros 2 grupos (21% en eyaculados y 22% en biopsias testiculares).⁴⁸

Uso de espermatozoides descongelados.

Se ha reportado una tasa de embarazo clínico de 11 a 49% por ciclo para TESE/ICSI en azoospermia no obstructiva (ANO). Es posible realizar ICSI con espermatozoides criopreservados y varios estudios apuntan a que las tasas de embarazo no se comprometen.¹² Sin embargo existen estudios acerca del pronóstico en el uso de espermatozoides criopreservados. Se ha reportado que los espermatozoides de pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO) recuperados mediante TESE pudieran no sobrevivir el proceso de descongelamiento, requiriendo una nueva TESE para la adquisición de más espermatozoides. Aproximadamente 32% de los especímenes criopreservados muestran un número insuficiente de espermatozoides móviles posterior al descongelamiento. Así mismo se ha evidenciado una disminución en la tasa de fertilización y de embarazo al usar espermatozoides inmóviles después de la descongelación al compararlos con espermatozoides móviles descongelados. Asimismo existe una tasa más alta de aborto espontáneo al usar espermatozoides inmóviles, lo cual sugiere que los espermatozoides obtenidos de pacientes con ANO tienen una función alterada posterior al descongelamiento.⁷

Consideraciones genéticas.

Aproximadamente un 10% de los pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO) presentan anomalías en el cariotipo. La anomalía de cromosomas sexuales más frecuente es síndrome de Klinefelter (47,XXY o 46,XY; 47,XXY mosaico). El espectro clínico del síndrome de Klinefelter incluye cambios variables en la espermatogénesis, desde ausencia completa de espermatogénesis hasta oligospermia severa en casos raros. Se puede realizar recuperación de espermatozoides en la mayoría de estos pacientes mediante el uso de TESE. Otras anomalías cromosómicas incluyen traslocaciones autosómicas. Se sugiere el uso de técnicas de diagnóstico genético preimplantación (DGP) al considerar el uso de espermatozoides de pacientes con anomalías cromosómicas.

Se han identificado microdeleciones del cromosoma Y hasta en el 7% de pacientes infértiles, estas se denominan AZF (Factor azoospermicos) a,b y c. Este estudio se realiza mediante PCR. Sin embargo cada una de estas microdeleciones implica un pronóstico distinto. Pacientes con deleciones en AZFc pueden tener una espermatogénesis suficiente para producir espermatozoides en el eyaculado. Pacientes con deleciones en la región AZFa y b tienen un mal pronóstico para una captura de espermatozoides; de acuerdo a diferentes publicaciones estas tasas de recuperación pueden ser del 0%. Debido a que estas microdeleciones pueden ser transmitidas a todos los hijos varones, debe tenerse en cuenta que estos pueden resultar afectados.⁷

2. Planteamiento del problema

La azoospermia no obstructiva se debe a un daño testicular que se refleja por alteraciones hormonales donde las gonadotropinas hipofisarias se encuentran elevadas y hay una disminución de los volúmenes testiculares.

Sin embargo en nuestro Instituto desconocemos los valores de las gonadotropinas hipofisarias y volúmenes testiculares que se asocian a los casos de azoospermia no obstructiva. Considerando que actualmente los casos de azoospermia no obstructiva ya cuentan con un tratamiento para corregir la infertilidad es importante conocer los parámetros hormonales y los volúmenes testiculares que se asocian al daño testicular.

3. Pregunta de investigación

¿Cuáles son los niveles de FSH sérica que se asocian a la azoospermia no obstructiva?

¿Cual es la correlación entre niveles hormonales y volúmenes testiculares?

4. Justificación

El presente trabajo pretende conocer los valores hormonales asociados a la azoospermia no obstructiva y los valores de los volúmenes testiculares correspondientes

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Conocer los valores hormonales en varones con azoospermia no obstructiva.

5.2 Objetivos específicos

Analizar los niveles hormonales y el volumen testicular de los pacientes con azoospermia

Establecer una correlación entre los niveles hormonales de estos pacientes y el volumen testicular

Conocer el cariotipo de los pacientes con azoospermia y determinar sus alteraciones en esta población

6. MATERIAL Y METODOS

6.1 Diseño del estudio, método de muestreo y análisis estadístico

Se realizó una serie de casos: observacional, descriptivo, transversal

Se realizó una revisión de los expedientes de los pacientes con azoospermia obteniendo datos demográficos, análisis hormonal, USG testicular. La recolección de los datos se realizó por el investigador utilizando el programa de cómputo Excel 2007, donde se registraron cada una de las variables señaladas, posteriormente se procesaron las mismas en el programa SPSS.

Se utilizó estadística descriptiva para las características demográficas de la población estudiada para las variables en estudio. Se hizo una correlación de los valores hormonales con volumen testicular y se calculó el coeficiente de correlación de Pearson para cada caso.

Por tratarse de un estudio observacional, serie de casos, no se requirió aprobación del comité de ética.

6.2 Definición operacional de variables

Azoospermia:

Definición conceptual: Ausencia total de espermatozoides en una muestra seminal

Definición operacional: Se considero azoospermia cuando se reporto concentración de 0 espermatozoides y se corrobora posterior al centrifugado de la muestra seminal y de orina

Tipo de variable: nominal

Nivel de medición: dicotómica: presente o ausente

Hormona folículo estimulante (FSH)

Definición conceptual: La FSH es una gonadotropina secretada en la adenohipófisis por estimulación de los gonadotropos mediante la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que actúa a nivel testicular en la célula de Sertoli

Definición operacional: Cuantificación obtenida en el laboratorio de endocrinología

Tipo de variable: cuantitativa continúa

Nivel de medición: mUI/mL de acuerdo al Sistema Internacional de Unidades

Hormona luteinizante (LH)

Definición conceptual: Es una hormona gonadotrópica de naturaleza glicoproteica que, producida por el lóbulo anterior de la hipófisis o pituitaria y que actúa a nivel testicular en la célula de Leydig

Definición operacional: Cuantificación obtenida en el laboratorio de endocrinología

Tipo de variable: cuantitativa continúa

Nivel de medición: mUI/mL de acuerdo al Sistema Internacional de Unidades

Testosterona

Definición conceptual: La testosterona es un andrógeno, esteroide derivado del ciclopentanoperhidrofenantreno, que tiene 19 átomos de carbono, un doble enlace entre C4 y C5, un átomo de oxígeno en C3 y un radical hidroxilo (OH) en C12.

Definición operacional: Cuantificación obtenida en el laboratorio de endocrinología

Tipo de variable: cuantitativa continúa

Nivel de medición: nmol/L de acuerdo al Sistema Internacional de Unidades

Volumen testicular

Definición conceptual: El volumen es una magnitud definida como el espacio ocupado por un cuerpo. Es una función derivada ya que se halla multiplicando las tres dimensiones. Se utiliza la formula Largo x Ancho x Alto x 0.5236.

Definición operacional: Se realizarán mediciones ultrasonográficas de los mismos

Tipo de variable: cuantitativa continúa

Nivel de medición: cm³

Cariotipo

Definición conceptual: Identificación de los cromosomas por técnicas de laboratorio específicas

Definición operacional: Reporte del número y características de los cromosomas de las muestras de los pacientes

Tipo de variable: nominal

Nivel de medición: dicotómica: normal y anormal

Microdeleciones

Definición conceptual: Desórdenes clínicamente reconocibles caracterizados por una pequeña (< 5Mb) deleción de un segmento cromosomal que abarca múltiples genes asociados a enfermedades, cada uno contribuyendo al fenotipo de manera independiente.

Definición operacional: Microdeleción del cromosoma Y caracterizadas por el factor de azoospermia (AZF) a, b y c

Tipo de variable: nominal

Nivel de medición: dicotómica: normal y anormal

6.3 Criterios de inclusión

Pacientes con azoospermia en la espermatobioscopia directa analizada en la coordinación de infertilidad y cuyo expediente clínico contara con datos requeridos para el estudio

Criterios de exclusión

Pacientes con azoospermia obstructiva

Criterios de eliminación

Pacientes con datos incompletos acerca de los desenlaces buscados.

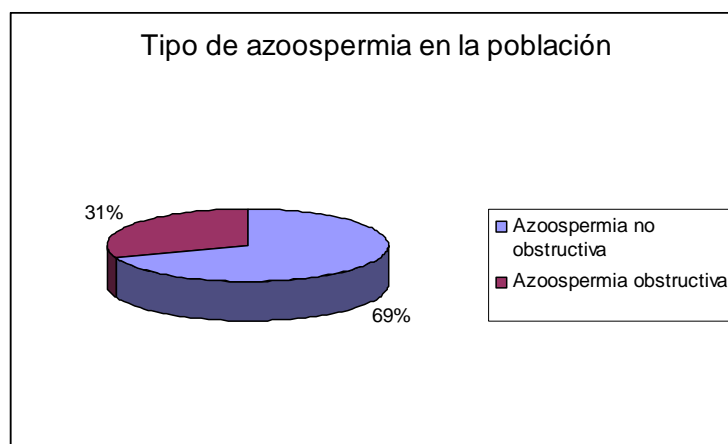
7. Resultados

Los resultados se expresan en medidas de tendencia central para variables cuantitativas y para variables cualitativas se expresaran en porcentajes.

Se examinaron un total de 4109 espermatobioscopias directas en los registros del laboratorio de andrología de los pacientes que acudieron a la consulta del 1 de octubre de 2005 al 30 de junio de 2010. Se obtuvieron los datos de todos aquellos pacientes con azoospermia y se solicitaron los expedientes en el archivo clínico.

Se encontraron 47 pacientes con datos de azoospermia, los cuales representan el 1.14%, de los cuales se encontraron los expedientes de 19. De éstos se excluyeron 6 por encontrarse incompletos. De los 13 restantes, se excluyeron 4 con diagnostico de azoospermia obstructiva (AO) Se contó con un numero final de 9 expedientes de pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO).

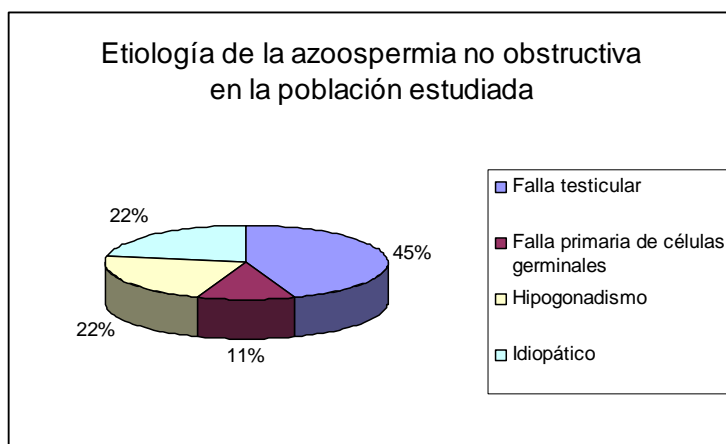
De la totalidad de pacientes azoospérmicos con expedientes completos el 69.2%(9) correspondió a pacientes con azoospermia no obstructiva (ANO) y el 30.8 (4) restante a pacientes con azoospermia obstructiva (AO). Gráfica 1



Gráfica 1: Tipo de azoospermia en la población

Los pacientes con azoospermia no obstructiva se dividieron de acuerdo al diagnóstico quedando de la siguiente manera:

Falla testicular 44.5%(4), Falla primaria de células germinales 11.1% (1), Hipogonadismo 22.2%(2) e Idiopático 22.2% (2).Gráfica 2



Gráfica 2: Etiología de la azoospermia no obstructiva en la población de estudio

La edad media de los pacientes fue de 32.5 ± 4.8 años, todos los pacientes con infertilidad primaria. El tiempo medio de infertilidad fue de 5.8 ± 2.1 años.

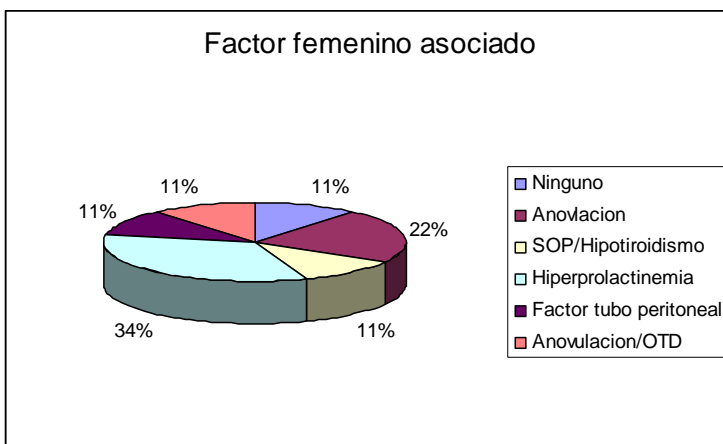
La edad media de sus parejas fue de 28.2 ± 5.8 años. Tabla 1

Variables sociodemográficas	
Edad del paciente	32.5 ± 4.8 años
Tipo de infertilidad	Primaria
Tiempo de infertilidad	5.8 ± 2.1 años
Edad de la pareja	28.2 ± 5.8 años

Tabla 1: Variables sociodemográficas de la población estudiada

Los factores de infertilidad asociados en la pareja fueron: Ningún factor 11.1% (1), Anovulación 22.2%(2), SOP/Hipotiroidismo 11.1% (1), Hiperprolactinemia 33.4%(3), factor tubo peritoneal 11.1%(1), Anovulación/OTD 11.1%(1). Gráfica 3

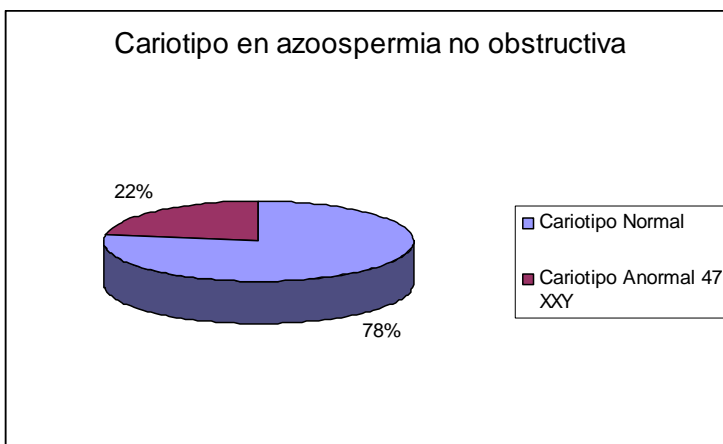
3



Gráfica 3: Factor femenino asociados

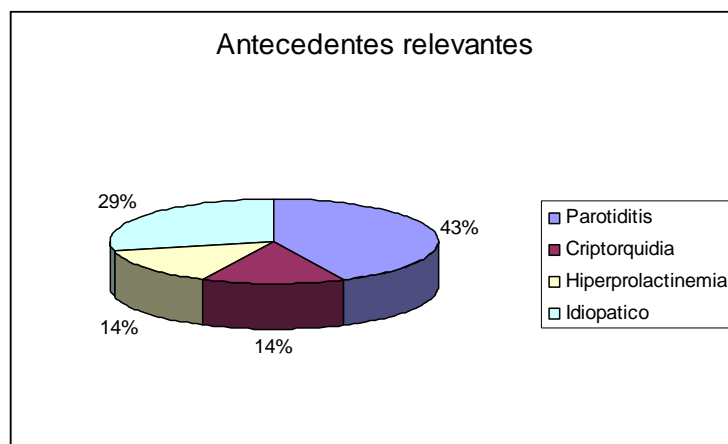
El 77.8% de los pacientes presentó cariotipo normal 46XY, el 22.2% restante presentó cariotipo anormal 46XXY. Únicamente se realizaron estudios para microdeleciones en el 22.2% (2) de los pacientes, sin evidencia de estas.

Gráfica 4



Grafica 4: Cariotipo en azoospermia no obstructiva

Se encontró antecedente de parotiditis en 33.4% (3), antecedente de criptorquidia en 11.1% (1), hiperprolactinemia 11.1% (1). En el 22.2% restante fue idiopático 22.2% (2). Gráfica 5



Grafica 5: Antecedentes de relevancia

Las concentraciones medias de FSH en los pacientes sin hipogonadismo fue de 28.6 ± 18.1 , en los pacientes con hipogonadismo fueron de 0.86 ± 1.07 .

Las concentraciones medias de LH en los pacientes sin hipogonadismo fue de 11.6 ± 9.5 , en los pacientes con hipogonadismo fueron de 0.5 ± 0.5

Las concentraciones medias de testosterona en los pacientes sin hipogonadismo fue de 13.8 ± 7.1 , en los pacientes con hipogonadismo fueron de 17.8 ± 19.6 .Tabla 2

Concentraciones hormonales	
FSH sin hipogonadismo	28.6 ± 18.1
FSH con hipogonadismo	0.86 ± 1.07
LH sin hipogonadismo	11.6 ± 9.5
LH con hipogonadismo	0.5 ± 0.5
Testosterona sin hipogonadismo	13.8 ± 7.1
Testosterona con hipogonadismo	17.8 ± 19.6

Tabla 2: Concentraciones hormonales

Los volúmenes testiculares por ultrasonido fueron para testículo derecho de 3.47 ± 3.0 y para testículo izquierdo de 3.5 ± 3.5 , con un volumen testicular total de 7.6 ± 6.4 . Tabla 3 .Se encontró varicocele izquierdo en 22.2% y varicocele bilateral en 22.2%

Volumen testicular	
Testículo derecho	3.47 ± 3.0
Testículo izquierdo	3.5 ± 3.5
Volumen testicular total	7.6 ± 6.4

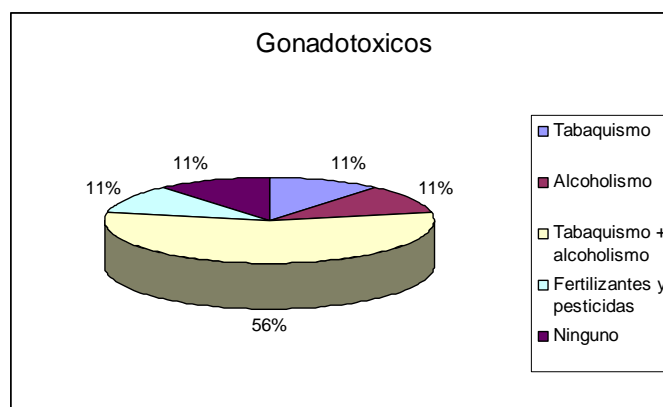
Tabla 3: Volumen testicular por ultrasonido

En cuanto a los datos relacionado con el síndrome metabólico se encontraron los siguientes valores. Niveles de lipoproteínas de alta densidad de 33.1 ± 8.4 , lipoproteínas de baja densidad de 114 ± 36.43 , colesterol de 188.4 ± 26.8 , triglicéridos de 174.1 ± 68.4 , glucosa sérica de 100.2 ± 12.0 , TA sistólica de 119 ± 9.3 , TA diastólica de 77.2 ± 9.3 , peso de 85.6 ± 15.0 , talla de 1.69 ± 0.06 , e IMC de 29.42 ± 3.5 . Tabla 4

Síndrome metabólico	
HDL	33.1 ± 8.4
LDL	114 ± 36.4
Colesterol	188.4 ± 26.8
Trigliceridos	174.1 ± 68.4
Glucosa	100.2 ± 12.0
TA sistólica	119 ± 10.1
TA diastólica	77.2 ± 9.3
Peso	85.6 ± 15.0
Talla	1.69 ± 0.06
IMC	29.42 ± 3.5

Tabla 4: Variables relacionadas con síndrome metabólico

En cuanto al desarrollo sexual el 33.3% de los pacientes (3) presento un Tanner 5, 55.6% (4) Tanner 4, 11.1% (1) Tanner 3. Las relaciones sexuales por semana fueron de 2.2 ± 1.6 . En cuanto a exposición a gonadotóxicos se encontró la siguiente relación. Gráfica 6

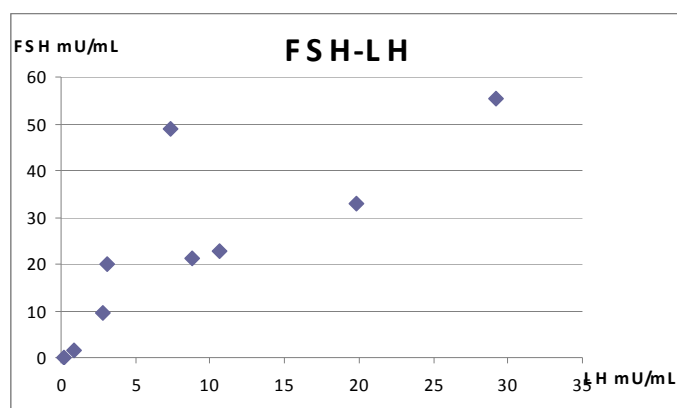


Gráfica 6: Gonadotóxicos

Se realizó una correlación de los valores hormonales con volumen testicular y se calculo el coeficiente de correlación de Pearson para cada caso.

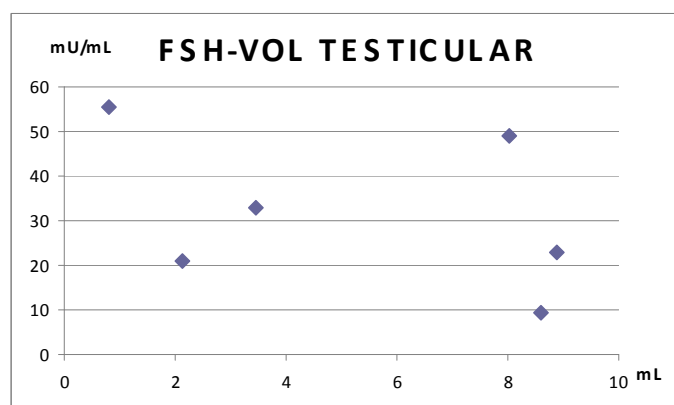
Se encontró un coeficiente de correlación positivo entre FSH y LH de 0.79.

Grafica 7



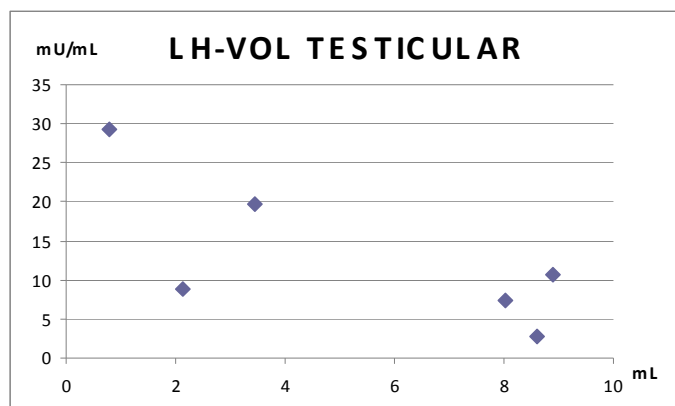
Gráfica 7: Correlación de FSH y LH

Se encontró un coeficiente de correlación negativo entre FSH y volumen testicular de - 0.42. Gráfica 8



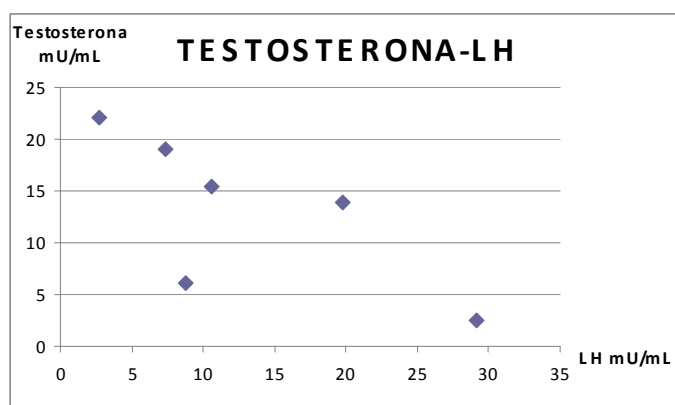
Gráfica 8: Correlación entre FSH y volumen testicular

Se encontró un coeficiente de correlación negativo entre LH y volumen testicular de - 0.74. Gráfica 9



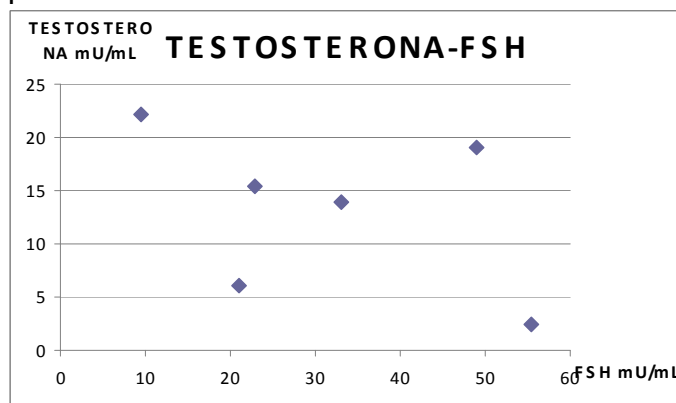
Gráfica 9: Correlación entre LH y volumen testicular

Se encontró un coeficiente de correlación negativo entre testosterona y LH de - 0.73. Gráfica 10



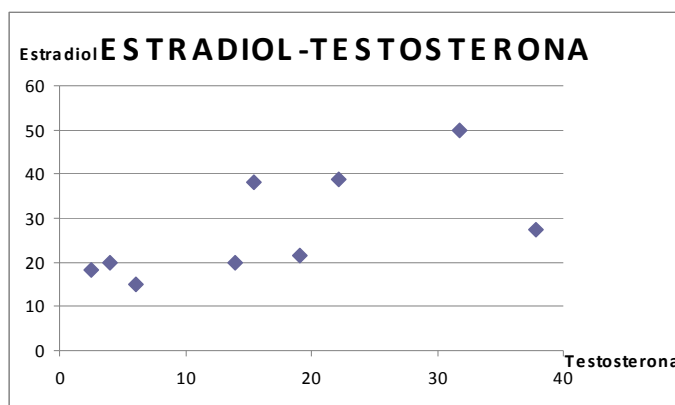
Gráfica 10: Correlación entre testosterona y LH

Se encontró un coeficiente de correlación negativo entre testosterona y FSH de - 0.44. Gráfica 11



Gráfica 11: Correlación entre testosterona y FSH

Se encontró un coeficiente de correlación positiva entre estradiol y testosterona de 0.64. Gráfica 12



Gráfica 12: Correlación entre estradiol y testosterona

8. Discusión

En el presente estudio se contó con 4109 espermaticidios directos de pacientes que acudieron al servicio de andrología en el Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinoza de los Reyes” en el periodo comprendido del 1 de octubre de 2005 al 30 de junio de 2010, de estos estudios se encontraron 47 pacientes con azoospermia lo cual constituye el 1.14% de los pacientes, esta cifra es distinta a la reportada en la literatura la cual la refiere entre el 5-20% en pacientes infértiles y en 2% de la población general.¹² Sin embargo estas diferencias pueden ser explicadas a que hasta hace poco tiempo los pacientes con azoospermia no obstructiva no eran admitidos en el instituto.

De los casos evaluados encontramos que un 62.9% correspondió con pacientes con azoospermia no obstructiva mientras que el 30.8% correspondió a azoospermia obstructiva. Estos resultados contrastan con un estudio reportado en población latina en estados unidos, quienes reportan una alta prevalencia de azoospermia no obstructiva en esta población (93%) vs 7% de azoospermicos obstructivos. Los autores explican estas diferencias probablemente al uso incrementado de gonadotoxicos y riesgos ocupacionales.³

En otras publicaciones sin embargo, sus resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio donde reportan una prevalencia de azoospermia obstructiva del 40% y de 60% para azoospermia no obstructiva.⁶

Al dividir por causas encontramos falla testicular 44.5%, Falla primaria de células germinales 11.1% , Hipogonadismo 22.2% e Idiopático 22.2%, lo que coincide con el estudio de población latina.³ Como factores asociados encontramos relación a parotiditis hasta en un 33.4% lo cual puede explicar que la mayor parte de los pacientes estén relacionados con falla testicular. Otro hallazgo importante fue la presencia de síndrome de Klinefelter en 2 pacientes (22.2%) lo cual llama la atención de acuerdo a reportes previos donde se señala una prevalencia en pacientes con azoospermia no obstructiva de hasta el 10%, coincide en que la alteración cromosomita es dicho síndrome.⁷

En el presente estudio se realizaron determinaciones de microdeleciones únicamente en el 22% de los pacientes, sin encontrarla. Posiblemente el aumentar el tamaño de la muestra podría señalar la presencia de éstas que se reportan hasta en el 7% de estos pacientes.⁸

En cuanto a las concentraciones medias hormonales existió una marcada coincidencia en relación otras publicaciones quienes refieren que la distinción entre la azoospermia obstructiva de la no obstructiva puede basarse en 2 hechos importantes: 1.- FSH por arriba de 7.6mIU/ml o el eje mayor testicular menor de 4.6cm para azoospermia no obstructiva. En nuestro estudio la concentración media de FSH para pacientes con azoospermia no obstructiva sin hipogonadismo fue de 28.6 ± 18.1 así como volumen testicular por ultrasonido fueron para testículo derecho de 3.47 ± 3.0 y para testículo izquierdo de 3.5 ± 3.5 .

En pacientes con azoospermia no obstructiva con hipogonadismo, es de esperar encontrar concentraciones hormonales de gonadotropinas disminuidas (FSH de 0.86 ± 1.07 , LH 0.5 ± 0.5)

Se encontró en la población una tendencia marcada hacia el sobre peso y a glucemias elevadas, sin embargo no se pudo realizar el diagnóstico de síndrome metabólico debido a no contar con todos los datos.

En relación al desarrollo sexual se observó que el 33.3% de los pacientes presentó un Tanner 5, 55.6% Tanner 4, 11.1% Tanner 3.

La exposición a gonadotóxicos nos indicó un 56% para tabaquismo y alcoholismo y solamente el 11.1% de los casos en relación a fertilizantes y pesticidas, lo cual no corresponde a otras publicaciones que señalan una exposición incrementada y de esta forma un aumento en la falla testicular.³

Al realizar la correlación de los valores hormonales con volumen testicular y se calculó el coeficiente de correlación de Pearson, se encontró un coeficiente de correlación positivo entre FSH y LH de 0.79.

Se encontró un coeficiente de correlación negativo entre FSH y volumen testicular de - 0.42. Lo cual nos sugiere que al aumentar las cifras de FSH encontraremos volúmenes testiculares menores, hallazgos que coinciden con estudios previos.^{16, 7}

Se encontró un coeficiente de correlación negativo entre LH y volumen testicular de - 0.74, lo cual sugiere una relación negativa mayor de LH que FSH en relación al volumen testicular.

Se encontró un coeficiente de correlación negativo entre testosterona y LH de - 0.73. y de -0.44 entre testosterona y FSH, lo cual sugiere la necesidad de un adecuado balance para una espermatogénesis y producción adecuada a nivel testicular.

Estos hallazgos posiblemente continúen en la misma tendencia al aumentar el tamaño de la muestra, corroborando la hipótesis y los reportes previos.

Finalmente podemos concluir que existe una estrecha relación demostrable entre los niveles elevados de FSH, volumen testicular disminuido y

azoospermia no obstructiva. De igual forma se pudo demostrar la correlación negativa entre FSH, LH y testosterona

9. Bibliografía

- 1.- Moore K. The developing human. Clinically Oriented Embryology. 8ª edición. Editorial Saunders. Estados Unidos 2008
- 2.- Ayala A, Malaga Y, Ortiz D, y cols. Detención de la espermatogénesis. Detención de la espermatogénesis. Ginecol Obstet Mex 2005; 73: 500-508
3. Fogle R, Steiner A, Marshall F, et al. Etiology of azoospermia in a large inner-city population. Fertil Steril 2006;86:197-199
- 4.- Nieschlang E, Behre H. M, Nieschlang S. Andrology. Male Reproductive health and dysfunction. Ed. Springer. Tercera edición.
- 5.- Yen Samuel, Jaffe R, Barbieri R. Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico. 4a edición. Editorial Panamericana
- 6.- Report on Evaluation of the Azoospermic Male. American Urological Association and American Society for Reproduction Medicine. 2001
- 7.- Hopps C, Goldstein M, Schlegel P. The diagnosis and treatment of the azoospermic patient in the age of intracytoplasmic sperm injection. Urol Clin N Am 2002; 29: 895-911
- 8.- Evaluation of the Azoospermic Male. Fertil Steril 2008; 90 : S74-77
- 9.- Jarow JP, Espeland MA, Lipshultz LI. Evaluation of the azoospermic patient. J Urol 1989;142(1):62-5.
- 10.- Devroey P, Liu J, Nagy Z, et al. Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. Hum Reprod 1995;10(6):1457-60.
- 11.- Kahraman S, Ozgur S, Alatas C, et al. Fertility with testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermic men. Hum Reprod 1996;11(4):756-60
- 12.- Kolettis P. The evaluation and Management of the Azoospermic Patient. Journal of Andrology 2002; 23: 293-305
- 13.- Centola G, Gingsburg K. Evaluation and treatment of the infertile man. Cambridge University Press 1996
- 14.- Ramlau-Hansen C, Thulsptup A, Bonde J et al. Is self-measuring of testicular volume by Prader orchidometer a valid method? Fertil Steril 2007; 87: 1480-1482

15.- Report on Evaluation of the Azoospermic Male. An AUA Best Practice Policy and ASRM Practice Committee Report

16.- Meeker J, Godfrey L, Hauser R. Relationships Between Serum Hormone Levels and Semen Quality Among Men From an Infertility Clinic. *Journal of Andrology* 2007; 28: 397-405

17.- Mitchell V, Boitrelle F, Pigny P, et al. Seminal plasma levels of anti-Müllerian hormone and inhibin B are not predictive of testicular sperm retrieval in nonobstructive azoospermia: a study of 139 men. *Fertil Steril* 2010; Article in Press

18.- Handelsman D, Staraj S. Testicular Size: The Effects of Aging, Malnutrition, and Illness. *Journal of Andrology* 1985;6:144-151

19.- Sakamoto H, Saito K, Ohta M, et al. Testicular volume Measurement: Comparison of Ultrasonography, Orchidometry, and water Displacement. *Urology* 2007; 69: 152-157

20.- Takihara H, Cosentino M, Sakatoku J, et al. Significance of testicular size measurement in andrology: II. Correlation of testicular size with testicular function. *J Urol* 1987; 137: 416-419

21.- Brugh V, Matschke M, Lipshultz L. Male factor infertility. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2003;32: 689-707

22.- Buckle W, Jones L. Fructose concentrations in seminal plasma from men with nonobstructive azoospermia. *Arch Androl* 2002; 48: 23-27

23.- Dohr G, Colpi G, Hargreave T, et al. EAU Guidelines on Male Infertility. *European Urology* 2005; 40: 703-711

24.- Brugh V, Lipshultz L. Male factor infertility Evaluation and management. *Med Clin N Am* 2004;88:367-385

25.- Schlegel P. Nonobstructive Azoospermia: A Revolutionary Surgical Approach and Results. *Seminars in reproductive Medicine* 2009;27: 165-170

26. Vernaev V, Krikilion A, Verheyen G, et al. Outcome of testicular sperm recovery and ICSI in patients with non-obstructive azoospermia with a history of orchidopexy. *Hum Reprod* 2004; 19(10):2307-12.

27. Mulhall JP, Burgess CM, Cunningham D, et al. Presence of mature sperm in testicular parenchyma of men with nonobstructive azoospermia: prevalence and predictive factors. *Urology* 1997;49(1):91-6.

28. Hibi H, Ohori T, Yamada Y, et al. Probability of sperm recovery in non-obstructive azoospermic patients presenting with testes volume less than 10 ml/FSH level exceeding 20 mIU/ml. *Arch Androl* . 2005;51(3):225–31.
29. Vernaev V, Tournaye H, Schiettecatte J, et al. Serum inhibin B cannot predict testicular sperm retrieval in patients with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 2002;17(4):971–6.
30. Seo JT, Ko WJ. Predictive factors of successful testicular sperm recovery in non-obstructive azoospermia patients. *Int J Androl* 2001;24(5):306–10.
31. Mercan R, Urman B, Alatas C, et al. Outcome of testicular sperm retrieval procedures in non-obstructive azoospermia: percutaneous aspiration versus open biopsy. *Hum Reprod* 2000;15(7):1548–51.
32. Vicari E, Graziosos C, Burrello N, et al. Epididymal and testicular sperm retrieval in azoospermic patients and the outcome of intracytoplasmic sperm injection in relation to the etiology of azoospermia. *Fertil Steril* 2001;75(1):215–6.
33. Raviv G, Levron J, Menashe Y, et al. Sonographic evidence of minimal and short-term testicular damage after testicular sperm aspiration procedures. *Fertil Steril* 2004;82(2):442–4.
34. Mercan R, Urman B, Alatas C, et al. Outcome of testicular sperm retrieval procedures in non-obstructive azoospermia: percutaneous aspiration versus open biopsy. *Hum Reprod* 2000;15(7):1548–51.
35. Ezeh UI, Moore HD, Cooke ID. A prospective study of multiple needle biopsies versus a single open biopsy for testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1998;13(11):3075–80.
36. Schlegel PN, Su L. Physiological consequences of testicular sperm extraction. *Hum Reprod* 1997; 12(8):1688–92.
37. Vernaev V, Verheyen G, Goossens A, et al. How successful is repeat testicular sperm extraction in patients with azoospermia? *Hum Reprod* 2006; 21(6):1551–4.
38. Altay B, Hekimgil M, Cikili N, et al. Histopathological mapping of open testicular biopsies in patients with unobstructive azoospermia. *BJU Int* 2001; 87(9):834–7.
39. Harrington TG, Schauer D, Gilbert BR. Percutaneous testis biopsy: an alternative to open testicular biopsy in the evaluation of the subfertile man. *J Urol* 1996;156(4):1647–51.
40. Ron-El R, Strauss S, Friedler S, et al. Serial sonography and colour flow Doppler imaging following testicular and epididymal sperm extraction. *Hum Reprod* 1998;13(12):3390–3.

41. Tunc L, Alkibay T, Kupeli B, et al. Power Doppler ultrasound mapping in nonobstructive azoospermic patients prior to testicular sperm extraction. *Arch Androl* 2005;51(4):277–83.
42.] Herwig R, Tosun K, Schuster A, et al. Tissue perfusion- controlled guided biopsies are essential for the outcome of testicular sperm extraction. *Fertil Steril* 2007;87(5):1071–6.
43. Turek PJ, Cha I, Ljung B-M. Systematic fine-needle aspiration of the testis: correlation to biopsy and results of organ “mapping” for mature sperm in azoospermic men. *Urology* 1997;49(5):743–8.
44. Turek PJ, Givens CR, Schriock ED, et al. Testis sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection guided by prior fine-needle aspiration mapping in patients with nonobstructive azoospermia. *Fertil Steril* 1999;71(3):552–7.
45. Schlegel PN. Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod* 1999;14(1):131–5.
46. Y.F Dajani Testicular biopsy: an Update. *Current Diagnostic Pathology* (1998) 5, 17-22.
47. De Croo et al. Fertilization, pregnancy and embryo implantation rates after ICSI in cases of obstructive and non-obstructive azoospermia. *Human Reproduction* Vol.15 no.6 pages 1383-1388, 2000
48. Ghazzawi et al. Comparison of the fertilizing capability of spermatozoa from ejaculates, epididymal aspirates and testicular biopsies using intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction* vol.13 no.2 pp.348–352, 1998
- 49.- Fedder J, Cruger D, Oestergaard, et al. Etiology of azoospermia in 100 consecutive nonvasectomized men. *Fertil Steril* 2004;82:1463-1465
- 50.- Ramasamy R, Lin K, Veeck L, et al. High serum FSH levels in men with nonobstructive azoospermia does not affect success of microdissection testicular sperm extraction. *Fertil Steril* 2009;92: 590-593
- 51.- Dohle G, Jungwirth A, Colpi G, et al. Guidelines on male infertility. *European Association of Urology* 2008