

TESTİSDEN TRU-CUT İĞNE BİYOPSİSİ İLE ALINAN MATERYALİN, IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU BULGULARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. İ. Ünal SERT *, Dr. Ali ACAR *, Dr. Cengiz GÜVEN **, Dr. Lema TAVLI ***

* S.Ü.T.F. Üroloji Anabilim Dalı, ** A.Ü.T.F. Histoloji Anabilim Dalı, *** S.Ü.T.F. Patoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalında 1989-1991 tarihleri arasında klinik prospektif çalışma şeklinde hormonal yapıları (FSH, LH, Testosteron, Östradiol, Prolaktin) normal olan 27 selektif vakaya Tru-cut silindir iğne biyopsisi uygulandı. 11 vakadan hem ışık, hemde elektron mikroskopu incelemeleri için aynı testisten biyopsi alındı.

Çalışmanın sonucunda elektron mikroskopunun daha ayrıntılı bulgular verdiği, iğne biyopsi tekniği ile elde edilen dokunun incelemeye yeterli düzeyde olduğu, histolojik bulguların testis fonksiyonunu belirlemede yeterli veriler gösterdiği tesbit edildi.

Anahtar kelimeler: Infertilite, iğne biyopsisi.

SUMMARY

The Comparison of the Materials Removed From the Testes By Tru-cut Biopsy-Needle and the Findings of Light and Electron Microscope

Tru-cut cylinder needle biopsy was applied to the 27 selective cases which had normal hormonal structure of FSH, LH, Testosteron, Ostradiol, Prolactin as a clinical prospective study in Urology Department of Medical Faculty of Selçuk University from 1989 to 1991. Biopsy was taken from the same testes for both light and electron microscope examinations from 11 cases.

At the end of the study, it was observed that electron microscope gave more detailed findings and the tissue obtained by needle biopsy technique was enough to be examined and the histologic findings showed enough data to determine the testes function.

Key Words: Infertility, needle biopsy.

GİRİŞ

Endokrinolojik anormalitesi bulunmayan azoospermik veya bazen oligozoospermik infertil hastaların değerlendirilmesinde problemin duktal obstrüksiyondan mı yoksa intrinsik testiküler patolojiden mi kaynaklandığını belirlemek amacıyla testiküler biyopsi, biyopsi sonucuna göre de vazografi uygulanmaktadır (1, 2, 3).

Ayrıca akut lenfositik lösemi nedeniyle tedavi uygulanan çocuklarda bilateral testis biyopsisi, bunların tedavi protokolünün bir parçası gibidir. Çünkü akut lenfositik lösemili çocukların yaklaşık %11'i sağlam (Disease free) görünmelerine ve testisleri palpasyonla normal olarak değerlendirilmelerine rağmen testislerinde lösemik infiltrasyon bulunmaktadır. Bu nedenle 36 aylık kemoterapi ve komplet remisyondan sonra bilateral testiküler biyopsi yapılmaktadır (4, 5).

Testis biyopsisi; Cerrahi biyopsi, Tru-cut iğne (Core) biyopsisi ve İğne aspirasyon biyopsisi (Fine needle aspiration biopsy) şeklinde uygulanabilmektedir. Uygulamalar lokal anestezi ile mümkün olmasına rağmen, özel durumlarda genel anestezi altında da uygulanabilmektedir (4, 6, 7).

İğne aspirasyon biyopsisi (Fine needle aspiration biopsy) sitolojik bir tekniktir. Uygulama Franzen biyopsi iğnesiyle yapılır. Teknik diğer iğne biyopsileri gibidir, ancak burada iğnenin testise yerleştirilmesinden sonra aspirasyon uygulanır. Aspiratlar mikroskop slide'ı üzerine injekte edilir, havada kurutulur ve May-Grunwald-Giemsa boyasıyla boyanır ve alkolde fikse edilir ve Papanicolau metoduyla boyanır. (8, 9, 10, 11). Metod diğer biyopsi metodlarından daha az travmatiktir ve uygulanması kolaydır. Bununla birlikte materyalin yorumu uzman sitolojist gerektirir, eğer böyle bir eleman yoksa teknik uygulanmamalıdır (11, 12).

Terminolojide uniform bir sistemin olmaması patolojik durumların yorumunu zorlaştırmaktadır. Temel karakteristik olarak seminifer tubullerin boyutu ve sayıları, tubulus bazal membranının kalınlığı, germinal epitelyumun durumu, interstisyumun fibrosis derecesi ve Leydig hücrelerin durumları değerlendirilmektedir (3).

Normal testisler Leydig hücreleri, kan damarları, lenfatikler ve konnektif dokudan meydana gelmiş az gevşek interstisyumla ayrılmış geniş seminifer tubuller sergiler. Androjen üretiminden sorumlu ve yuvarlatan poligonal şekillere kadar değişebilen asidofilik Leydig hücreleri gruplar halinde dağılmıştır ve ekseriyetle REINKE kristaloidleri ihtiva ederler. Seminifer tubullerin ince bazal membranları Sertoli ve germinal hücreleri damar ve lenfatiklerden ayırır. Böylece bu membranın bir yanından diğer yanına bütün hormonal regülatörler, besleyiciler ve terapötik maddeler ve yıkım ürünlerinin geçimi sağlanır. Bazal membran Sertoli hücreleri ve spermatogonilerle kaplanmıştır. Obstrüktif azospermili hastalar genellikle normal testiküler histolojik bulgular sergilenmektedir (3, 13).

Germinal aplazili hastalar, keza Sertoli only sendromu olarak bilinen hastalar devamlı infertildir. Seminifer tubullerin tümünde veya büyük bir kısmında germinal hücrelerin bulunmaması belirgin bulgudur. Tubuller uniform görünümündedir ve diamletrelerinde hafif azalma mevcuttur. Diğer histolojik bulgular normaldir (3, 13).

Maturasyon arresti durumlarında mikroskopik olarak genellikle spermatogenesisde primer spermatosit, sekonder spermatosit ve spermatit ötesinde gelişim gözlenmez (3, 13, 14). Hastalarda belirlenen blok seviyesi bütün tubüllerde birbirine benzer, fakat hastadan hastaya değişiklik göstermektedir. Bu lezyonların nedeni bilinmemektedir. Bununla beraber spermatositik arrestli hastaların germ hücrelerinde deoxyribonucleic asit (DNA) sentezinin normalden daha yavaş olduğu gösterilmesine rağmen, spermatit arrestli hastaların germ hücrelerinde deoxyribonucleic asit (DNA) sentezinin normalden daha hızlı olduğu gösterilmiştir (3). Bununla, görünüm yönüyle birbirine benzer iki anormalitenin tamamen farklı nedenlerden kaynaklandığı ortaya çıkmaktadır.

Infertil erkeklerin testis biyopsilerininin anlamlı bir yüzdesinde bütün normal spermatogenik hücreler bulunmakta, fakat sayıları az düzeyde olmaktadır, yani hipospermatogenik bir tablo sergilenmektedir.

Genellikle germinal epitelyumun organizasyonu bozulmuştur ve tubüllerin lümeninde immatür hücreler bulunur. Bazı hücreler anormal nucleus sergiler (3, 14).

Klinefelter sendromu ve diğer fibrotik durumlarda testisler spermatogenik aktivitede tedrici bir azalma göstererek sonunda tüm germ ve Sertoli hücreleri gözden kaybolmaktadır. Tubüller fibrotik ve hyalinizedir, testisler genellikle küçük ve sert bir yapı kazanmaktadır. Leydig hücre toplulukları görülür, fakat total sayılarında artış yoktur. Serum testosteron seviyesi normal veya düşüktür. Enfeksiyon gibi değişik olumsuz etkilerde fibrosise neden olabildiğinden bütün sklerotik testislerde Klinefelter sendromunu suçlamamak gerekir (3).

Hipogonadotropik hipogonadizm de testisler gonadotropinlerle stimüle edilmezler. Seminifer tubüllerin çaplarının çok küçük olduğu, germinal hücrelerin ve Leydig hücrelerinin bulunmadığı dikkati çeker (3).

Hipogonadotropik hipogonadizmin bir variantı olan fertil önük sendromu parsiyel gonadotropin yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. Normal spermatogenesis dikkati çeker, fakat Leydig hücre sayısında azalma mevcuttur (3).

Elektron mikroskopunda, bazal laminada kalınlaşma ve lameller yapı, peritubüler dokuda artış ve germinal epitel içine bazal lamina girintileri testiste atrofinin olduğunu destekleyen bulgular olarak yorumlanmaktadır (15).

Testiküler biyopside anormalite nedeni olabilecek daha birçok nedenler mevcuttur. Bunlar tümörler, inflamatuvar hastalıklar, endokrin defisitleri, myotonik musküler distrofi, vasküler hastalık, kriptorşidizm, ilaçlar ve irradyasyonları kapsamaktadır (3, 14).

MATERYAL VE METOD

Haziran 1989 ve Mayıs 1991 tarihleri arasında infertilite nedeniyle kliniğimize müracaat eden hastalardan endokrinolojik anormalite bulunmayan ve sperm sayımlarında azospermi belirlenmiş, yaş ortalaması 27.5 olan 21 ile 40 yaşları arasındaki 27 selektif vakaya TRU-CUT iğne (Core) biyopsisi uygulandı.

Klinik prospektif çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Patoloji Anabilim Dalı ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı arasında kurulan bir organizasyonla gerçekleştirildi. Elektron mikroskopik incelemeler Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Ankara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesinde yapıldı.

Uygulama spermatik kord sahasına %2'lik Alfa-n-propilaminopropi-on-O-toluidid le infiltrasyon anesteziyi uygulanarak gerçekleştirildi. Sedasyon uygulanmadı (16).

Epididimisi posterior konuma getirecek tarzda testisin ön yüzü skrotum cildi altına kadar yüzeyleştirildi. TRU-CUT biyopsi iğnesi ile skrotum cildi ve tunika albuginea geçildi. Kesici kanül testisin boyutuyla uyumlu olarak yavaşça ilerletildi. kesici kanül sabit tutularak obturator ilerletildi ve kesici kanülün yivi içine testis dokusunun alımı sağlanarak TRU-CUT geri çekildi. kesici kanülün yivi içindeki doku solüsyona alındı (16).

Alınan spesimenler ışık mikroskopisi için %90 alkol solüsyonuna, elektron mikroskopisi için %2.5 luk glutaraldahide yerleştirildi.

Elektron mikroskopisi için %2.5 luk glutaraldehitdeki spesimenin ikinci tesbiti %1'lik OsO4 ile yapıldı. Sonra, blok boyaması %1 uranil asetat, bloklaması araldit CY 212, kesitleri LBK ultramikrotomu ile yapılp uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanan kesitler Zeiss EMGS elektronmikroskopda incelenerek fotoğrafları çekildi.

Bir vakada uygulama esnasında infiltrasyon anesteziyi yetersizliğine bağlı senkop gelişti. Bunun dışında komplikasyonla karşılaşılmadı.

Her hastaya postoperatif rutin olarak enfeksiyon profilaksisi amacıyla per oral 4x1 gr ampisilin uygulandı (17).

BULGULAR

TRU-CUT iğne (Core) biyopsisi uyguladığımız 27 vakanın biyopsi spesimenlerinin değerlendirilmesinde:

İki vakanın biyopsi spesmeni bilateral tanı için yetersiz olarak değerlendirilmiş ve patolojik tetkik yapılmamıştır.

Altı vakanın biyopsi spesmeni yukardaki nedenden unilateral olarak değerlendirmeye alınmıştır.

Geriye kalan 19 vakanın tümü bilateral değerlendirilmiştir. Bunların 11'i hem ışık, hemde elektronmikroskobunda değerlendirildi. 8'i yalnız ışık mikroskobunda değerlendirildi.

Unilateral patolojik değerlendirme yapılan 6 vakanın ikisinde ışık mikroskobu bulgusu olarak: Tubuli bazal membranlarında kalınlaşma, az sayıda Sertoli hücrelerinin mevcudiyeti belirlenmiş, spermatogenik faaliyet gözlenmemiştir. Üçünde seminfer tubullerde fibrosis, interstisyumda bağ dokusu artışı belirlenmiş, spertamogenik faaliyet izlenmemiştir. Birisinde tubuli lümenlerinde spermatogenik faaliyet izlenmemiştir.

Bilateral patolojik değerlendirme yapılan 8 vakanın birisinde sağ, diğerinde sol olmak üzere ikisinde bağ dokusu belirlenmiş, testis dokusu belirlenmemiştir. Diğer taraftan yapılan kesitlerde; geniş, yer yer hyalinize bağ dokusu içinde 2-3 adet seminfer tubulusda tek tük olgun spermium gözlenmiştir. 2 sinde bilateral tubuli bazal membranlarında kalınlaşma, berrak görümlü Sertoli hücreleri izlenmiş, ancak spermatogenik faaliyet izlenmemiştir. 2'sinde her iki testiste seminfer tubuluslarda spermatogoniumlar bulunmakta, ancak spermatogenesis gözlenmemiştir, interstinum ödemli olarak değerlendirilmiştir. Birisinde bilateral tubular bazal membranlarda kalınlaşma, Sertoli hücreleri ile az sayıda spermatozoid görülmüştür. Birisinde bilateral seminfer tubullerin lümenlerinde az sayıda spermatozoalar görüldü, interstisyumda bağ dokusu artışı izlendi.

Hem ışık, hemde elektron mikroskobu çalışması yapılan 11 vakanın ışık mikroskobu bulguları:

7 sinde bilateral stromada Leydig hücrelerinde azalma, tubulus bazal membranlarında kalınlaşma, Sertoli hücreleri gözlenmekte, spermatogenik faaliyetin tamamen ortadan kalktığı izlenmektedir. 4 ünde bilateral tubulusların bazal membranlarında kalınlaşma ile bazal membranlarda dejenere spermatogoni ve sertoli hücreleri izlenmiştir (Resim 1).

11 vakanın elektron mikroskobu bulguları:

Bilateral değerlendirme yapılan vakaların tümünde bazal membranda ileri derecede kalınlaşma, bazal laminada düzensiz ve konsantrik tertiplenmiş lameller yapı, germinal epitel içine protrudasyon yapmış lamina girintileri, peritubular dokuda ılımlı düzeyden aşırı düzeye kadar artış belirlenmiştir (Resim 2).



Resim 1: Işık Mikroskobu, H.E 10x10 Tubulus bazal membranında kalınlaşma, dejenerere spermatogonia ve Sertoli hücreleri.



Resim 2: Elektron Mikroskobu, Bazal laminada artış ve tek bir Sertoli hücresi izleniyor.

TARTIŞMA

Azoospermi testiküler nedenlerden veya obstrüktif patolojilerden kaynaklanabilmektedir. Bu iki antitenin ayırımında testis biyopsisinden yararlanılmaktadır. Bu amaca yönelik Tru-cut iğne (Core) biyopsisi uyguladığımız vakalara başlangıçta iğne giriş yerine infiltrasyon anestezi uyguladık. Hastalar aşırı ağrı sensasyonu gösterdi, bir vakada senkop gelişti. Bunun üzerine cord çevresine infiltrasyon anestezi uyguladık. Son anılan uygulama bütün hastalar tarafından iyi tolare edildi.

Gordon ve arkadaşları (1965), infertilite tanısında uygulanan bilateral testis biyopsisinden sonra sperm sayımında geçici anlamlı azalmalar belirlemişlerdir. Yazarlar bunun antibody formasyona sekonder spermatogenesis supresyonundan olabileceğini vurgulamışlardır. Bununla beraber Gangai (1975), oligozoospermik erkeklerde testis biyopsisinden 14 gün sonra sirkülasyonda sperm immobilizasyon veya sperm aglutinasyon antibodylerini belirleyememişlerdir (3).

Uygulamalarımızın tamamı azoospermik infertil erkekleri kapsamaktadır, 25 vakanın bilateral değerlendirilmesini (Işık ve elektron mikroskopuyla) yaptığımız beşine postoperatif yaklaşık 2 ay sonra spermiogram yapıldı. Ancak preoperatif belirlediğimiz sonuç belirlendi (Azoospermi). Sperm immobilizasyon veya sperm aglutinasyon antibody araştırılması yapılmadı.

Testis ve prostat biyopsilerinde infeksiyon ve hemoraji komplikasyonları bildirilmektedir (17).

Uygulamalarımızda postoperatif testise yaklaşık 10 dakika kadar kompresyon uyguladık. Rutin olarak per oral 4x1 gr ampicilin tavsiye edildi (17), infeksiyon ve hemoraji gibi komplikasyonlarla karşılaşmadık.

İnfertil erkeklerin rutin klinik değerlendiril-

melerinde elektron mikroskopu çalışmalarının halihazırda pratik değerinin olmadığı bildirilmektedir. Bununla birlikte Chemes ve arkadaşları (1977) birçok infertil erkekte preliminary elektron mikroskopu delili kabul edilebilecek Sertoli hücre anormaliteleri belirlediklerini bildirmişlerdir (3).

Elektron mikroskopu ile değerlendirdiğimiz 11 vakada Chemes ve arkadaşlarının (1977) belirlediği Sertoli hücre anormalitelerini belirleyemedik.

SONUÇ

Çalışmamızda Tru-cut iğne (Core) biyopsisi ile sağlanan biyopsi materyalinin ışık ve elektron mikroskopu bulgularının karşılaştırılması, infertilite teşhisinde yaygın olarak uygulanan ışık mikroskopu değerlendirilmesinin yeterli olup olmadığını araştırılması amaçlandı.

6 sı unilateral, 19'u bilateral ışık mikroskopu değerlendirilmesinde; Tubulus bazal membranlarında kalınlaşma, inferstisyumda bağ dokusu artışı, spermatogenesis gözlenmemesi veya düşük düzeyde spermatogenesis varlığı belirlenmiştir.

11 vakanın elektron mikroskopuyla değerlendirilmesinde; Bazal membranda kalınlaşma, bazal laminada lameller yapı, germinal epitel içine protrude lamina girintileri, peritübüler doku artışı belirlenmiştir.

Işık ve elektron mikroskopuyla belirlenen görünümler birbirini andırmaktadır. Bu nedenle infertilite araştırılmasında ışık mikroskopuyla yapılan değerlendirmenin güvenilir olduğu görüşüne varıldı.

İnce iğne aspirasyon biyopsisinin değerlendirilmesi için uzman sitopatoloğa ihtiyaç duyulması nedeni ile, daha noninvaziv olan bu teknik yerinde, testis biyopsilerinde açık biyopsinin memleketimizde terk edilmesi, yerini Tru-cut (Mekanik veya otomatik tipleri ile) iğne biyopsilerinin alması gerektiğine inanıyoruz.

KAYNAKLAR

1. Blandy J. Biopsy of the testis. Operative urology. London: Williams Clowes Limited, 1986: 239-240.
2. Eva B, Dorthe F, Grete KJ. Testicular germ cell tumors, calcification based of fine needle aspiration biopsy. Acta Cytologica 1990; 5: 690-694.
3. Richard JS and Stuart SH. Testicular biopsy. In: Walsh PC, Gittes RF, Perlmutter AD, Stamey TA. eds. Campbell's urology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1986: 654-657.
4. Bhagwant G, Stanley K, Barr R, Maria S, Eva Radel, Edward R, and Selwyn L. Needle biopsy in the diagnosis of testicular leukemia in children. The Journal of Urology 1989; 141: 1169-1171.
5. Robert K. Surgery of the testis. In: Novick AC, Stroom SB, Pontes JE, eds. Stewart's operative urology. Baltimore: Williams and Wilkins 428 East Preston Street, 1990: 757.
6. Miguel PG, Ann T, Torsten L. Paratesticular adenomatoid tumors, the cytologic presentation in fine needle aspiration biopsies. Acta Cytologica 1989; 1:6-10.
7. Williams JC and Williams WS. Biopsy of the prostate. In: Walsh PC, Gittes RF, Perlmutter AD, Stamey TA, eds. Campbell's urology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1989: 1477-1479.
8. Eva B, Dorthe F, Grete KJ. Testicular germ cell tumors, calcification based of fine needle aspirator biopsy. Acta Cytologica 1990; 5: 690-694.
9. Harris MN, David GK, Kathleen MO and Ihor SS. Carcinoma in situ of the testes. Diagnosis by aspiration flow cytometry. The Journal of Urology 1990; 141: 359-361.
10. Jose IL, Francisco IA. Fine needle aspiration cytology of spermatocytic seminoma. The International Academy of Cytology 1989; 5:657-630.
11. Lester JL, Lee HH, Britt ML, Stephan F and Richard ME. Use of fine needle aspiration cytology for the diagnosis of testicular relapse in patients with acute lymphoblastic leukemia. The Journal of Urology 1988; 139: 1020-1022.
12. Guido P, Luigi I, Annarosaria de C, Renato L. Fine needle aspiration cytology of the testis. Acta Cytologica 1987; 5: 578-582.
13. Yaman S, Müftüoğlu YZ, Anafarta K, Bedük Y. Testis biyopsisi, Üroloji. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti, 1990: 498-500.
14. Sertçelik A. Testis biyopsisi ve seminal vezikülogram. Sertçelik MN, Ünal S, Karaoğlan Ü, Serçelik A. Erkek infertilitesi. Ankara: Ünal Ofset Matbaası, 1983: 93-99.
15. Masanori Y, Junichi H, Hidenori T, Koji M. Scanning electron microscopic study on the shape of infertile seminiferous tubules: A hypothesis of pathogenesis of idiopathic male infertility. Int/Fertil 1988; 33:4, 265-272.
16. Sert Ü, Öztürk O, Arslan A, Haksöz C. Testis iğne biyopsisi ile açık biyopsi bulgularının karşılaştırılması. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1989; 16(2): 148-152.
17. Joseph WS. Prostatic biopsy techniques. In: Glenn JF, Boyce HW, Abrosse SS. Urologic surgery. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1983: 935-938.

Resim 2: Elektron Mikroskopu, Bazal lamina da artıç ve tek bir Sertoli hücresi izleniyor