Testicular histopathology of men with non-obstructive azoospermia referred to infertility center of Shariati hospital (Tehran-2012)

R. Najafipour* A. Samimi Hashjin** S. Moghbelinejad*** F. Rajaei**** Z. Rezaeian***** P. Fallahi******

*Assistant Professor of Genetics, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
**M.Sc. Student of Medical Biotechnology, School of Paramedical Sciences, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
***Assistant Professor of Medical Genetics, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
**** Professor of Histology and Embryology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
*****M.Sc. in Animal Biology, Fertility and Infertility Center, Shariati Hospital, Tehran, Iran
******Clinical doctorate in laboratory science, Fertility and Infertility Center, Shariati Hospital, Tehran, Iran

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:26 +0430 on Monday May 20th 2019

Abstract

Background: The male factor contributes to more than 50% of the infertility cases. Studies have shown that a variety of mechanisms are involved in male infertility, though a few of them have been identified till now.

Objective: The aim of this study was to evaluate the testicular histopathology of men with non-obstructive azoospermia referred to infertility center of Shariati hospital.

Methods: This experimental study was conducted on 50 testicular tissue samples of men with non-obstructive azoospermia who were candidates for assisted reproductive procedures referred to Shariati hospital in 2012. Paraffin blocks were prepared from the testicular tissue biopsy and the sections were stained in hematoxylin and eosin.

Finding: 16% of the samples were classified as hypospermatogenesis; 48% were classified as spermatocytic arrest; 18% were classified as Sertoli cell only; and 18% were classified as tubular fibrosis.

Conclusion: With regards to the results, future studies would focus on reasons of germ cell cycle arrest in men with non-obstructive azoospermia and setting up the related diagnostic genetic tests.

Keywords: Male Infertility, Azoospermia, Spermatogenesis, Testis

Corresponding Address: Sahar Moghbelinejad, Basic Sciences Building, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Shahid Bahonar Blvd., Qazvin, Iran
Email: smoghbelinejad@qums.ac.ir
Tel: +98-281-3336001
Received: 7 Sep 2013
Accepted: 17 Nov 2013

الگوی هیستوپاتولوژیکی بافت بیضه مردان با آزواسپرمیای غیرانسدادی مراجعه‌کننده به بخش نازایی بیمارستان شریعتی تهران (۱۳۹۱)

دکتر رضا نجفی‌پور* امیر صمیمی هشجین** دکتر سحر مقبلی‌نژاد*** دکتر فرزاد رجایی**** زهرا رضائیان موحد***** دکتر پروین فلاحی******

* استادیار ژنتیک مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
** دانشجوی رشته بیوتکنولوژی پزشکی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
*** استادیار ژنتیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
**** استاد بافت‌شناسی و جنین‌شناسی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
***** کارشناس ارشد علوم جانوری مرکز باروری و ناباروری بیمارستان شریعتی تهران
****** دکترای علوم آزمایشگاهی مرکز باروری و ناباروری بیمارستان شریعتی تهران

آدرس نویسنده مسؤول: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، ساختمان علوم پایه، ۳۳۳۶۰۰۱- ۰۲۸۱
Email: smoghbelinejad@qms.ac.ir
تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۲۶

چکیده

زمینه: ناباروری مردان بیش از ۵۰ درصد موارد ناباروری را به خود اختصاص داده است. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که مکانیسم‌های زیادی در ناباروری مردان دخالت دارند که تاکنون درصد کمی از آن‌ها شناخته شده است.

هدف: مطالعه به منظور ارزیابی آسیب‌شناختی بافت بیضه مردان با آزواسپرمیای غیرانسدادی مراجعه‌کننده به بخش نازایی بیمارستان شریعتی تهران انجام شد.

روش کار: این مطالعه تجربی بر روی بافت بیضه ۵۰ بیمار با آزواسپرمیای غیرانسدادی مراجعه‌کننده به بیمارستان شریعتی تهران در سال ۱۳۹۱ انجام شد که کاندید انجام روش‌های کمک باروری بودند. ابتدا بلوک‌های پارافینی از بافت بیضه بیوپسی شده تهیه و سپس برش‌های این بلوک‌ها با رنگ‌آمیزی هماتوکسلین- ائوزین بررسی شدند.

یافته‌ها: ٪۱۶ نمونه‌های مورد مطالعه به صورت اسپرماتوژنز کم، ٪۴۸ به صورت توقف در بلوغ، ٪۱۸ به صورت سلول‌های سرتولی تنها و ٪۱۸ به صورت دژنره شدن توبول‌ها بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، می‌توان در مطالعه‌های بعدی در جهت بررسی دلایل توقف تمایز سلول‌های جنسی در این بیماران و راه‌اندازی آزمایش‌های ژنتیکی تشخیصی مربوطه گام مهمی برداشت.

کلیدواژه‌ها: ناباروری مردان، آزواسپرمیا، اسپرماتوژنزیس، بیضه

مقدمه:

زوج‌هایی که پس از یک سال تلاش برای بچه‌دار شدن قادر به داشتن فرزند نباشند، زوج نابارور خوانده می‌شوند.[۱و۲] در این میان، حدود ۵۰ درصد موارد ناباروری مربوط به عامل مردانه است.[۳و۴] ناهنجاری‌های بیضه به طور معمول در ۱ درصد مردان مشاهده می‌شود، ولی در مردان نابارور این رقم به ۱۰ درصد می‌رسد.[۵] تشخیص آزواسپرمیا توسط آنالیز سمن مرد است که به صورت آنالیز حجم، غلظت، میزان حرکت، ریخت‌شناسی اسپرم‌ها و pH سمن انجام می‌شود.[۶و۷]

آزواسپرمیا می‌تواند به صورت انسدادی یا غیرانسدای باشد. در آزواسپرمیای انسدادی مسیر انتقال اسپرم‌ها بسته شده است. ولی در آزواسپرمیای غیرانسدادی اسپرم در بیضه تولید نمی‌شود. به طور معمول این مرحله با گرفتن بیوپسی از بیضه انجام می‌شود. البته آزمایش‌های

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:26 +0430 on Monday May 20th 2019

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:26 +0430 on Monday May 20th 2019

غیرمستقیم مانند بررسی عوامل هورمونی نیز در تشخیص بی‌تأثیر نیست.[۸و۹] آگاهی از روند اسپرماتوژنز صحیح، پیش نیازی برای درمان صحیح ناباروری مردان و استفاده از فنون کمک باروری است.[۱۰و۱۱] اسپرماتوژنزیس فرایند پیچیده‌ای است که در دوران جنینی و نوزادی به صورت Prespermatigenesis شروع می‌شود. مراحل عمده این فرایند عبارتند از: Spermatogoiogenesis، spermatogenesis ،Maturation of spermatocytes و تمایز اسپرماتیدها.[۱۲] سلول‌های جنسی در لوله‌های سمنی فروس تشکیل می‌شوند که از دوران بلوغ تا پیری ادامه دارد. فرایند کامل تشکیل سلول‌های جنسی اسپرماتوژنزیس نام دارد.[۱۲] درک صحیح از فرایند اسپرماتوژنزیس به آگاهی از ساختار و سازمان‌دهی سلول‌های جنسی نیاز دارد. لوله‌های سمنی فروس از اپی‌تلیوم‌های جنسی و بافت پری توبولار تشکیل شده‌اند. اپی‌تلیوم جنسی شامل سلول‌های مختلف جنسی از جمله اسپرماتوگونیا، اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه و اسپرماتیدهاست که در میان این سلول‌ها، سلول‌های سرتولی قرار گرفته‌اند.[۱۳] بافت پری توبولار از سلول‌های میوبلاست به همراه بافت‌های پیوندی تشکیل شده است و ارتباط لوله‌های سمنی فروس را تسهیل می‌کند.[۱۲]

بیوپسی از بافت بیضه علاوه بر این که بررسی هیستوپاتولوژیکی بیضه را ممکن می‌کند، اجازه می‌دهد مشخص شود در بافت بیضه اسپرم وجود دارد یا نه؛ در بیماران آزواسپرمیای غیرانسدادی انواع مختلف الگوهای اسپرماتوژنزیس مانند اسپرماتوژنز کم، توقف در بلوغ، سلول‌های سرتولی تنها و دژنره شدن توبول‌ها مشاهده می‌گردد. مطالعه‌ها نشان داده‌اند عوامل مختلفی از جمله عوامل ژنتیک در بروز الگوهای مختلف اسپرماتوژنزیس دخالت دارند و در هر مورد ژن‌های مختلفی دخیل هستند.[۱۳] لذا تحقیق حاضر با هدف ارزیابی آسیب‌شناختی بافت بیضه مردان با آزواسپرمیای غیرانسدادی مراجعه‌کننده به بخش نازایی بیمارستان شریعتی تهران انجام شد.

❋ مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی پس از تأیید کمیته منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و رضایت‌نامه آگاهانه اخلاقی از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان شریعتی تهران در سال ۱۳۹۱ انجام شد. نمونه بافت بیضه ۵۰ مرد آزواسپرم غیرانسدادی که کاندید استفاده از روش‌های کمک باروری بودند، بررسی شد. غیرانسدادی بودن آزواسپرمیای این بیماران با توجه به بیوپسی‌های قبلی و آزمایش‌های هورمونی مشخص شده بود. یک بخش از بافت بیضه توسط متخصص اورولوژی به منظور انجام روش TESE (testicular sperm extraction) استفاده شد و بخش دیگر بافت، به منظور بررسی‌های آسیب‌شناختی در محلول Bouins تازه قرار گرفت و از بافت‌های مربوطه بلوک‌های پارافینی تهیه شد. از هر بلوک پارافینی مربوط به یک نمونه ۳ تا ۵ برش تهیه و روی اسلایدهای حاوی آلبومین تثبیت شدند و بعد از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بررسی هیستولوژیکی شدند.

مواردی که در بررسی هیستولوژیکی هر نمونه مد نظر قرار گرفت عبارت بودند از: ساختار کلی، تعداد لوله‌های سمنی فروس در هر نمونه، الگوی لوله‌های سمنی فروس، نسبت سلول‌های جنسی به سلول‌های سرتولی، بافت‌های میانی، غشای پایه و سلول‌های لایدیگ. همچنین لوله‌های سمنی فروس از لحاظ هیستوپاتولوژیکی براساس الگوی جانسن درجه‌بندی شدند. در این الگو کل لوله‌های سمنی فروس در هر مقطع از برش‌های بافتی به صورت سیستمی بررسی و از ۱ تا ۱۰ درجه‌بندی می‌شوند. درجه ۱۰: اسپرماتوزنز کامل، درجه ۹: اسپرماتوژنز ناقص جزئی به همراه اسپرماتیدهای طویل و تا حدی اپی‌تلیوم نامنظم، درجه ۸: کم‌تر از ۵۰ درصد اسپرماتوزوآ در هر لوله به همراه اسپرماتیدهای طویل، درجه ۷: بدون اسپرماتوزوا و اسپرماتید طویل به همراه تعداد زیادی اسپرماتید اولیه، درجه ۶: بدون اسپرماتوزوا و اسپرماتید طویل به همراه تعداد کمی اسپرماتید اولیه، درجه ۵: بدون اسپرماتوزوا و

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:26 +0430 on Monday May 20th 2019

اسپرماتید به همراه تعداد زیادی اسپرماتوسیت، درجه ۴: بدون اسپرماتوزوا یا اسپرماتید به همراه اسپرماتوسیت کم، درجه ۳: فقط سلول‌های اسپرماتوگونی، درجه ۲: بدون سلول‌های جنسی به همراه سلول‌های سرتولی و درجه ۱: بدون اپی‌تلیوم سمنی فروس.[۱۴و۱۵]

❋ یافته‌ها:

دامنه سنی مردان مورد مطالعه ۲۶ تا ۴۷ سال و مدت زمان ازدواج این افراد به طور متوسط ۳ تا ۱۲ سال بود. از ۵۰ لوله سمنی فروس مورد مطالعه، براساس معیارهای هیستوپاتولوژیکی اکثر نمونه‌ها (۴۸ درصد) به صورت توقف در بلوغ بودند (نمودار شماره ۱).

نمودار ۱- فراوانی بافت‌های مورد مطالعه در گروه‌های مختلف هیستوپاتولوژیک

در نمونه‌های اسپرماتوژنز کم بررسی سلول‌ها در اپی‌تلیوم ژرمینال نشان داد که تعداد سلول‌های جنسی در مراحل اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید کاهش یافته بود و سلول‌های لایدیگ اطراف توبول‌ها طبیعی بودند.

در نمونه‌های توقف در بلوغ، بلوغ سلول‌ها در مراحل اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید متوقف شده بود. این مراحل درجه‌های مختلفی را به خود اختصاص دادند که در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱- درجه‌بندی نمونه‌های بافت بیضه براساس روش جانسن

درجه‌بندی جانسن	تعداد	درصد
درجه ۸	۸	۱۶
درجه ۷	۷	۱۴
درجه ۶	۶	۱۲
درجه ۵	۳	۶
درجه ۴	۴	۸
درجه ۳	۴	۸
درجه ۲	۹	۱۸
درجه ۱	۹	۱۸

در نمونه‌های سلول‌های سرتولی تنها، ضخامت غشای پوششی و غشای پایه کاهش یافته و قطر لوله‌های سمنی فروس نیز کم‌تر شده بود و هیچ سلول جنسی مشاهده نشده و سلول‌های سرتولی در لوله‌ها مشاهده شدند.

در نمونه‌هایی که به صورت دژنره شدن توبول‌ها بودند، قطر لوله‌های سمنی فروس کاهش یافته، ضخامت غشای پایه افزایش یافته و اپی‌تلیوم ژرمینال از بین رفته بود.

❋ بحث و نتیجه‌گیری:

این تحقیق نشان داد که از لحاظ آسیب‌شناختی بافت بیضه بیش‌تر مردان آزواسپرم کاندید استفاده از روش‌های کمک باروری در مرکز نازایی بیمارستان شریعتی از نوع توقف تمایز سلول‌ها در مراحل مختلف روند اسپرماتوژنزیس بود. به طور کلی ناباروری مردان حدود ۵۰ درصد موارد ناباروری را به خود اختصاص می‌دهد که تقریباً در ۲۰ درصد موارد، دلیل این ناباروری مشخص نیست. میزان بروز ناباروری در بین مناطق مختلف و حتی در میان جمعیت یک منطقه بسیار متغیر است. گفته می‌شود شرایط مختلف مانند آداب و رسوم اجتماعی، نحوه زندگی، آداب تغذیه و زمینه ژنتیکی در بروز ناباروری مردان بسیار تأثیرگذار هستند. براساس یک گزارش ۲۰/۲ درصد زوج‌های ایرانی نابارور هستند که بسیار بیش‌تر از متوسط گزارش شده در دنیاست. (۱۵ تا ۲۲ درصد) و در این میان ۷۰ درصد موارد ناباروری را ناباروری مردان به خود اختصاص داده است.[۱۶]

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:26 +0430 on Monday May 20th 2019

نتایج بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی این تحقیق نشان داد که ۱۶ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه با اسپرماتوژنز کم بودند. حداد و همکاران بیش‌ترین میزان بروز این حالت را (۵۵/۸) درصد در مطالعه خود گزارش کرده اند.[۱۷] در مطالعه‌ای دیگر، بروز اسپرماتوژنز کم در نمونه‌های نابارور ۴۹ درصد گزارش شده است.[۱۸] در مطالعه توماس بر روی مردان نابارور نیجیریه ۱۹ درصد نمونه‌ها با اسپرماتوژنز کم گزارش شدند که تقریباً مشابه نتایج مطالعه حاضر بود.[۱۹] این میزان در دو مطالعه دیگر ۲۳ و ۲۷ درصد ذکر شده است.[۲۰و۲۱] در مطالعه رئیسی و همکاران که بر روی مردان با ناباروری اولیه انجام شد، بروز اسپرماتوژنز کم در ۱۳ درصد موارد مشاهده شد که تقریباً مشابه نتایج تحقیق حاضر بود.[۲۲] در بیمارانی که از لحاظ هیستوپاتولوژیکی به صورت اسپرماتوژنز کم باشند، احتمال به دست آوردن اسپرم بارور از بافت بیضه بیوپسی شده بیش‌تر است؛ مگر این که میزان درصد اسپرماتوزوای طبیعی بسیار کم باشد.[۹]

نمونه‌های توقف در بلوغ نمونه‌هایی هستند که بلوغ سلول‌های جنسی در مراحل مختلف از اسپرماتوگونی تا اسپرماتید متوقف شده است. در این مطالعه میزان نمونه‌های توقف در بلوغ ۴۸ درصد بود. عوامل مختلفی در بروز این حالت دخالت دارند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها، ناهنجاری‌های ژنتیک مانند ناهنجاری‌های کروموزومی (تریزومی، جابه‌جایی و واژگونی متعادل) و ریز حذف‌های کروموزوم Y است. از عوامل ثانویه می‌توان مواجهه با عوامل محیطی آسیب‌رسان (رادیوتراپی، شیمی درمانی، آنتی بیوتیک‌ها) را نام برد.[۲۳] این یافته مطالعه حاضر تقریباً با نتایج گلینا و همکاران (۳۷/۵ درصد) تطابق داشت، ولی در مقایسه با سایر مطالعه‌ها (۵ تا ۱۲/۵ درصد) بیش‌تر بود.[۲۴-۱۹و۹] کم‌ترین میزان در این زمینه توسط حداد و همکاران (۱/۵ درصد) گزارش شده است.[۱۷]

میزان شیوع نمونه‌ها به صورت سلول‌های سرتولی تنها در این تحقیق ۱۸ درصد بود که با نتایج گزارش شده توسط رئیسی و همکاران (۱۶ درصد) همخوانی داشت.[۲۲] ولی نسبت به نتایج سایر مطالعه‌ها (۸ تا ۱۲/۵ درصد) بیش‌تر بود.[۲۴-۱۹] سندرم سلول‌های سرتولی تنها تحت تأثیر عوامل بسیار زیادی ایجاد می‌شود؛ از آن جمله داروهای شیمیایی، پرتو و کریپتورکیدیسم. آتروفی لوله-های سمنی فروس در ۱۸ درصد نمونه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. در برخی از مطالعه‌ها میزان بروز این حالت کم گزارش شده است مانند مطالعه رئیسی و همکاران (۶ درصد) و در سایر مطالعه‌ها این حالت زیاد بوده است مانند مطالعه‌های حداد و همکاران (۲۸/۴ درصد) و توماس (۲۳ درصد).[۱۷و۱۹و۲۲] با توجه به نتایج این تحقیق و سایر مطالعه‌ها می‌توان گفت بررسی بافت بیضه یک روش مناسب برای تحقیق و تشخیص ناباروری مردان است و از این بررسی می‌توان به منظور پیشگیری نیز استفاده کرد. همچنین با توجه به این که اکثر نمونه‌های این مطالعه به صورت توقف در بلوغ بودند و بلوغ سلول‌های جنسی در مراحل مختلف متوقف شده بود، بهتر است در جمعیت مردان نابارور مراجعه‌کننده به این مرکز بر روی مکانیسم‌های ژنتیک درگیر در این مسأله تمرکز بیش‌تری کرد.

❋ مراجع:

1. Plaseska-Karanfilska D, Noveski P, Plaseski T, et al. Genetic causes of male infertility. Balkan J Med Genet 2012 Dec; 15 (Suppl): 31-4
2. Anawalt BD. Approach to male infertility and induction of spermatogenesis. J Clin Endocrinol Metab 2013 Sep; 98 (9): 3532-42
3. Shefi S, Turek PJ. Definition and current evaluation of subfertile men. Int Braz J Urol 2006 Jul-Aug; 32 (4): 385-97
4. Skakkebaek NE, Giwercman A, de Kretser D. Pathogenesis and management of male infertility. Lancet 1994 Jun; 343 (8911): 1473-9

Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:26 +0430 on Monday May 20th 2019

5. Tzvetkov K, Monastirska M. The sertoli cells, testicular differentiation and male infertility. Akush Ginekol (Sofiia) 2012; 51 Suppl 1: 15-8
6. Patil PS, Humbarwadi RS, Patil AD, Gune AR. Immature germ cells in semen-correlation with total sperm count and sperm motility. J Cytol 2013 Jul; 30 (3): 185-9
7. Schoor RA, Elhanbly S, Niederberger CS, Ross LS. The role of testicular biopsy in the modern management of male infertility. J Urol 2002 Jan; 167 (1): 197-200
8. Hussein A. Evaluation of diagnostic testis biopsy and the repetition of testicular sperm extraction surgeries in infertility patients. Fertil Steril 2013 Jul; 100 (1): 88-93
9. Paz G, Gamzu R, Yavetz H. Diagnosis of nonobstructive azoospermia: the laboratory perspective. J Androl 2003 Mar-Apr; 24 (2): 167-9
10. Quallich S. Examining male infertility. Urol Nurs 2006 Aug; 26 (4): 277-88
11. Mruk DD, Cheng CY. Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. Endocr Rev 2004 Oct; 25 (5): 747-806
12. Holstein A, Schulze W, Davidoff M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. Reprod Biol Endocrinol 2003 Nov 14; 1: 107
13. Chu DS, Shakes DC. Spermatogenesis. Adv Exp Med Biol 2013 Jul; 757: 171-203
14. Johnsen SG. Testicular biopsy score count- a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 325 hypogonadal males. Hormones 1970; 1 (1): 2-25
15. Sasagawa I, Yazawa H, Suzuki Y, et al. Reevaluation of testicular biopsies of males with nonobstructive azoospermia in assisted reproductive technology. Arch Androl 2001 Jan-Feb; 46: 79-83
16. Mozdarani H, Khashay S. Study of baseline sperm DNA damage in fertile and infertile Iranian men. Hakim 2005 Jul; 8 (2): 18-24 [In Persian]
17. Haddad FH, Omari AA, Malkawi OM, et al. Patterns of testicular cytology in men with primary infertility: any change since the Gulf War? Acta Cytol 2004 Nov-Dec; 48 (6): 807-12
18. Meinhard E, Mcrae CU, Chisholm GD. Testicular biopsy in evaluation of male infertility. Br Med J 1973 Sep 15; 3 (5880): 577-81
19. Thomas JO. Histological pattern of testicular biopsies in infertile males in Ibadan, Nigeria. East Afr Med J 1990 Aug; 67 (8): 578-84
20. Wong TW, Straus FH, Warner NE. Testicular biopsy in the study of male infertility. II Posttesticular causes of infertility. Arch Pathol 1973 Aug; 95: 151-60
21. Brannen GE, Roth RR. Testicular abnormalities of the subfertile male. J Urol 1979 Dec; 122 (6): 757-62
22. Al-Rayess MM, Al-Rikabi AC. Morphologic patterns of male infertility in Saudi patients. A University Hospital experience. Saudi Med J 2000 Jul; 21 (7): 625-8
23. Tsai MC, Cheng YS, Lin TY, et al. Clinical characteristics and reproductive outcomes in infertile men with testicular early and latematuration arrest. Urology 2012 Oct; 80 (4): 826-32
24. Colgan TT, Bedard TC, Strawbudge HT, et al. Reappraisal of the value of testicular biopsy in the investigation of infertility. Fertil Steril 1980 Jan; 33 (1): 56-60