

论著·临床研究

精液细胞学检查对非梗阻性无精子症睾丸穿刺取精术成功率的预测价值*

聂彩霞, 李 锐, 刘世玲, 周 波, 曹全富[△]

(中国人民解放军陆军特色医学中心生殖医学中心, 重庆 400042)

[摘要] **目的** 探索精液细胞学检查对非梗阻性无精子症(NOA)患者睾丸穿刺取精术(TESA)成功率的预测价值。**方法** 回顾性分析 2018—2020 年于该中心就诊的 67 例 NOA 患者的精液细胞学检查结果, 根据是否存在不同发育阶段的生精细胞, 分为甲组(发现处于不同发育阶段的生精细胞)和乙组(未发现处于不同发育阶段的生精细胞)。分别为甲、乙组患者实施 TESA, 比较 2 组患者手术成功率有无差异。**结果** 甲组患者 TESA 成功率显著高于乙组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 精液细胞学检查对 NOA 患者 TESA 成功率具有一定的预测价值。

[关键词] 精液细胞学; 非梗阻性无精子症; 生精细胞; 睾丸穿刺取精; 预测价值

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2023.16.004 **中图法分类号:**R715.2

文章编号:1009-5519(2023)16-2721-04 **文献标识码:**A

Predictive value of semen cytology for for the success rate of testicular sperm aspiration in patients with non-obstructive azoospermia*

NIE Caixia, LI Rui, LIU Shiling, ZHOU Bo, CAO Quanfu[△]

(Center for Reproductive Medicine, Army Medical Center of PLA, Chongqing 400042, China)

[Abstract] **Objective** To explore the predictive value of semen cytology for testicular sperm aspiration (TESA) in patients with non-obstructive azoospermia (NOA). **Methods** Semen cytology results of 67 NOA patients treated in the center from 2018 to 2020 were retrospectively analyzed. According to the presence or absence of spermatogenic cells at different stages of development, they were divided into group A (spermatogenic cells at different stages of development were found) and group B (spermatogenic cells at different stages of development were not found). TESA was performed in group A and Group B, and the success rate of the operation was compared between the two groups. **Results** TESA success rate in group A was significantly higher than that in group B, with statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** Semen cytology has certain predictive value for TESA success rate in NOA patients.

[Key words] Semen cytology; Non-obstructive azoospermia; Spermatogenic cell; Testicular sperm aspiration; Predictive value

非梗阻性无精子症(NOA)是指睾丸生精功能衰竭所致的一类无精子症, 约占无精子症患者的 60%^[1]。引起 NOA 的原因可能是多方面的, 包括 47XXY 性染色体异常症、Y 染色体显微缺失症、隐睾症、化学疗法、腮腺炎引起的睾丸炎等, 还有部分 NOA 患者病因未明。既往研究发现, 睾丸精子发生具有局灶性和不均一性^[2], 而 DONOSO 等^[3]首次通过睾丸穿刺取精术(TESA)在 NOA 患者睾丸中发现

精子, 这进一步说明, 即使睾丸内大部分生精小管中均无法找到精子, 仍不能排除其有少量生精灶存在的可能。研究表明, 约 60% 的 NOA 患者可通过外科手术方式(最常用的就是 TESA)发现精子, 并通过辅助生殖技术解决生育问题^[4], 但由于其精子产生极少, 并不足以随精液排出, 常规检查往往无法检测到精子。而常用的 TESA 虽然操作简单, 但属于有创检查, 通常会给患者造成不同程度的不适感, 甚至可能

* 基金项目: 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2019jcyj-msxmX2077)。

作者简介: 聂彩霞(1987—), 硕士研究生, 助理研究员, 主要从事辅助生殖胚胎培养与胚胎发育研究。 [△] 通信作者, E-mail: 1289536704@qq.com。

发生阴囊血肿、感染等并发症。因此,在临床工作中,为了减少不必要的有创操作,根据患者实际状况,对其睾丸内部是否存在精子作出一定的预先评估具有重大意义。本研究通过探讨精液细胞学检查对 NOA 患者 TESA 成功率的预测价值,为 NOA 患者的无创诊疗提供一定的理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2018—2020 年于本中心就诊的 67 例 NOA 患者为研究对象,平均年龄(30.51±4.85)岁。纳入标准:符合 NOA 诊断标准;连续 2~3 次(间隔 2 周以上复查 1 次)以上精液离心及沉淀涂片检查均未检出精子;病历资料齐全。排除标准:梗阻性无精子症(OA)患者;逆行射精者;不射精者;合并急性附睾炎、睾丸炎、精索炎、精囊炎、前列腺炎及阴囊皮肤感染患者;合并结核、梅毒等传染病者;两侧睾丸体积均小于 12 mL 者;全身恶性肿瘤及凝血功能异常者。

1.2 方法

1.2.1 精液细胞学检查 患者禁欲 2~7 d 后,手淫法采集其精液标本,置于 37℃ 恒温水浴箱内,待充分液化后离心,沉淀物以磷酸缓冲液(pH=7.2)洗涤 3 次后涂片(每个标本制作 3 张涂片),待自然风干后,以 95%乙醇固定 1 min,洗瓶冲洗干净后用伊红染色 3 min,流水冲洗,亚甲基蓝染色 2 min,再用流水冲洗

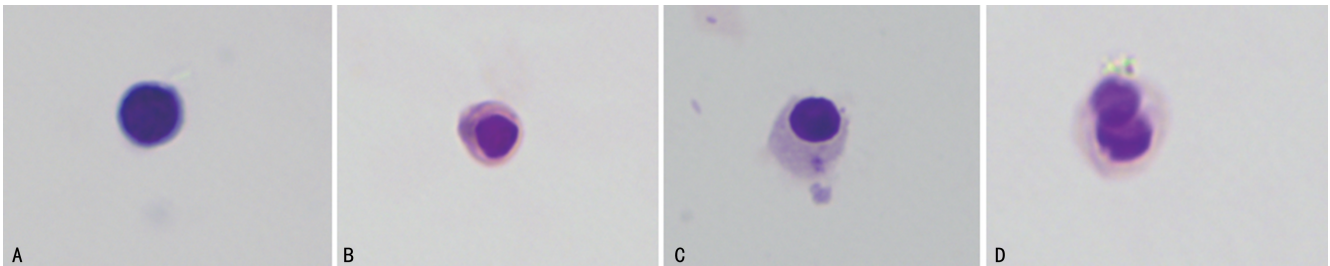
干净,再次晾干。油镜(10×100)下观察是否存在处于不同发育阶段的生精细胞。根据检测结果,将患者分为甲组(发现处于不同发育阶段的生精细胞)和乙组(未发现处于不同发育阶段的生精细胞)。

1.2.2 TESA 患者取仰卧位,常规消毒阴囊皮肤,用 2%利多卡因实施局部麻醉后,以拇指、食指和中指固定睾丸,用 22 G 空针头穿刺睾丸并吸取少许睾丸组织,以卵泡冲洗培养液 3-(N-吗啉)丙磺酸(G-MOPS™,购于 Vitrolife 公司)冲洗 3 次后,充分研磨使生精细胞溢出,立即取样制作湿片(每个标本制作 3 张涂片)。相差显微镜(100×)下观察是否存在精子。

1.3 统计学处理 使用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行分析。本研究所涉及的甲、乙组为 2 组独立样本,资料类型为计数资料,可以整理为独立样本四格表资料,根据理论频数的实际情况选择 Pearson χ^2 、连续性校正的 χ^2 或 Fisher's 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 精液细胞学检查结果 根据精液细胞学检查结果,67 例 NOA 患者中,36 例患者的精液中发现处于不同发育阶段的生精细胞(甲组),另外 31 例患者未见任何类型的生精细胞(乙组)。精液细胞学检查(改良 Diff-Quik 快速染色法)镜检正常生精细胞图见图 1。



注:A. 精原细胞;B. 初级精母细胞;C. 次级精母细胞;D. 精子细胞。

图 1 甲组患者精液细胞学检查(改良 Diff-Quik 快速染色法,100×)

2.2 TESA 结果 根据 TESA 结果,甲组 36 例患者中穿刺后找到精子者 23 例(63.89%),乙组 31 例患者中穿刺后找到精子者 11 例(35.49%)。甲组患者 TESA 成功率显著高于乙组,差异有统计学意义($P=0.020$)。

2.3 取精后辅助生殖结果 甲组穿刺后找到精子的 23 例患者中,16 例患者进入卵母细胞单精子显微注射(ICSI)助孕治疗,经过 1~2 个周期治疗后 14 例患者配偶成功妊娠并生产。乙组穿刺后找到精子的 11 例患者中,6 例患者进入 ICSI 助孕治疗,经过 1~2 个周期治疗后 6 例患者配偶均成功妊娠并生产。2 组进

入辅助生殖周期后的妊娠结局比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

男性不育症是当今生殖医学常见疾病,严重影响男性身心健康和家庭和谐。世界卫生组织调查表明,15%的育龄夫妇存在不孕不育问题,而男性不育占 50%^[5]。随着辅助生殖技术发展日趋成熟,少弱畸精症等患者多可借助辅助生殖技术实现孕育属于自己的后代。而无精症成为男性不育难中之难,ICSI 技术的发展使得一部分无精症患者获得了拥有自己后代的机会^[6-8]。因此,在临床工作中如何在无精症患者

的睾丸中找到精子成为最大的挑战。无精症分为 OA 和 NOA。其中 NOA 患者发病主要是因为睾丸大部分或全部生精小管发生阻滞,致使生精细胞发育停滞于生精过程的某一阶段,造成精液中无精子出现。研究指出,由于 NOA 患者睾丸精子产生具有不均一性和局限性,在部分患者的生精功能衰竭的睾丸中仍有少量成熟精子在睾丸生精小管中储存,通过外科手术及辅助生殖技术,能够帮助 NOA 患者获得拥有自己血缘的后代^[9-10]。其中临床最常用的手术方式就是 TESA,不同研究报道 TESA 取精成功率不一,不可否认的是不同状况的患者取精成功率是不一致的^[11-12],并且 TESA 作为一种有创检查本身可能给患者造成一定的创伤,因此对 TESA 指征的判断至关重要。既往研究表明,NOA 患者的睾丸体积、促卵泡激素(FSH)水平均对其睾丸中有无精子有一定预测作用,且睾丸体积的预测准确性高于 FSH 水平^[13]。但无论是睾丸体积还是 FSH 水平,其作为评估指标都具有一定的局限性。本研究选取 2018—2020 年于本中心就诊并行 TESA 取精的 67 例 NOA 患者为研究对象,试图探讨精液细胞学检查对 NOA 患者 TESA 成功率的实际预测价值,为 TESA 指征的评估提供参考。

精液的主要成分是精子和精浆,其中精浆是属于性腺的分泌物,占 90%~95%,精子及各种细胞成分占 5~10%^[14-15]。由于精子生成过程中曲细精管的同一转化部位可以同时存在多个精子成熟阶段。所以精液内含有的细胞成分中可能有生精细胞,其主要由精原细胞、精母细胞和精子细胞等组成,可伴随着成熟的精子进入精液中^[16-17]。通过应用光学显微镜辨认及离心沉淀、染色后的精液细胞,着重从未成熟生精细胞的形态、比例、分化程度来判断睾丸内是否具有残存的精子生成能力^[18-19],是近年来开展的一种无创伤、无后遗症、操作简便的判断精道梗阻与否及睾丸生精功能的检测方法。NOA 患者睾丸中无成熟的精子,只有不同类型、不同比例的未成熟生精细胞或支持细胞,说明无精症是由睾丸生精功能障碍引起,而不是由输精管道梗阻所致,其输精管道通畅,考虑为 NOA^[20]。本研究结果显示,甲组患者 TESA 成功率显著高于乙组,差异有统计学意义($P<0.05$),提示精液细胞学检查发现存在不同发育阶段的生精细胞对 NOA 患者睾丸中是否存在精子具有一定的预测作用。但 2 组取得精子的病例在辅助生殖技术中的妊娠结局没有差异性,与相关资料的结论一致^[21-22]。由于本次研究为回顾性分析,具有一定的局限性,该结论尚需进一步验证。此外,部分 NOA 患者可能存在

多次 TESA 结果不一致的情况,即使其睾丸内部存在精子,TESA 也有一定的失败概率,这也在一定程度上影响了研究结果的准确性。总之,临床工作中对 NOA 患者睾丸中有无精子的评估需要综合考虑各种因素,最大限度地避免不必要的 TESA。

参考文献

- [1] Male Infertility Best Practice Policy Committee of the American Urological Association, Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Report on evaluation of the azoospermic male[J]. Fertil Steril, 2004, 82 Suppl 1: S131-S136.
- [2] 杨竣,刘继红.显微切割睾丸活检在非梗阻性无精子症中的应用[J].中华男科学杂志, 2012, 18(6): 551-555.
- [3] DONOSO P, TOURNAYE H, DEVROEY P. Which is the best sperm retrieval technique for non-obstructive azoospermia? A systematic review[J]. Hum Reprod Update, 2007, 13: 539-549.
- [4] HUANG N, WEN Y, GUO X, et al. A Screen for genomic disorders of infertility identifies MAST2 duplications associated with nonobstructive azoospermia in humans[J]. Biol Reprod, 2015, 93: 61.
- [5] JUNGWIRTH A, GIWERCMAN A, TOURNAYE H, et al. European association of urology guidelines on male infertility: The 2012 update[J]. Eur Urol, 2012, 62(2): 324-332.
- [6] SCHLEGEL P N, PALERMO G D, GOLDSTEIN M, et al. Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for non-obstructive azoospermia[J]. Urology, 1997, 49(3): 435-440.
- [7] 曹朴,张超,王仪春,等.非梗阻性无精子症患者显微切开睾丸取精及 ICSI 结局分析[J].中华男科学杂志, 2018, 24(10): 893-897.
- [8] 熊国根,田二坡,姚文亮,等. MD-TESE 手术对非梗阻性无精子症患者取精结局的应用研究[J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(11): 2409-2411.
- [9] 白双勇,王莉,章晓梅,等.梗阻性无精子症及非梗阻性无精子症患者抗苗勒管激素及性激素水平的研究[J]. 中国生育健康杂志, 2019, 30(1): 64-67.

[10] 周敬华,韩瑞钰,默义,等. 非梗阻性无精子症基因多态性分析研究[J]. 中国男科学杂志,2018,32(6):28-33.

[11] 王俊龙,孙璨,李朋,等. 隐睾后非梗阻性无精子症患者睾丸精子获得率临床分析[J]. 中华泌尿外科杂志,2015,36(2):139-143.

[12] GILANY K,JAFARZADEH N,MANI-VARNOSFADERANI A, et al. Metabolic fingerprinting of seminal plasma from non-obstructive azoospermia patients:Positive versus negative sperm retrieval [J]. J Reprod Infertil, 2018,19(2):109-114.

[13] 胡皓睿,周晓明,廖明,等. 睾丸体积和生殖激素水平对非梗阻性无精子症患者睾丸中无精子的预测价值研究[J]. 中国全科医学,2020,23:678-681.

[14] 黄维加,肖桂初,蒋英,等. 无精子症患者血清和精浆细胞因子水平的检测[J]. 中国热带医学,2006,6(4):583-584.

[15] JING T,WANG P T,ZHENG S G,et al. A novel therapeutic method for azoospermia resulted from distal deferential obslruction[J]. J Sex Med,2018,15(7):321.

[16] 高庆强,朱来晴,石亮,等. 944 例无精子症患者不同病理分型精子检出率与临床精子检出率相关性研究[J]. 国际泌尿系统杂志,2020,40(3):532-534.

[17] 张时君,杜晶,吕仁华,等. 非梗阻性无精子症患者睾丸局部生精功能的超声造影评估[J]. 上海交通大学学报(医学版),2017,37(10):1368-1371.

[18] 王俊龙,孙璨,李朋,等. 隐睾后非梗阻性无精子症患者睾丸精子获得率临床分析[J]. 中华泌尿外科杂志,2015,36(2):139-143.

[19] 赵紫东,薛生娟,王宏,等. 睾丸活组织玻璃压片镜检对无精子症的诊断价值[J]. 中国男科学杂志,2007,21(2):48-49.

[20] 檀大羨,张海英,吕福通,等. 精液生精细胞检查在无精子症鉴别诊断中的价值[J]. 江西医药,2006,41(4):195.

[21] 陈从良,赵永平,徐小明,等. 睾丸及附睾穿刺行 ICSI 治疗梗阻性无精子症的结局[J]. 当代医学,2020,26(9):16-18.

[22] 袁长巍,曹兴午,李翠英. 973 例无精子者睾丸体积、生殖激素与精液细胞学分析[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(7):925-927.

(收稿日期:2022-09-28 修回日期:2023-06-09)

(上接第 2720 页)

[13] LILL M A,DANIELSON M L. Computer-aided drug design platform using PyMOL[J]. J Comput Aided Mol Des,2011,25(1):13-19.

[14] TROTT O,OLSON A J. Autodock vina:Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading[J]. J Comput Chem,2010,31(2):455-461.

[15] SALENTIN S,SCHREIBER S,HAUPT V J, et al. PLIP:Fully automated protein-ligand interaction profiler[J]. Nucleic Acids Res,2015,43(W1):W443-447.

[16] PAN P Y,ZHU Y,SHEN Y, et al. Crosstalk between presynaptic trafficking and autophagy in Parkinson's disease[J]. Neurobiol Dis,2019,122:64-71.

[17] GHAVAMI S,SHOJAEI S,YEGANEH B, et al. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders[J]. Prog Neurobiol,2014,112:24-49.

[18] FAN P,XIE X H,CHEN C H,et al. Molecular regulation mechanisms and interactions between reactive oxygen species and mitophagy [J]. DNA Cell Biol,2019,38(1):10-22.

[19] WANG X. Destructive cellular paths underlying familial and sporadic Parkinson disease converge on mitophagy[J]. Autophagy,2017,13(11):1998-1999.

[20] EVANS C S,HOLZBAUR E L F. Quality control in neurons:Mitophagy and other selective autophagy mechanisms[J]. J Mol Biol,2020,432(1):240-260.

[21] LIU J,LIU W,LI R, et al. Mitophagy in Parkinson's disease:From pathogenesis to treatment[J]. Cells,2019,8(7):712.

[22] 李凤娇,李艳芹. Parkin 蛋白与人类疾病的关系及其天然产物调节作用[J]. 重庆医学,2022,51(10):1788-1793.

(收稿日期:2022-12-02 修回日期:2023-06-22)