

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.23.020

# 生精细胞形态学检查联合血清 FSH 水平检测 在 NOA 患者 M-TESE 中的应用价值

陈伟辉,陈捷,方小武,韦剑洪,蔡昌明

中山市博爱医院生殖医学中心,广东中山 528403

**摘要:**目的 探讨精液生精细胞形态学检查联合血清卵泡刺激素(FSH)水平检测在非梗阻性无精子症(NOA)患者睾丸显微取精术(M-TESE)中的应用价值。方法 以 2019 年 10 月至 2021 年 10 月在该院生殖医学中心接受 M-TESE 的 41 例 NOA 患者为研究对象,采集精液标本进行生精细胞形态学检查和血清 FSH 水平检测。将精液生精细胞形态学检查检出生精细胞的患者作为阳性组,未检出生精细胞的患者作为阴性组;显微镜下找到成熟精子为 M-TESE 成功,未找到成熟精子为 M-TESE 未成功。分析两组患者的血清 FSH 水平和 M-TESE 的成功率。结果 41 例 NOA 患者中,阳性组 18 例,占 43.9%;阴性组 23 例,占 56.1%。M-TESE 成功 15 例,未成功 26 例,总成功率为 36.6%,其中阳性组 M-TESE 成功率为 66.7%(12/18),阴性组 M-TESE 成功率为 13.0%(3/23),两组的 M-TESE 成功率比较,差异有统计学意义( $P<0.001$ )。阳性组血清 FSH 水平为( $27.2\pm14.2$ ) mIU/mL,阴性组为( $39.3\pm15.0$ ) mIU/mL,差异有统计学意义( $P=0.012$ )。结论 NOA 患者精液生精细胞形态学检查联合血清 FSH 水平检测对 M-TESE 成功率有一定的预测作用。

**关键词:**非梗阻性无精子症; 生精细胞; 睾丸显微取精术; 卵泡刺激素

中图法分类号:R698.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)23-3242-04

## Application value of spermatogenic cell morphological examination combined with serum FSH level detection in M-TESE of patients with NOA

CHEN Weihui, CHEN Jie, FANG Xiaowu, WEI Jianhong, CAI Changming

Reproductive Medical Center, Boai Hospital of Zhongshan, Zhongshan, Guangdong 528403, China

**Abstract: Objective** To investigate the application value of seminal spermatogenic cell morphological examination combined with serum follicle-stimulating hormone (FSH) level detection in microdissection testicular sperm extraction (M-TESE) in patients with non-obstructive azoospermia (NOA). **Methods** From October 2019 to October 2021, 41 patients with NOA who received M-TESE in the department of reproductive medical center of this hospital were selected as the research subjects, and seminal spermatogenic cell morphological examination and detection of serum FSH level were performed. The patients with spermatogenic cells in seminal spermatogenic cell morphological examination were taken as the positive group, and the patients without spermatogenic cells were taken as the negative group; the mature sperm was found by microscope to be M-TESE successfully, and mature sperm was not found to be M-TESE unsuccessfully. The serum FSH level and the success rate of M-TESE of the two groups were analyzed. **Results** Among the 41 patients with NOA, 18 patients were in the positive group, accounting for 43.9%; 23 patients in the negative group, accounting for 56.1%. There were 15 successful M-TESE cases and 26 unsuccessful cases, with an overall success rate of 36.6%, of which the success rate of M-TESE in the positive group was 66.7% (12/18), and the success rate of M-TESE in the negative group was 13.0% (3/23). Comparison of the success rate of M-TESE between the two groups, the difference was statistical significance ( $P<0.001$ ). The serum FSH level in positive group was ( $27.2\pm14.2$ ) mIU/mL, and that in negative group was ( $39.3\pm15.0$ ) mIU/mL, the difference was statistical significance ( $P=0.012$ ). **Conclusion** Seminal spermatogenic cell morphological examination combined with serum FSH level detection in patients with NOA has a certain predictive effect on the success rate of M-TESE.

**Key words:** non-obstructive azoospermia; spermatogenic cell; microdissection testicular sperm extraction; follicle-stimulating hormone

无精子症是指连续 3 次精液及射精后的尿液以  $3\,000\times g$  离心 15 min 后,沉渣镜检未发现精子<sup>[1]</sup>。无精子症是男性不育的主要原因,占男性的 1%和不育男性的 10%~15%,其中非梗阻性无精子症 (NOA)是临床上最常见也是最棘手的类型<sup>[2]</sup>。随着现代医学的发展,目前睾丸显微取精术 (M-TESE) 已广泛应用于 NOA 患者配偶的助孕治疗<sup>[3]</sup>。M-TESE 术前预测精子获得成功率的指标较多,包括无创性指标如年龄、睾丸体积、血清卵泡刺激素 (FSH)、遗传学、隐睾症等,以及有创性指标如组织病理学等,但这些指标的具体作用尚不完全清楚,且存在争议<sup>[4]</sup>。本研究旨在通过利用 NOA 患者精液生精细胞形态学检查联合血清 FSH 水平这一无创性指标,对 M-TESE 成功率的预测价值进行分析,以期对拟行 M-TESE 的 NOA 患者进行准确的评估。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2019 年 10 月至 2021 年 10 月在本院生殖医学中心接受 M-TESE 的 41 例 NOA 患者为研究对象。

1.2 方法

1.2.1 精液标本采集 按照世界卫生组织第五版《人类精液检查与处理实验室手册》的精液采样标准,患者通过手淫方式采集精液于专用的采集杯中,一次射精精液体积测量精确至 0.1 mL,新鲜标本液化后立即取标本以  $3\,000\text{ r/min}$  离心 15 min,沉渣涂片作精液生精细胞形态学检查。

1.2.2 精液生精细胞形态学检查 采用改良巴氏染色法,参照曹兴午等<sup>[5]</sup>的方法,检测精液中有无生精细胞,并根据生精细胞的形态和染色特征进行分类。

1.2.3 外周血血清 FSH 水平测定 采用化学发光法测定血清 FSH 水平,按试剂说明书操作,设备和试剂均购自德国 Roche Diagnostics GmbH 公司。本院血清 FSH 参考值范围:1.27~19.30 mIU/mL。

1.2.4 M-TESE 常规消毒皮肤并全身麻醉后,取阴囊正中纵向切口,依次切开皮肤、肉膜及鞘膜,暴露并挤出睾丸、附睾。在手术显微镜下,用尖刀片沿睾丸中部横行切开白膜,用显微镊子逐层小心拨开睾丸实质,选取相对粗壮、饱满的生精小管后置入培养皿,实验室技术人员使用 1 mL 注射器针头划破、撕碎和分离睾丸组织,在倒置显微镜下寻找成熟精子。

1.2.5 观察指标 观察并记录患者精液生精细胞形态学检查结果、血清 FSH 水平及 M-TESE 结果。检出生精细胞的患者作为阳性组,未检出生精细胞的患者作为阴性组;显微镜下找到成熟精子为 M-TESE 成功,未找到成熟精子为 M-TESE 未成功。

1.3 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件对数据进行统计分析。计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验;计数资料以例数、率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NOA 患者精液生精细胞形态学检查结果 41 例 NOA 患者中,阳性组 18 例,占 43.9%,其中 11 例检出一种生精细胞(精原细胞 2 例,精母细胞 9 例),7 例检出多种生精细胞;阴性组 23 例,占 56.1%。阳性组年龄 26~51 岁,平均  $(34.1\pm6.7)$  岁,阴性组年龄 25~43 岁,平均  $(31.1\pm4.0)$  岁,两组年龄差异无统计学意义( $t=1.783, P=0.082$ )。

2.2 阳性组与阴性组血清 FSH 水平比较 阳性组血清 FSH 水平为  $(27.2\pm14.2)$  mIU/mL,阴性组血清 FSH 水平为  $(39.3\pm15.0)$  mIU/mL,两组血清 FSH 水平比较,差异有统计学意义( $t=2.623, P=0.012$ )。

2.3 NOA 患者 M-TESE 结果 41 例患者中,M-TESE 成功 15 例,未成功 26 例,总成功率为 36.6%。阳性组 18 例患者中 M-TESE 成功 12 例,成功率为 66.7%;阴性组 26 例患者中 M-TESE 成功 3 例,成功率为 13.0%。两组 M-TESE 成功率比较,差异有统计学意义( $\chi^2=12.515, P<0.001$ )。见表 1。

表 1 不同类型生精细胞患者的 M-TESE 结果

| 组别     | <i>n</i> | M-TESE<br>成功( <i>n</i> ) | M-TESE<br>未成功( <i>n</i> ) | M-TESE<br>成功率(%) |
|--------|----------|--------------------------|---------------------------|------------------|
| 阳性组    | 18       | 12                       | 6                         | 66.7             |
| 精原细胞   | 2        | 1                        | 1                         | 50.0             |
| 精母细胞   | 9        | 4                        | 5                         | 44.4             |
| 精子细胞   | 0        | 0                        | 0                         | 0                |
| 多种生精细胞 | 7        | 7                        | 0                         | 100.0            |
| 阴性组    | 23       | 3                        | 20                        | 13.0             |

2.4 不同 M-TESE 结果患者血清 FSH 水平比较 15 例 M-TESE 成功 NOA 患者血清 FSH 水平为  $(18.1\pm7.6)$  mIU/mL,26 例 M-TESE 未成功 NOA 患者血清 FSH 水平为  $(42.9\pm11.7)$  mIU/mL,不同 M-TESE 结果患者血清 FSH 水平比较,差异有统计学意义( $t=7.344, P<0.001$ )。

2.5 不同类型生精细胞患者的 FSH 水平及 M-TESE 结果 5 例精液中只检出一种生精细胞的患者,其血清 FSH 水平处于参考值上限 1 倍以内,M-TESE 获得成熟精子;6 例精液中只检出一种生精细胞的患者,其血清 FSH 水平高于参考值上限 2 倍以上,M-TESE 未获得成熟精子;7 例精液中检出多种生

精细胞的患者,其血清 FSH 水平处于参考值上限 1 倍以内,均获得成熟精子。阴性组中 3 例患者血清 FSH 水平处于参考值范围,M-TESE 获得成熟精子;其余 20 例血清 FSH 水平高于参考值上限 1 倍以上,M-TESE 未获得成熟精子。

### 3 讨论

精子是由精原细胞经过多次分裂及复杂形态变化而成,睾丸是生精细胞发生、增殖、分化和成熟的场所,精液内生精细胞来源于睾丸曲细精管内不同的阶段,包括精原细胞、精母细胞(初级和次级精母细胞)、精子细胞。睾丸生精功能主要受下丘脑-垂体-睾丸性腺轴调控,下丘脑分泌促性腺激素释放激素作用于脑垂体可促进 FSH 分泌。FSH 是一种垂体糖蛋白,其作用主要是促进精母细胞发育成精子细胞和成熟精子<sup>[6]</sup>。正常情况下,仅有少量生精细胞脱落于曲细精管管腔,随成熟精子进入精液。当睾丸受到物理、化学、生物等不同有害因素的影响和损伤时,睾丸生精小管出现不同程度的病理变化,生精细胞因为发育受阻而停留在精子发生的某一发育阶段,在精液中表现为精子数量、质量的异常和生精细胞的异常脱落,生精细胞脱落的多少和形态反映了睾丸生殖功能损伤程度,是睾丸病理性损伤的一项重要指标<sup>[5]</sup>。精液中没有精子称为无精子症,包括梗阻性无精子症(OA)和 NOA。NOA 患者精液中无成熟的精子,但含有不同类型、不同比例的未成熟生精细胞或支持细胞。

NOA 患者虽然存在睾丸生精功能障碍,但睾丸中可能存在局灶性生精小岛,M-TESE 作为目前最常用的 NOA 患者精子获取手段之一,其优点在于在显微镜下可直接观察曲细精管管径的大小及透明度,有助于提高其精子获得成功率<sup>[7]</sup>。虽然 M-TESE 比传统睾丸取精术(TESE)的精子获得成功率更高,但也仅为 50%左右,而且 M-TESE 需要切开睾丸,创伤大,易导致瘢痕粘连等<sup>[8]</sup>。因此,在术前对 NOA 患者精子获得成功率进行有效评估具有重要的临床意义。

NOA 患者存在睾丸发育不良、生精细胞发育不良和纤维组织化等病理改变,生精小管上皮受损和支持细胞被破坏,血清 FSH 升高可与支持细胞-生精小管嵌合体(血-睾屏障的组成部分)受损程度呈正比,从而导致 NOA。WANG 等<sup>[9]</sup>研究发现,唯支持细胞综合征患者血清 FSH 水平明显高于低精子发生、成熟阻滞患者血清 FSH 水平;袁长巍等<sup>[10]</sup>研究结果也显示,精液生精细胞缺乏型 NOA 患者血清 FSH 水平高于生精细胞存在型 NOA 患者。本研究结果显示,阳性组血清 FSH 水平低于阴性组血清 FSH 水平( $P=0.012$ ),结果与前述研究结果一致,提示阴性组患者的睾丸受损程度比阳性组患者大,M-TESE 成功率也

较低。有文献报道,血清 FSH 水平可以反映生精小管内各级生精细胞的分化和发育水平,是控制睾丸生精功能的重要内分泌因子<sup>[11]</sup>。虽然有学者认为高 FSH 不能预测 NOA 的精子获取率<sup>[12]</sup>,但多中心研究证实 FSH 是预测睾丸生精功能的重要指标<sup>[9-11]</sup>。本研究中 M-TESE 未成功患者血清 FSH 水平明显高于 M-TESE 成功患者( $P<0.001$ ),也提示血清 FSH 水平对 M-TESE 有一定的预测作用。

国外有研究显示,NOA 患者 M-TESE 成功率为 40%~65%<sup>[13]</sup>,而国内为 36.0%~44.4%<sup>[3,14]</sup>,本研究 M-TESE 总成功率为 36.6%,与国内研究结果一致,但低于国外的 M-TESE 成功率,原因可能为本研究的多数患者是经门诊睾丸取精术后镜检未见精子,然后才尝试行 M-TESE。睾丸病理学作为预测睾丸成功取精的最佳指标,与精子获得成功率显著相关。AMER 等<sup>[15]</sup>研究了 1 395 例 NOA 患者睾丸病理检查结果,结果显示,生精功能低下患者占 100.0%,精原细胞停滞患者占 60.8%,初、次级精母细胞停滞患者分别占 25.5%和 27.9%,唯支持细胞综合征患者占 29.6%;RAHEEM 等<sup>[16]</sup>和 GHALAYINI 等<sup>[17]</sup>研究结果均显示,生精功能低下患者的精子获得成功率为 81.0%~100.0%,生精成熟障碍患者精子获得成功率为 36.4%~75.0%,唯支持细胞综合征患者精子获得成功率为 22.5%~41.0%。本研究 41 例 NOA 患者中,生精功能低下者 M-TESE 成功率为 100.0%,精原细胞停滞者 M-TESE 成功率为 50.0%,精母细胞停滞者 M-TESE 成功率为 44.4%,未检出生精细胞者 M-TESE 成功率为 13.0%,与前述报道基本一致。本研究结果中阴性组成功率较低,阳性组成功率高,可能原因:阴性组睾丸受损程度比较严重,睾丸曲细精管严重玻璃样变,直径变小,支持细胞、间质细胞减少,生精细胞部分或完全萎缩,生精细胞明显减少,甚至无生精细胞;而阳性组睾丸受损程度较轻,多表现为部分生精细胞减少、成熟阻滞、局灶性生精障碍和混合型。本研究结果提示,精液中未检出生精细胞且血清 FSH 水平高于参考值上限 1 倍以上,说明睾丸的生精功能已严重损伤,不必行 M-TESE;当精液中未检出生精细胞,但血清 FSH 水平处于参考值范围,可尝试行 M-TESE;当精液中检出生精细胞类型越多、成熟阻滞停留在越晚期阶段的患者,M-TESE 成功率越高。

综上所述,生精细胞形态学检查联合血清 FSH 水平检测作为一种无创检测手段,可在一定程度上预测 M-TESE 结果,能够为临床工作者对拟行 M-TESE 的 NOA 患者进行有效评估,避免无效手术,降低手术风险,提高 M-TESE 成功率,减少患者的痛苦和经济负担。因此,生精细胞形态学检查和血清 FSH 水平

检测应该在 M-TESE 之前常规进行,这对提高对 NOA 患者的整体诊疗水平具有重要意义。

# 参考文献

- [1] VIJ S C, SABANEH E J, AGARWAL A. Biological therapy for non-obstructive azoospermia[J]. Expert Opin Biol Ther, 2018, 18(1): 19-23.
- [2] KLAMI R, MANKONEN H, PERHEENTUPA A. Successful microdissection testicular sperm extraction for men with non-obstructive azoospermia[J]. Reprod Biol, 2018, 18(2): 137-142.
- [3] 赵连明,姜辉,洪锴,等.显微取精时代下睾丸内情况分析[J]. 北京大学学报(医学版), 2019, 51(4): 632-635.
- [4] 王大川,王璟琦. 睾丸显微取精手术获精率预测的研究进展[J]. 中国男科学杂志, 2018, 32(5): 64-67.
- [5] 曹兴午,曹育爱,邱高辉,等.精子凋亡形态分析与分子机制探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(3): 1-6.
- [6] 李江源. 精子发生的内分泌激素调节[J]. 生殖医学杂志, 2014, 23(9): 697-702.
- [7] ISHIKAWA T. Surgical recovery of sperm in non-obstructive azoospermia[J]. Asian J Androl, 2012, 14(1): 109-115.
- [8] SHAH R, GUPTA C. Advances in sperm retrieval techniques in azoospermic men: a systematic review[J]. Arab J Urol, 2018, 16(1): 125-131.
- [9] WANG L, HUANG H, JIN F, et al. High expression of follicle stimulating hormone receptor in testicular tissue of idiopathic azoospermic patients with severe spermatogenic defects[J]. Chin Med J (Engl), 2014, 127(3): 488-493.
- [10] 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.

- [11] YANG Q, HUANG Y P, WANG H X, et al. Follicle-stimulating hormone as a predictor for sperm retrieval rate in patients with nonobstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis[J]. Asian J Androl, 2015, 17(2): 281-284.
- [12] AMER M K, AHMED A R, ABDEL HAMID A A, et al. Can spermatozoa be retrieved in non-obstructive azoospermic patients with high FSH level? A retrospective cohort study[J]. Andrologia, 2019, 51(2): e13176.
- [13] MEHMOOD S, ALDAWEESH S, JUNEJO N N, et al. Microdissection testicular sperm extraction: overall results and impact of preoperative testosterone level on sperm retrieval rate in patients with nonobstructive azoospermia[J]. Urol Ann, 2019, 11(3): 287-293.
- [14] 杨竣,任新玲,谷龙杰,等.不同病因非梗阻性无精子症患者显微切开睾丸取精及 ICSI 结局比较[J]. 中华男科学杂志, 2018, 24(10): 887-892.
- [15] AMER M K, AHMED A R, HAMID A A A. Factors determining the sperm retrieval rate in fresh versus salvage miro-TESE: a comparative cohort study[J]. Int Urol Nephrol, 2019, 51(3): 401-408.
- [16] RAHEEM A A, GARAFFA G, RUSHWAN N, et al. Testicular histopathology as a predictor of a positive sperm retrieval in men with non-obstructive azoospermia[J]. BJU Int, 2013, 111(3): 492-499.
- [17] GHALAYINI I F, AL-GHAZO M, HANI O B, et al. Clinical comparison of conventional testicular sperm extraction and microdissection techniques for non-obstructive azoospermia[J]. J Clin Med Res, 2011, 3(3): 124-131.

(收稿日期:2022-02-28 修回日期:2022-09-17)

(上接第 3241 页)

- [9] 黄小龙. 不同剂量人免疫球蛋白联合糖皮质激素治疗免疫性血小板减少症对患儿外周血 Th17 细胞水平的影响[J]. 哈尔滨医药, 2021, 41(1): 3-5.
- [10] 杨硕,王勇,陈淑霞,等. 原发免疫性血小板减少症发生血栓的影响因素研究[J]. 中国全科医学, 2022, 25(5): 603-607.
- [11] 周燕,钟周琳,卢芳,等. ITP 患者血小板抗体特征分析暨 1 例含血小板自身和同种抗体的 ITP 患者输血疗效观察[J]. 重庆医学, 2020, 49(1): 29-32.
- [12] 宋钰,都丽萍,屈静晗,等. 静脉注射用免疫球蛋白药学特点和临床应用探索[J]. 中国药学杂志, 2021, 56(5): 417-421.
- [13] 薛峰,刘敏,赵辉,等. 慢性特发性血小板减少性紫癜患者

在氟美松或静脉注射人免疫球蛋白治疗后体内细胞因子谱的变化[J]. 国际输血及血液学杂志, 2007, 30(6): 487-490.

- [14] 江南静,雷勋明,陈艾. T 淋巴细胞联合血浆细胞因子诊断儿童 ITP 的研究[J]. 重庆医学, 2022, 51(3): 398-401.
- [15] 许军秀,肖玉龙,张根豪. 抗血小板抗体对 ITP 患儿免疫球蛋白治疗疗效及 Treg/Th17 比例的影响[J]. 中国输血杂志, 2021, 34(9): 1003-1005.
- [16] 冯建军,杨林花,陈剑芳,等. ITP 血小板特异性抗体和 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞变化的意义探讨[J]. 临床血液学杂志, 2009, 22(1): 27-29.

(收稿日期:2022-04-13 修回日期:2022-09-15)