

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

白双勇 王莉 章晓梅 孙云 黄琴莉 曹良杰 彭小薇 李丽娟

【摘要】 目的 研究梗阻性无精子症(OA)及非梗阻性无精子症(NOA)患者中抗苗勒管激素、性激素与获取精子的关系,评估其诊疗价值。 **方法** 对所有患者采取下列检查:3次精液检查、睾丸体积测量及前列腺检查、阴囊超声、电化学发光法检测血清中性激素、抗苗勒管激素(AMH)、染色体核型检测、Y染色体 AZF 基因检测,并行经皮附睾穿刺术或者经皮睾丸穿刺术,诊断患者为 OA 或者 NOA。比较 OA 组与 NOA 组的上述各项检查结果之间是否存在差异。 **结果** OA 患者 42 例,NOA 患者 89 例。NOA 患者睾丸体积小于 OA 患者,差异有统计学意义($P < 0.05$),NOA 患者血清中促卵泡生成素(FSH)、黄体生成素(LH)、精液量、PH 均高于 OA 患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 NOA 患者中 AMH 低于正常组与 AMH 正常及偏高组比较中,睾丸体积小于后者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。FSH、LH 高于后者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。AMH 低于正常组与 AMH 高于正常 2 倍组比较中,睾丸体积小于后者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。FSH、LH 高于后者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。AMH 正常及偏高组与 AMH 高于正常 2 倍组比较中,睾丸体积小于后者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。FSH、LH 高于后者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。NOA 组中睾丸体积与 FSH 呈明显负相关($P < 0.01$),与 LH 呈明显负相关($P < 0.01$),与 AMH 呈正相关($P < 0.01$),与睾酮(T)呈正相关($P < 0.05$)。 **结论** 检测精液量、睾丸体积、超声诊断附睾淤积,结合性激素、AMH 等综合评估,可以较好预测男性不育症患者为 OA 还是 NOA,以及附睾或者睾丸获取精子的可能性。

【关键词】 抗苗勒管激素; 性激素; 睾丸; 精子

全世界范围内大约有 10% ~ 15% 的夫妇患有不育症^[1],其中主要或部分由男性原因所致不育者占 20% ~ 70%^[2],无精子症在成年男性的发生率约为 1%,而在男性不育患者中发生率为 10%。无精子症可分为梗阻性无精子症(obstructive azoospermia, OA)和非梗阻性无精子症(non-obstructive azoospermia, NOA),其中 NOA 约占 60%^[3]。随着辅助生育技术的发展,特别是卵泡浆内单精子注射技术的出现,NOA 患者以及少数 OA 患者在获取少量精子后可以生育自己的子代。本文研究的目的是在进行探查附睾及睾丸内有无精子之前,通过评估患者抗苗勒管激素(Anti Müllerian Hormone, AMH)及性激素的水平,初步判定患者获取精子的可能性,从而为患者选择适宜的治疗方案提供理论参考。

对象与方法

1. 对象:2015 年 12 月—2017 年 8 月在昆明市第一人民医院生殖中心因不育症就诊,经过 3 次精液检查,离心后未见精子的男性患者。排除隐睾、睾

丸肿瘤、严重精索静脉曲张、生殖系统感染等疾病,共有 136 例无精子症患者。所有无精子症患者经染色体、Y 染色体 AZF 检查后发现染色体核型为 47, XXY 2 例;AZFa + b + c 缺失 1 例;低促性激素减退症 2 例,排除上述 5 例染色体异常者,最终 131 例患者纳入研究。经皮附睾穿刺(percutaneous epididymal sperm aspiration, PESA)检查发现精子者 42 例,为 OA 患者。89 例患者未见精子,改为经皮睾丸穿刺术(testicular sperm extraction, TESE),发现少量精子或者未见精子者则为 NOA 患者。

2. 方法:

(1)精液分析:所有参与课题男性不育症患者禁欲 2 ~ 7 d 后,通过手淫办法获取精液,严格按照世界卫生组织 2010 年第五版人类精液检验与处理实验室手册要求,由昆明市第一医院生殖遗传中心男科实验室工作人员按操作规程进行精液常规分析。每一份精液由两个实验人员独立完成检测。每一位患者均经 3 次精液检查,严格测量精液量,采用 PH 试纸检测精液 PH 值,常规涂片后未见精子,离心后未见精子者,可以确诊为无精子患者。

(2)睾丸体积测量及前列腺检查:常温下,患者

取直立位,通过采用伟力睾丸体积测量器比对患者睾丸大小。通过体检观察并记录其大小、形状,质地,是否对称;双侧附睾是否饱满,触诊检查患者有无输精管,有无附睾尾部结节、增粗、变硬;注意前列腺大小、硬度,有无压痛,结节或肿物,中央沟是否存在,活动度如何,有无固定感;精囊是否触及。

(3)促卵泡生成素(follicle-stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、睾酮(testosterone, T)、雌二醇(estrogen, E2)、催乳素(prolactin, PRL)以及 AMH 的检测:患者于上午 9~11 时抽取外周静脉血,采用电化学发光法,按试剂说明书操作进行检测。设备和试剂均购自 Roche Diagnostics GmbH 公司(德国),其中 FSH 参考值为(1.5~12.4)units/L;LH 参考值为(1.7~8.6)units/L;E2 参考值为(7.63~42.64)pg/ml;T 参考值为(2.49~8.36)ng/ml;T 参考值为(4.04~15.2)ng/ml;AMH 参考值范围为(1.43~11.6)ng/ml。本研究根据 AMH 值不同将 NOA 患者分为 3 组:AMH 低于正常组(<1.43 ng/ml),AMH 正常及偏高组(1.43~23.9 ng/ml),AMH 高于正常 2 倍组(>24.0 ng/ml)。

(4)B 超检查:睾丸检查应注意其大小、形状,回声是否均匀,是否对称。双侧附睾有无附睾淤积症征象,注意前列腺大小、回声。射精管有无囊肿,精囊发育是否正常。

(5)精浆果糖定性检查:果糖与间苯二酚、强酸一起加温,会产生红色反应。取果糖试剂 1ml 于试管内,然后加入精液 0.2ml(约 2 滴),煮沸后 1min 内观察结果。无色为阴性,表示不含果糖;红色为阳性,表示含果糖,淡红色为弱阳性。临床意义为在先天性精囊腺缺如,果糖为阴性。精囊腺炎时,果糖含

量减低。在无精症和射精量少于 1ml 者,若精浆中无果糖为精囊阻塞;有果糖,则为射精管阻塞。

3. 统计学处理:应用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,单因素 ANOVA 检验,各因素间的相关性分析采用双变量 Person 相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 研究对象一般资料:OA 及 NOA 无精子症患者 131 例,患者年龄 21~52 岁,平均(33.7±6.4)岁。OA 患者 42 例,占 32.1%(42/131),NOA 患者 89 例,占 67.9%(89/131)。

2. 各项检查结果:42 例 OA 患者中精浆果糖定性检查中阴性者 34 例,弱阳性 8 例,弱阳性率为 19.0%。体检时双侧睾丸大小正常均>12 ml,双侧附睾饱满,未触及输精管者 30 例,输精管纤细者 6 例,双侧附睾尾部呈结节样增生硬化者 3 例,输精管呈串珠样增粗者 3 例。B 超结果显示双侧附睾淤积者 40 例,2 例未见异常。

89 例 NOA 患者精浆果糖定性检查均为阳性,体检时睾丸体积<8ml 者 11 例,8~12ml 者 13 例,>12ml 者 65 例。行 PESA 后未见精子,进而改为行 TESE,病检后报告:15 例生精功能轻微改变,后期精子细胞较多,曲细精管内可见较多精子;46 例曲细精管中见少量精子;14 例曲细精管中未见精子,精母细胞较多;8 例曲细精管中未见精子,精母细胞较少;2 例仅见精原细胞。其余 4 例患者病检结果为唯支持细胞综合征,其 AMH 值>24 ng/ml。

表 1 中,NOA 患者睾丸体积小于 OA 患者,血清中 FSH、LH 水平高于 OA 患者,精液 PH 及精液量高于 OA 患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 OA 与 NOA 的精液指标、性激素、AMH 比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 年龄 (岁) | 精液量 (ml) | 睾丸体积 (ml) | FSH (units/ml) | LH (units/ml) | T (ng/ml) | E2 (pg/ml) | AMH (ng/ml) | PRL (ng/ml) | PH |
|-----------------|-----------|-------------|--------------|-------------------|------------------|--------------|---------------|----------------|----------------|----------|
| OA 组($n=42$) | 33.4±6.2 | 0.8±0.3 | 15.2±2.4 | 5.6±4.0 | 4.6±4.0 | 4.4±1.8 | 25.5±9.9 | 10.0±4.7 | 12.8±3.2 | 6.6±0.2 |
| NOA 组($n=89$) | 33.8±6.5 | 2.5±1.0* | 12.4±4.5* | 12.0±10.9* | 8.1±6.1* | 4.2±2.3 | 25.1±13.3 | 10.3±8.4 | 13.1±8.2 | 7.3±0.2* |

注:与 OA 组比较,* $P < 0.05$

表 2 中,AMH 低于正常组的睾丸体积小于 AMH 正常及偏高组,FSH、LH 高于 AMH 正常及偏高组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。AMH 低于正常组的睾丸体积亦小于 AMH 高于正常 2 倍组,FSH、LH 高于 AMH 高于正常 2 倍组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。AMH 正常及偏高组与 AMH 高

于正常 2 倍组比较,AMH 正常及偏高组的睾丸体积小于 AMH 高于正常 2 倍组,FSH、LH 高于 AMH 高于正常 2 倍组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 中,NOA 组中睾丸体积与 FSH、LH 均呈负相关($P < 0.01$);与 AMH、T 均呈正相关($P < 0.05$)。

表 2 NOA 患者不同 AMH 水平分组之间比较($\bar{x} \pm s$)

| | 年龄 (岁) | 精液量 | 睾丸体积 (ml) | FSH (units/ml) | FSH (units/ml) | FSH (units/ml) | FSH (units/ml) | FSH (units/ml) | FSH (units/ml) |
|-------------------------|-----------|----------|------------------------|-----------------------|----------------------|-------------------|-------------------|------------------------|-------------------|
| AMH 低于正常组($n=19$) | 34.3±8.0 | 2.3±0.6 | 6.6±3.1 | 28.2±9.3 | 16.5±6.5 | 3.8±2.3 | 26.7±15.7 | 1.35±0.1 | 14.4±10.1 |
| AMH 正常及偏高组($n=58$) | 33.0±6.1 | 2.6±1.2 | 13.5±3.4 ^a | 8.4±6.5 ^a | 6.1±3.3 ^a | 4.1±2.1 | 24.5±12.7 | 10.3±6.4 ^a | 13.0±7.9 |
| AMH 高于正常 2 倍组($n=12$) | 37.1±5.3 | 2.62±0.6 | 16.5±2.0 ^{bc} | 3.9±2.3 ^{bc} | 4.1±2.8 ^b | 5.1±2.8 | 25.5±12.9 | 24.3±0.5 ^{bc} | 11.3±6.2 |

注:AMH 正常及偏高组与 AMH 低于正常组比较,^a $P<0.05$;AMH 高于正常 2 倍组与 AMH 低于正常组比较,^b $P<0.05$;AMH 高于正常 2 倍组与 AMH 正常及偏高组比较,^c $P<0.05$

表 3 NOA 患者中精液量、睾丸体积与性激素相关性分析

| | Person 相关性 | | | | | |
|------|------------|--------|--------|------|------|------|
| | AMH | FSH | LH | T | E2 | 睾丸体积 |
| 精液量 | -0.1 | -0.1 | -0.0 | -0.0 | -0.1 | -0.0 |
| 睾丸体积 | 0.6** | -0.8** | -0.7** | 0.2* | 0.1 | 1 |

注: * $P<0.05$; ** $P<0.01$

讨论

无精子症主要分为两类,一类是 OA:由于精子的输送管道梗阻,而导致射出的精液中无精子存在,另一类是 NOA:睾丸中生精能力低下,而致精液中未见精子。两者的发生率目前报道也各不相同,有报道 NOA:OA 的发生率为 60%:40%^[4],有的报道与之相反^[5],本次研究结果与前者相似为 67.9%:32.1%。OA 患者无精子症的常见原因主要是先天性输精管缺如、输精管狭窄,后天性常见原因为曾经行输精管绝育术、附睾炎症、结核、前列腺炎或精囊炎症导致射精管梗阻所致。睾丸生成的精子贮存于附睾内,射出的精液中未见精子。

精子发生受神经内分泌的调节,睾丸内支持细胞、间质细胞与生精细胞之间的相互作用对于精子的发生也具有局部调节作用。下丘脑合成和分泌的促性腺激素释放激素作用于垂体前叶的靶细胞促使其合成 FSH、LH。LH 与 Leydig 细胞上 LH 受体结合,促使其合成睾酮。睾酮与曲细精管中支持细胞内的雄激素结合蛋白结合,促使精子发生。FSH 诱导人类精子发生的初始启动,并与睾酮一起维持男性精子的发生,FSH 对于维持精子发生在质量和数量上是必需的^[6]。Amr^[7]研究认为先天遗传因素和后天获得性睾丸疾病可使精曲小管上皮受损,支持细胞上的 FSH、LH、PRL 受体被破坏,进而造成血浆中 FSH、LH、PRL 不能与相应受体结合而游离于血浆中,致使激素水平升高,本研究结果与之相符。

精子发生的过程是在支持细胞的微环境中进行的,发生中的各级生精细胞嵌入在支持细胞的深处并与支持细胞形成独特的半连接接触。在其生精细胞已经进入减数分裂阶段时刺激位于生精小管中的支持细胞合成 AMH,而未成熟生精细胞则不会激发

支持细胞生成 AMH。AMH 由支持细胞分泌:进入生精小管以及间质、循环系统。AMH 促进精子早期成熟。在本次研究中发现 NOA 患者中 AMH 低于正常组与 AMH 正常及偏高组比较中,睾丸体积小于后者,FSH、LH 高于后者,差异有统计学意义。睾丸大小主要由不同发育阶段的生精细胞、间质细胞及支持细胞构成,其中支持细胞体积明显大于各级生精细胞,并且为不同发育阶段的生精细胞提供营养支持,当支持细胞及生精细胞数目减少则睾丸体积小于正常大小,同时 AMH 合成数量也低于正常。而当睾丸中生精细胞缺乏、间质细胞减少时,由于 FSH、LH 持续增加,促进支持细胞代偿性数目增加,则睾丸体积可以保持正常大小。另外 4 例无精子症患者病检报告为唯支持细胞综合征,其睾丸大小均 >15 ml。患者血清中 AMH 明显高于参考范围高限的 2~3 倍,也提示在睾丸穿刺活检术前,当 AMH 升高明显,患者为唯支持细胞综合征的可能性较大。另外,在 AMH 明显低于正常者中,睾丸内发现精子的机会也较低。

唐文豪等^[8]报道,NOA 患者睾丸活检获得精子的可能性与睾丸体积呈正相关,与 FSH 呈负相关。Madani 等^[9]认为 FSH 和睾丸大小联合检测能代替睾丸活检预测无精症患者有无精子生成。刘永杰等^[10]选择了睾丸体积正常的无精子症患者,分析发现,FSH 与外周血 E2 呈负相关关系,与外周血 T/E2、睾丸组织 T 和 E2 呈正相关关系;LH 与外周血 T 和 T/E2、睾丸组织 T 和 E2 呈正相关关系。在本次研究中发现,NOA 患者组中睾丸体积与 FSH、LH 呈明显负相关;与 AMH、T 呈明显正相关。OA 患者体检时,睾丸大小在正常范围内,双侧附睾明显饱满者,B 超检查则多数为双侧附睾淤积症。患者

行 PESA 常常可找到活动精子,且数量尚可,可以行精子冻存。

综合本次研究,患者就诊时,经 3 次精液检查未见精子时,临床医生应该关注询问患者病史,细致认真的体格检查,尤其关注附睾是否饱满,相应的 B 超检查有无附睾淤积征象。在性激素及 AMH 等检查中,如果发现患者精液量明显少,精浆果糖定性试验阴性,PH 低于 7.0,睾丸体积大小正常,质地正常,附睾饱满,FSH 及 T、AMH 均在正常范围内,可以考虑行 PESA。若穿刺液中有较多精子,患者可诊断为 OA。反之患者睾丸体积偏小,多数 < 8 ml,或者质地偏软。FSH、LH 升高,AMH 均低于正常,则患者需行 TESE,其睾丸发现精子机会较低。其中需要强调的是当患者睾丸大小正常,FSH 正常,而 AMH 异常增高的患者,为唯支持细胞综合征的可能性较大。总之,通过对患者体检及性激素、AMH 检查可以初步判定患者获取精子的可能性。本次研究数量较少,还需要更多的样本和更深入的研究探讨其中机制。

参 考 文 献

- 1 Szkodziak P, Wozniak S, Czuczwar P, et al. Infertility in the light of new scientific reports-focus on male factor. *Ann Agric Environ Med*,

- 2016,23;227-230.
- 2 Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, et al. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol*,2015,13;37.
- 3 Donoso P, Tournaye H, Devroey P. Which is the best sperm retrieval technique for non-obstructive azoospermia; a systematic view. *Hum Reprod Update*,2007,13;539-549.
- 4 Wosnitzer MS, Goldstein M. Obstructive azoospermia. *Urol Clin North Am*,2014,41;83-95.
- 5 Coat C, Perrin A, Talagas M, et al. Azoospermia; management and results; a series of 90 cases. *Prog Urol*,2011,21;946-954.
- 6 熊承良, 商学军, 刘继红, 主编. 人类精子学. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社,2013;21-24.
- 7 Amr AR, David R. Male infertility; causes and investigations. *Trends in Urol Men's Health*,2011,2;8-11.
- 8 唐文豪, 姜辉, 马璐林, 等. 非梗阻性无精子症患者睾丸体积、生殖激素水平与睾丸穿刺取精结果的相关性研究. *中华男科学杂志*,2012,18;48-51.
- 9 Madani AH, Falahatkar S, Heidarzadeh A, et al. Sensitivity and specificity of serum FSH and testis size in predicting the existence of spermatogenesis in azoospermic infertile men. *Andrologia*. 2011,25;1439-1442.
- 10 刘永杰, 常青, 白刚, 等. 无精子症患者 FSH、LH 与外周血和睾丸组织 T、E2、T/E2 相关性的研究. *中国男科学杂志*,2014,28;23-26.

(收稿日期:2017-12-17)

(上接第 43 页)

综上所述,对于 TORCH 感染应该以预防为主,加强宣教,提高认识,保护环境,做好个人卫生,养成良好习惯,做好孕前或孕期积极筛查,发现感染后积极治疗,尤其是有饲养或接触宠物史者应于计划妊娠前 35 个月进行 TORCH 的特异性抗体检查,IgG 阴性者及时接种疫苗以获得免疫力,IgM 阳性者推迟妊娠计划以避免急性感染期,有条件者妊娠 1~3 个月间再次进行相应 TORCH 特异性抗体检查,尽可能避免胎儿被感染,改善妊娠和新生儿结局。本研究只选取了青岛和济南两市的患者资料,且未对年龄及季节等影响因素详细分组,下一步将扩大样本量进一步完善。

参 考 文 献

- 1 BLUMENFELD OO, PATNAIK SK. Allelic genes of blood group antigens: a source of human mutations and cSNPs documented in the Blood Group Antigen Gene Mutation Database. *Hum Mutat*,2004,23;8-16.
- 2 邵婧, 刘义庆, 陈兰兰, 等. 山东地区儿童 TORCH 感染情况的调

- 查及分析. *检验医学与临床*,2017,14;1908-1910.
- 3 许鹿舫, 刘君芬, 董金凤. TORCH 感染对育龄妇女不孕不育的影响. *Inter J Epidemiol Infect Dis*,2014,41;325-327.
- 4 SHAPIRO BS, DANESHMAND ST, GARNER FC, et al. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization; a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril*,2011,96;344-348.
- 5 张文, 卜静雅, 王爽, 等. 大连地区孕前期及孕早期妇女 TORCH 检测结果分析. *中国微生态学杂志*,2017,29;211-213.
- 6 郑林儿, 范骏. 自然流产与 TORCH 感染相关性分析. *检验医学*,2005,20;115-116.
- 7 满姗姗, 刘义庆, 郑大伟, 等. 山东地区不孕不育人群 TORCH 感染情况分析. *中国优生与遗传杂志*,2017,25;118-121.
- 8 胡小佳, 王前, 周芳, 等. 广州地区 3413 例妇女 TORCH 感染情况的调查分析. *检验医学与临床*,2011,8;1027-1029.
- 9 严仁英. 实用优生学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社,1998;334-341.

(收稿日期:2018-02-10)