

无精子症患者精液常规、精浆生化与生精细胞检测及其临床价值

陈伟辉, 吴日然, 方小武, 吴嘉齐, 陈捷, 韦剑洪, 许小琴

[摘要] **目的:**探讨无精子症患者精液常规、精浆生化与生精细胞检测在无精子症鉴别诊断中的价值。**方法:**通过改良巴氏染色法分析 70 例无精子症患者精液中的生精细胞,根据精液中生精细胞的有无将患者分为 A 组(有生精细胞,32 例)和 B 组(无生精细胞,38 例),另选取 30 名健康成年男性作为对照组。测定 3 组患者的精液量、精液 pH 值、精浆生化(精浆果糖含量、中性 α -糖苷酶活性),并对 A、B 组进行睾丸穿刺活检。**结果:**A 组精液量、pH 值和精浆中性 α -糖苷酶活性与对照组差异均无统计学意义($P > 0.05$),精浆果糖含量均明显高于 B 组和对照组($P < 0.01$);而 B 组精液量、pH 值和精浆中性 α -糖苷酶活性均显著低于对照组和 A 组($P < 0.01$)。精液生精细胞、精液常规和精浆生化联合检查对非梗阻性和梗阻性无精子症的诊断与睾丸穿刺活检符合率分别为 97.3% (36/37) 和 97.1% (33/34)。**结论:**精液生精细胞检查结合精液常规及精浆生化检测可作为鉴别非梗阻性与梗阻性无精子症的重要指标,对指导临床治疗有重要意义。

[关键词] 男性不育症;无精子症;生精细胞;精浆生化;精液常规

[中图分类号] R 698.2

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.08.040

The detection of semen routine, biochemical criterion and spermatogenic cells in azoospermia patients and its clinical value

CHEN Wei-hui, WU Ri-ran, FANG Xiao-wu, WU Jia-qi, CHEN Jie, WEI Jian-hong, XU Xiao-qin

(Center for Reproductive Medicine, Zhongshan Boai Hospital, Zhongshan Guangdong 528401, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the value of semen routine, biochemical criterion and spermatogenic cells in the diagnosis of azoospermia. **Methods:** The seminal spermatogenic cells was detected using the modified papanicolaou staining. The patients were divided into the group A (32 cases with spermatogenic cells) and group B (38 cases without spermatogenic cells) according to the presence or absence of seminal spermatogenic cells, 30 normal men were set as the control group. The semen volume and pH, seminal plasma fructose content, neutral α -glycosidase activity and testicular biopsy in three group were detected. **Results:** The differences of the semen volume and pH and neutral α -glycosidase activity between group A and control group were not statistically significant ($P > 0.05$), the seminal plasma fructose content in group A was significantly higher than that in group B and control group ($P < 0.01$), and the semen volume and pH, and neutral α -glucosidase activity in group B were significantly lower than those in group A ($P < 0.01$). The coincidence rates of the combined detection of seminal spermatogenic cells, semen routine and biochemical criterion, and testicular biopsy in the dagnosis of obstructive and non-obstructive azzospermia were 97.3% (36/37) and 97.1% (33/34), respectively. **Conclusions:** The joint detection of seminal spermatogenic cells, semen routine and biochemical criterion can be used as an important indicator in differentiating the obstructive and non-obstructive azzospermia, which has important significance in guiding clinical treatment.

[Key words] male infertility; azoospermia; spermatogenic cell; biochemical criterion; semen routine

据统计,育龄夫妇中不孕不育者占 10% ~ 15%,其中男性不育比例达 50%^[1]。且由于影响男性生育力的危险因子(如职业因素、环境因素、不良生活方式等)仍在增加,该比例有继续升高的趋势^[2]。无精子症在男性不育中较为多见,约占 10% 左右^[3]。无精子症依据其病理机制可分为梗阻性与非梗阻性 2 种,其鉴别需结合临床、超声、精液镜

检、内分泌、遗传和病理资料综合分析^[4]。目前睾丸活检加病理组织学检查是无精子症患者生殖病理研究的重要检测手段,但活检技术常对睾丸造成损伤^[5],因此,如何通过体格检查、精液常规、生化等检测手段鉴别无精子症和评估睾丸的生精功能,避免直接侵入性操作是临床研究热点。本研究通过检测 70 例无精子症患者精液中生精细胞的有无,结合精液常规、精浆生化检测,对照睾丸活检结果,探讨其对无精子症鉴别诊断的价值。现作报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2013 年 6 月至 2014 年 10 月

[收稿日期] 2014-11-17

[基金项目] 广东省中山市科技计划项目(2014A1FC026)

[作者单位] 广东省中山市博爱医院 生殖中心,528401

[作者简介] 陈伟辉(1980-),男,主管技师。

于我中心就诊,精液检查 ≥ 2 次,离心沉淀均未找到精子的无精子症患者 70 例(排除不射精和逆行射精者)。根据患者精液中生精细胞的有无将患者分为 2 组:A 组(有生精细胞)32 例,年龄 22~48 岁,不育年限 2~15 年;B 组(无生精细胞)38 例,年龄 20~45 岁,不育年限 2~13 年。并选取于我院妇保科进行婚检,1 年内女方成功怀孕,精液检查正常的健康男性 30 名作为对照组,年龄 22~48 岁。

1.2 标本采集 精液收集按照 WHO 标准程序^[6],患者通过手淫方式采集精液于专用的采集杯,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离心后留取精浆,Eppendorf 管分装数支后 -20℃ 保存,以上所有分装标本冻融 1 次后不再使用,沉渣涂片作精液生精细胞检查。

1.3 实验方法 (1)精液常规:精液量、pH 值、黏稠度、精子计数均按照 WHO 标准程序^[6]进行。(2)精浆生化:精浆果糖含量和中性 α -糖苷酶活性测定采用化学比色法,试剂盒由南京欣迪生物药业有限责任公司提供,操作步骤严格按照试剂盒说明。正常参考值:精浆果糖含量 0.87~3.95 g/L,精浆 α -糖苷酶活性 35.1~87.7 U/ml。(3)生精细胞检查:采用改良巴氏染色法,参照黄宇烽等^[7]方法。

1.4 统计学方法 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 3 组精液常规和精浆生化检测结果比较 A 组精液量、pH 值和精浆中性 α -糖苷酶活性与对照组差异均无统计学意义($P > 0.05$),而精浆果糖含量均明显高于 B 组和对照组($P < 0.01$);B 组精液量、pH 值和精浆中性 α -糖苷酶活性均显著低于对照组与 A 组($P < 0.01$)(见表 1)。

表 1 3 组精液常规和精浆生化检测结果比较

分组	<i>n</i>	精液量/ ml	精液 pH 值	精浆果糖/ (g/L)	中性 α -糖苷酶/ (U/ml)
A 组	32	3.83 ± 1.42 ^{ΔΔ}	7.43 ± 0.28 ^{ΔΔ}	3.57 ± 1.28 ^{**ΔΔ}	43.88 ± 11.41 ^{ΔΔ}
B 组	38	1.42 ± 0.90 ^{**}	6.37 ± 0.57 ^{**}	0.85 ± 0.73 ^{**}	21.24 ± 11.24 ^{**}
对照组	30	3.94 ± 1.21	7.45 ± 0.19	2.35 ± 0.98	46.87 ± 10.36
<i>F</i>	—	51.45	84.38	64.05	56.64
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
<i>MS</i> _{组内}	—	1.391	0.160	1.014	121.885

q 检验:与对照组比较^{*} $P < 0.01$;与 B 组比较^{ΔΔ} $P < 0.01$

2.2 精液生精细胞检查和精液常规、精浆生化检测对无精子症的鉴别诊断 A 组 32 例经睾丸穿刺活检,均确诊为非梗阻性无精子症(其中 17 例精液常

规与精浆生化均正常,15 例精液量、pH 值和精浆生化中的 1 项或 2 项不正常)。B 组 38 例中,4 例精液常规与精浆生化均正常,经睾丸穿刺活检,确诊为非梗阻性无精子症;其余 34 例精液量、pH 值、精浆生化 1 项或多项不正常,经睾丸穿刺活检,33 例确诊为梗阻性无精子症,1 例确诊为非梗阻性无精子症(精液量 2.0 ml、pH 值 7.0,精浆中性 α -糖苷酶活性 34.5 U/ml、果糖含量 0.95 g/L)。精液生精细胞检查联合精液常规与精浆生化测定在诊断非梗阻性和梗阻性无精子症上与睾丸穿刺活检的符合率分别为 97.3% (36/37) 和 97.1% (33/34)。

3 讨论

精液内生精细胞包括精原细胞、精母细胞(初级和次级精母细胞)和精子细胞。正常情况下,仅有少量生精细胞随成熟精子进入精液。当睾丸受到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,精液中表现出精子数量、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^[8]。

精液中没有精子,称为无精子症,包括精子发生障碍导致的非梗阻性无精子症和精子通路梗阻或缺如导致的梗阻性无精子症。非梗阻性无精子症患者睾丸中无成熟的精子,但含有不同类型、不同比例的未成熟生精细胞或支持细胞;而若精液中完全无生精细胞或支持细胞,则可初步考虑为梗阻性无精子症^[9]。本研究 70 例无精子症患者中,A 组 32 例精液中有生精细胞,其中精原细胞阶段 5 例,占 15.6% (5/32),精母细胞阶段 13 例,占 40.6% (13/32),精子细胞阶段 14 例,占 43.8% (14/32);B 组 38 例精液中无生精细胞。经睾丸穿刺活检,A 组 32 例均确诊为非梗阻性无精子症,B 组中 33 例确诊为梗阻性无精子症。以精液中生精细胞的有无鉴别非梗阻性无精子症和梗阻性无精子症的符合率分别为 86.5% (32/37) 和 86.8% (33/38),提示精液中生精细胞检查与睾丸穿刺活检具有较高的符合率,可为临床鉴别诊断提供有价值的信息。

精液由精浆与精子构成,而精浆由睾丸网、附睾、精囊腺、前列腺及尿道旁腺的分泌物组成,正常情况下,精液 pH 值为 7.2~8.0,一次射精精液量 >1.5 ml,精浆果糖 $\geq 13 \mu\text{mol}$,中性 α -糖苷酶 $\geq 20 \text{ mU}$ ^[6]。检测无精子症患者精液量、精液 pH 和

精浆中的果糖、中性 α -糖苷酶等附属腺功能指标,可了解前列腺、精囊腺、附睾的分泌功能,并可作为鉴别无精子症和输精管道梗阻定位的依据^[10],李兴武等^[11]认为无精子症患者精液量少,pH 值低,果糖 α -糖苷酶低可初步推断为梗阻性无精子症,若精液中检出生精细胞则说明输精管道通畅,但查不出生精细胞不能说明输精管道不通畅。本研究结果中,A 组精液量、精液 pH 值、精浆 α -糖苷酶活性均较对照组低,但差异均无统计学意义($P > 0.05$)。32 例中 17 例精液常规与精浆生化均正常,15 例精液量、pH 值和精浆生化中的 1 项或 2 项不正常,32 例精液中均可见生精细胞,经睾丸穿刺活检,均确诊为非梗阻性无精子症;而 B 组精液量、精液 pH 值、精浆果糖含量与 α -糖苷酶活性均显著低于对照组与 A 组($P < 0.01$),38 例中只有 4 例精液常规与精浆生化均正常,精液中未见生精细胞但可见少量支持细胞,提示其输精管道无阻塞,初诊为睾丸生精障碍,后经睾丸穿刺活检确诊为非梗阻性无精子症,其余 34 例精液量、pH 值、精浆生化 1 项或多项不正常,经睾丸穿刺活检,33 例确诊为梗阻性无精子症,1 例为非梗阻性无精子症,其精液中亦可见支持细胞。精液生精细胞检查联合精液常规与精浆生化测定在诊断非梗阻性和梗阻性无精子症上与睾丸穿刺活检的符合率分别为 97.3% (36/37) 和 97.1% (33/34),与李兴武等^[11]的研究结果(94.7%)相近,提示精液生精细胞检查联合精液常规与精浆生化测定可提高对无精子症的鉴别诊断,对睾丸活检结果有较高的预测价值。

精浆果糖由精囊细胞合成并分泌,其降解可释放能量,为精子提供能量。WHO 确定精浆果糖测定可用于判断精囊腺功能,有助于鉴别诊断梗阻性无精子症和非梗阻性无精子症^[6],梗阻性无精子症患者的果糖浓度将低于正常参考值,而非梗阻性无精子症患者的果糖浓度将高于正常参考值^[12]。本研究结果中,A 组精浆果糖含量高于对照组($P < 0.01$),B 组精浆果糖含量显著低于对照组与 A 组($P < 0.01$),与 Buchet 等^[12]研究一致。A 组果糖含量显著升高,可能是由于果糖是精子的重要能量来源,非梗阻性无精子症患者由于没有精子的产生,果糖消耗减少,从而导致果糖含量较高;而 B 组精浆

果糖含量显著低,是由于其大多数为梗阻性无精子症,射精管阻塞、双侧输精管先天性缺如等,导致果糖含量的降低^[6]。

综上所述,精液生精细胞检查结合精液常规及精浆生化测定对睾丸活检结果有较高的预测价值,可联合应用诊断无精子症类型,是鉴别非梗阻性与梗阻性无精子症的重要指标,对临床治疗的指导有重要意义;并且精液生精细胞检查,精液常规(精液量、pH 值)、精浆生化检测只需留取患者 1 份精液即可,检测耗时短,简便快捷、安全可靠、准确,易操作、无痛苦、无损伤,患者在接受辅助生殖技术治疗前可减少睾丸手术次数,避免不必要的创伤,临床上值得推广。

[参 考 文 献]

- [1] Povey AC, Stocks SJ. Epidemiology and trends in male subfertility [J]. Hum Fertil, 2010, 13(4): 182-188.
- [2] 张玮玮. 关于精液质量的影响因素分析[J]. 当代医学, 2009, 15(27): 13.
- [3] 蒲军, 吴小侯, 唐伟, 等. 640 例无精子症病因分析[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(2): 317-319.
- [4] Robin G, Boitrelle F, Leroy X, et al. Assessment of azoospermia and histological evaluation of spermatogenesis [J]. Ann Pathol, 2010, 30(3): 182-195.
- [5] 王怀秀, 李先莲, 宋玉梅, 等. 无精子症患者睾丸活检结果分析[J]. 中国药物与临床, 2013, 13(10): 1276-1277.
- [6] 世界卫生组织. 人类精液检查与处理实验室手册[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [7] 黄宇烽, 印洪林. 精液细胞学与超微结构图谱[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2002: 15-16.
- [8] 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.
- [9] 谷振环, 李环, 陈一鑫, 等. 精液生精细胞学检查与睾丸细针穿刺对无精症诊断的比较[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(12): 1554-1556.
- [10] Kolettis PN, Sabanegh ES, D'amico AM, et al. Outcomes for vasectomy reversal performed after obstructive interval of at least 10 years [J]. Urology, 2002, 60(5): 885-888.
- [11] 李兴武, 王红梅. 精浆生化及精液细胞学检查在无精子症诊断分型中的应用[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2011, 46(04): 622-623.
- [12] Buchet WM, Lewis-Jones DI. Fructose concentration in seminal plasma from men with non-obstructive azoospermia [J]. Arch Androl, 2002, 48(1): 23-27.

(本文编辑 卢玉清)