

示 A26、B62 和 DR8 有可能是广西壮族 CRF 患者的保护基因。

与 HLA 相关疾病的易感基因与 HLA 紧密连锁。也就是说,HLA 等位基因在单个染色体上的组合即 HLA 单倍型更能反映疾病与 HLA 的相关性。韩志明等^[4]报道南方汉族 CRF 患者中 HLA-B75-DR4 单倍型频率显著高于对照组,提示 B75-DR4 可能是与 CRF 相关联的易感单倍型。刘楠等^[10]通过对 377 例汉族 CRF 患者的研究发现,DR11-DQ3、DR12-DQ3、A2-B15 可能是 CRF 的易感单倍型,A2-B38、A33-B58-DR3、DR13-DQ3 可能是 CRF 的保护单倍型。本研究发现,在广西壮族人群中,A2-B56-DR14 单倍型频率患者组显著高于对照组,提示 A2-B56-DR14 可能为广西壮族 CRF 患者的易感单倍型。

CRF 的病因很多,主要由慢性肾小球肾炎、糖尿病肾病、高血压肾病和肾病综合征等 7 种肾脏疾病所致^[11]。如能在本研究的基础上将 CRF 的病因做进一步分类,将有助于研究广西壮族 CRF 的遗传背景和发病机制、CRF 的早期诊断、判断预后及指导临床肾移植工作。因此本组下一步的研究重点是:(1)扩大样本量,进一步证实广西壮族 CRF 患者的 HLA 易感基因与易感单倍型;(2)将 CRF 患者的病因进行分类,研究不同病因所致的 CRF 与 HLA 基因的相关性。

参考文献

[1] Franco C, Yoo W, Franco D, et al. Predictors of end stage renal disease in African Americans with lupus nephritis [J]. Bull NYU Hosp Jt Dis, 2010, 68(4): 251-256.

[2] Karahan GE, Seyhun Y, Oguz FS, et al. Impact of HLA on the underlying primary diseases in Turkish patients with end-tage renal disease[J]. Ren Fail, 2009, 31(1): 44-49.

[3] Karahan GE, Kekik C, Oguz FS, et al. Association of HLA phenotypes of end-stage renal disease patients pre-

paring for first transplantation with anti-HLA antibody status[J]. Ren Fail, 2010, 32(3): 380-383.

[4] 韩志明,肖露露,于立新,等.南方汉族等候肾移植终末期肾功能衰竭患者 HLA 基因多态性分析[J]. 现代泌尿外科杂志, 2010, 15(2): 110-113.

[5] 汪艳,朱敏,于卫健,等.大连地区汉族慢性肾功能衰竭患者的 HLA 基因多态性[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(3): 225.

[6] 吴月环. 福建汉人 HLA-DRB1 基因的 PCR-SSP 定型分析及其对 CRF 易感性的研究[J]. 医学信息, 2011, 24(2): 720-721.

[7] Doxiadis II, De Lange P, De Vries E, et al. Protective and susceptible HLA polymorphisms in IgA nephropathy patients with end-stage renal failure[J]. Tissue Antigens, 2001, 57(4): 344-347.

[8] Crispim JC, Mendes-Junior CT, Wastowski IJ, et al. HLA polymorphisms as incidence factor in the progression to end-stage renal disease in Brazilian patient awaiting kidney transplant[J]. Transplant Proc, 2008, 40(5): 1333-1336.

[9] 韩志明,肖露露,于立新. 含易感基因的 HLA 单倍型与终末期肾功能衰竭易感性的关系[J]. 山东医药, 2011, 51(18): 21-22.

[10] 刘楠,袁方,梁飞,等. 人类白细胞抗原多态性与慢性肾功能衰竭的遗传易感性研究[J]. 军事医学科学院院刊, 2009, 33(1): 33-36.

[11] 王宗谦,尹丽,张思晴. 慢性肾功能衰竭 937 例病因分析[J]. 中国实用内科杂志, 2013, 33(1): 58-61.

(收稿日期:2015-11-07 修回日期:2016-01-03)

• 临床探讨 •

精液生精细胞检查联合血清 FSH 水平预测无精子症患者 睾丸精子获取术成功的价值^{*}

陈伟辉,方小武,吴日然,吴嘉齐,韦剑洪,许小琴(广东省中山市博爱医院生殖中心 528401)

【摘要】 目的 探讨精液生精细胞检查联合血清促卵泡生长激素(FSH)水平用于无精子症患者睾丸精子获取术(TESE)成功与否的价值。**方法** 对 80 例行 TESE 的无精子症患者进行精液生精细胞检查和血清 FSH 水平检测,根据血清 FSH 水平分成 4 组。A 组 FSH 水平低于参考值下限,有 5 例;B 组 FSH 水平处于正常参考值范围,有 51 例;C 组 FSH 水平高于参考值上限的 1 倍,有 14 例;D 组 FSH 水平高于参考值上限的 2 倍,有 10 例;观察 4 组的睾丸精子获取成功率和不同类型生精细胞的睾丸精子获取成功率。**结果** 4 组的睾丸精子获取成功率分别为 40.0%、90.2%、42.9%、20.0%,不同类型生精细胞的睾丸精子获取成功率分别为 0、11.1%、50.0%、72.7%、88.1%。**结论** 精液中生精细胞的有无和类型对睾丸精子获取术成功与否具有较高的预测价值。

【关键词】 无精子症; 生精细胞; 血清 FSH 水平; 睾丸精子获取术

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.08.026 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)08-1076-03

无精子症依据其病理机制分为梗阻性无精子症和非梗阻性无精子症^[1],无精子症患者精液中基本找不到精子,睾丸穿刺取精术是目前临床用来治疗无精子症的重要手段,并且具有较好的临床效果,有报道称 60% 的非梗阻性无精子症患者和

大部分的梗阻性无精子患者可以通过睾丸穿刺取精术的方法获得精子^[2-3],解决生育问题,但是睾丸穿刺手术是一种创伤性手术,容易导致一些并发症的发生,如睾丸血肿、感染、抗体产生以及因手术创伤对睾丸血供的影响导致术后睾丸萎缩等,不

^{*} 基金项目:广东省中山市科技计划项目(2014A1FC026)。

仅对患者的生理及心理造成一定的影响,而且也可能因穿刺操作造成睾丸屏障损伤而加重男性不育^[4],因此,能否在手术前通过无创的实验指标对患者的睾丸功能进行评估,预测其取精的价值,从而减少甚至避免不必要的穿刺手术给患者带来的损伤。本研究通过检测无精子症患者精液中生精细胞的有无和类型结合血清促卵泡生长激素(FSH)水平,了解其与临床上穿刺取精结果的关系,探讨其对睾丸穿刺取精的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 6 月到 2015 年 6 月到本院生殖中心就诊,其精液检查大于或等于 2 次离心沉淀均未找到精子,拟接受辅助生殖技术治疗的 80 例无精子症患者(排除不射精和逆行射精者),年龄 22~45 岁,平均(31.5±6.8)岁;不育年限 1~17 年,平均(14.6±7.8)岁。80 例患者根据临床体查、超声、精液镜检、内分泌、遗传和病理资料的综合鉴别诊断,37 例为梗阻性无精子症,43 例为非梗阻性无精子症。根据血清 FSH 水平分成 4 组,A 组 FSH 水平低于参考值下限,有 5 例;B 组 FSH 水平处于正常参考值范围,有 51 例;C 组 FSH 水平高于参考值上限的 1 倍,有 14 例;D 组 FSH 水平高于参考值上限的 2 倍,有 10 例。

1.2 精液生精细胞检查 采用改良巴氏染色法检测精液中生精细胞^[5],根据精液中生精细胞的有无、形态和染色特征分类和分型。

1.3 血清 FSH 水平检测 采用化学发光法,按试剂说明书操作,设备和试剂均购自德国的 Roche Diagnostics GmbH 公司。

1.4 睾丸精子获取术(TESE) 参照文献方法对无精子症患者进行睾丸手术取精^[6]。

1.5 观察指标 4 组的睾丸精子获取成功率和不同类型生精细胞的睾丸精子获取成功率。

2 结果

2.1 4 组间睾丸精子获取成功率 A 组中有 2 例精液中未见生精细胞,2 例精液中见多种生精细胞,1 例精液中只见 1 种生精细胞,睾丸精子获取成功率为 40.0%(2/5);B 组中有 38 例精液中未见生精细胞,10 例精液中见多种生精细胞且以较成熟的精子细胞为主,3 例精液中只见 1 种生精细胞,睾丸精子获取成功率为 90.2%(46/51);C 组中有 7 例精液中可见多种生精细胞,7 例精液中只见 1 种生精细胞,睾丸精子获取成功率为 42.9%(6/14);D 组中 2 例精液中未见生精细胞只见支持细胞,3 例精液中见多种生精细胞,5 例精液中只见 1 种生精细胞,睾丸精子获取成功率为 20.0%(2/10),见表 1。

表 1 4 组间睾丸精子获取成功情况(n)

组别	精原细胞	精母细胞	精子细胞	多种生精细胞	未见生精细胞	合计
A 组						
睾丸手术有精子	0	0	0	1	1	2
睾丸手术无精子	1	0	0	1	1	3
合计	1	0	0	2	2	5
B 组						
睾丸手术有精子	0	0	2	8	36	46
睾丸手术无精子	0	0	1	2	2	5
合计	0	0	3	10	38	51
C 组						
睾丸手术有精子	0	1	0	5	0	6

续表 1 4 组间睾丸精子获取成功情况(n)

组别	精原细胞	精母细胞	精子细胞	多种生精细胞	未见生精细胞	合计
D 组						
睾丸手术有精子	0	0	0	2	0	2
睾丸手术无精子	1	4	0	1	2	8
合计	1	4	0	3	2	10

2.2 不同类型生精细胞的睾丸精子获取成功率 精液中只见精原细胞者有 3 例,睾丸精子获取成功率为 0;精液中只见精母细胞者有 9 例,睾丸精子获取成功率分别为 11.1%(1/9);精液中只见精子细胞者有 4 例,睾丸精子获取成功率为 50.0%(2/4);精液中见多种生精细胞者有 22 例,睾丸精子获取成功率为 72.7%(14/22);精液中未见生精细胞者有 42 例,其中 37 例为梗阻性无精子症,其他为非梗阻性无精子症,睾丸精子获取成功率为 88.1%(37/42),见表 2。

表 2 不同类型生精细胞的睾丸精子获取成功率(n)

生精细胞类型	精原细胞	精母细胞	精子细胞	多种生精细胞	未见生精细胞	合计
睾丸手术有精子	0	1	2	14	37	54
睾丸手术无精子	3	8	2	8	5	26
合计	3	9	4	22	42	80

3 讨论

无精子症依据其病理机制分为梗阻性与非梗阻性两种,其鉴别基于临床、超声、精液镜检、内分泌、遗传和病理资料的综合分析^[7],随着近几年卵胞质内单精子注射(ICSI)技术的成熟发展,精液或睾丸穿刺组织中仅能收获数条精子的男性也能成为生物学父亲^[8],目前大多数梗阻性无精子症患者和部分非梗阻性无精子症患者可通过睾丸手术取精进行 ICSI,从而辅助生育成功,但有些患者要经过多次穿刺才能取得精子或根本取不到精子。因此,如果能够在术前对睾丸功能有一个初步判断,对于预测取精结果及 ICSI 成功与否都会有较大的帮助。此外,一部分无精子症患者为进行性睾丸功能衰竭,如 Klinefelter 综合征患者(KS 患者),早期部分睾丸生精功能尚可,可通过手术取得精子,有专家提倡应在 KS 患者生精细胞耗尽之前对其生精细胞或精子进行贮存^[9],这类患者手术越早越好。因此,如何对无精子症患者睾丸功能做出准确的预测,判断其是否可获取到精子,提出了更高的要求。

性激素和男性不育密切相关,其调节主要通过下丘脑-垂体-睾丸轴调控和睾丸内调控两方面,两者相互协调互动,保证睾丸功能的正常发挥。下丘脑释放促性腺激素释放激素,促使垂体前叶释放 FSH 和促黄体生成素(LH)、催乳素(PRL)。由于 FSH 对支持细胞的增殖和精子的发生起着关键性的作用,因而 FSH 作为评价睾丸生精功能的指标已得到公认。Madani 等^[10]认为 FSH 和睾丸大小联合检测能代替睾丸活检预测无精子症患者有无精子生成。但临床上运用 FSH 对睾丸功能评价的可靠性不高(只有 80%左右)^[11],这是因为 FSH 只是间接反映睾丸的生精功能,其时刻受睾丸间质细胞产生的抑制素 B

的负反馈调节。一般来说,各种激素的分泌量是相对恒定的,其中某一激素分泌量升高或降低,或某一种激素的相应受体的改变,都可影响精子发生,并导致性功能的障碍^[12]。本研究结果中,血清 FSH 水平处于正常参考值范围的 51 例患者中有 46 例睾丸可获得精子,睾丸取精成功率为 90.2%;血清 FSH 水平低于正常参考值范围,其睾丸取精成功率为 40.0%;血清 FSH 水平高于 1 倍和 2 倍正常参考值范围,其睾丸取精成功率分别为 42.9%和 20.0%。提示无精子症患者血清 FSH 水平处于正常参考值范围时,睾丸取精成功率较高;血清 FSH 水平越低于或高于正常参考值范围,睾丸取精成功率越低。说明血清 FSH 水平对睾丸功能有一定的预测价值。

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^[13]。精液生精细胞检查是应用光学显微镜辨认离心沉淀、染色后的精液细胞,着重从无精子症患者精液中生精细胞的有无、类型、比例来判断睾丸精子生成的能力、生精阻滞所处的发生阶段,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^[14]。本研究结果中,80 例无精子症患者中,精液中未见生精细胞者有 42 例,其中 37 例为梗阻性无精子症,其余为非梗阻性无精子症,睾丸精子获取成功率为 88.1%;精液中见多种生精细胞且以较成熟的生精细胞为主者有 22 例,睾丸精子获取成功率为 72.7%;精液中只见精子细胞者有 4 例,睾丸精子获取成功率为 50.0%;精液中只见精母细胞或精原细胞者分别有 9 例和 3 例,睾丸精子获取成功率分别为 11.1%和 0。结果提示,精液中生精细胞的有无和类型对睾丸手术取精有较好的预测价值,精液中无生精细胞的患者多为梗阻性无精子症,睾丸功能正常,睾丸取精成功率较高;精液中见多种生精细胞或以较成熟的精子细胞存在时,其睾丸功能尚可,睾丸手术获得精子的概率也较高;精液中若只见 1 种生精细胞且以早期的精原或精母细胞为主,则睾丸手术获得精子的概率几乎为零。同时,本研究结果显示,血清 FSH 水平处于正常参考值范围,精液中未见生精细胞和见多种生精细胞的无精子症患者,睾丸取精成功率分别高达 94.7%、80.0%;血清 FSH 水平低于或高于正常参考值范围,精液中见多种生精细胞的无精子症患者,睾丸取精成功率也可达到 50%以上,若精液中只见 1 种生精细胞者,则睾丸取精成功率极低。

综上所述,无精子症患者血清 FSH 水平处于正常参考值范围,且精液中未见生精细胞或见多种生精细胞,拥有较高的手术成功率;血清 FSH 水平低于或高于正常参考值范围,且只见 1 种生精细胞,手术取到精子的成功率极低,特别是生精细胞阻滞于早期的精原细胞或精母细胞,成功率几乎为零,这部分患者就没有必要再进行手术取精对患者造成二次伤害,但当生精细胞阻滞于晚期的精子细胞或精液中同时存在多种生精细胞,从睾丸获取到精子的概率较高。因此,通过联合精液生精细胞检查和血清 FSH 水平检测对无精子症患者进行更为全面细致的评估,可初步预测患者睾丸生精功能,判断其是否可通过手术获取到精子,将有助于临床的后续治疗方案的制定,

减少甚至避免不必要的穿刺手术给患者带来的损伤。

参考文献

- [1] Abdel Rabeem 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, 2012, 111(3):492-499.
- [2] 刘玉杰, 赵艳, 郭晓静, 等. 睾丸穿刺取精术对非梗阻性无精子症患者性功能的影响[J]. 中华男科学杂志, 2013, 19(1):94-95.
- [3] Turunc T, Gul U, Haydardedeoglu B, et al. Conventional testicular sperm extraction combined with the microdissection technique in non-obstructive azoospermic patients; a prospective comparative study[J]. Fertil Steril, 2010, 94(6):2157-2160.
- [4] 闫文杰, 杨菁, 尹太郎, 等. 睾丸穿刺取精与正常体外排精行卵细胞质内单精子注射的临床结局比较[J]. 中华男科学杂志, 2011, 17(3):276-278.
- [5] 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.
- [6] 黄学锋, 郑菊芬, 吴秀玲, 等. 睾丸精子获取和单精子卵胞浆内注射术治疗非梗阻性无精子症不育[J]. 中华泌尿外科杂志, 2002, 23(11):647-650.
- [7] Robin G, Boitrelle F, Leroy X, et al. Assessment of azoospermia and histological evaluation of spermatogenesis[J]. Ann Pathol, 2010, 30(3):182-195.
- [8] 郑菊芬, 施长根, 陈小豹, 等. 非梗阻性无精子症和隐匿精子症与睾丸体积、血 FSH 和 AZF 基因微缺失的相关性分析[J]. 生殖与避孕, 2013, 33(12):811-815.
- [9] Van Saen D, Tournaye H, Goossens E. Presence of spermatogonia in 47, XXY men with no spermatozoa recovered after testicular sperm extraction[J]. Fertil Steril, 2012, 97(2):319-323.
- [10] 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[J]. Andrologia, 2012, 44(3):205-209.
- [11] 张卫星, 王瑞, 李培强. 血清和精浆抑制素 B 在无精子症诊断中的应用研究[J]. 中华男科学杂志, 2007, 13(7):598-600.
- [12] Main KM, Schmidt IM, Toppari J, et al. Early postnatal treatment of hypogonadotropic hypogonadism with recombinant human FSH and LH[J]. Eur Endocrinol, 2002, 146(1):75-79.
- [13] 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.
- [14] 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.