

血清生物标记物在非梗阻性和梗阻性无精子症鉴别诊断中的应用

袁茜¹, 徐晓英², 董云华^{2*}

¹昆明理工大学临床医学院, 云南 昆明

²云南省第一人民医院、昆明理工大学附属医院生殖医学科, 云南 昆明

收稿日期: 2023年5月28日; 录用日期: 2023年6月23日; 发布日期: 2023年6月30日

摘要

目的: 阐释血清生物标记物在非梗阻性(NOA)和梗阻性无精子症(OA)鉴别诊断中的临床应用价值。方法: 本研究回顾性分析2020年7月至2022年7月在云南省第一人民医院辅助生殖中心309例无精子症患者的临床资料, 其中梗阻性无精子症(OA)患者118例, 非梗阻性无精子症(NOA)患者191例。对血清AMH、FSH、LH、E₂、Te、PRL、T与LH比以及睾丸平均体积采用二元Logistic回归分析联合ROC评价。结果: 有临床诊断价值的指标为血清T/LH、FSH、Te。血清T/LH比值区分梗阻性和非梗阻性无精子症患者的ROC AUC为0.869 (临界值2.033, 敏感性为96.6%, 特异性为65.4%), 血清FSH水平ROC AUC为0.938 (临界值10.035 mIU/mL, 敏感性为84.8%, 特异性为99.2%), 血清Te水平ROC AUC为0.649, 曲线下面积小于0.7。结论: 临床区分男性梗阻性和非梗阻性无精子症可将血清T/LH比值 < 2.033作为初筛指标, 敏感度为96.6%; FSH > 10.035 mIU/mL作为非梗阻性无精子症的诊断指标, 特异性为99.2%。

关键词

非梗阻性无精子症(NOA), 梗阻性无精子症(OA), 血清T/LH比值, 促卵泡生成素(FSH)

Clinical Application of Serum T/LH Ratio and FSH to Distinguish between Non-Obstructive and Obstructive Azoospermia

Xi Yuan¹, Xiaoying Xu², Yunhua Dong^{2*}

¹Clinical Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming Yunnan

²Department of Reproductive Medicine, The First People's Hospital of Yunnan Province, The Affiliated Hospital

*通讯作者。

文章引用: 袁茜, 徐晓英, 董云华. 血清生物标记物在非梗阻性和梗阻性无精子症鉴别诊断中的应用[J]. 临床医学进展, 2023, 13(6): 10369-10375. DOI: 10.12677/acm.2023.1361452

Abstract

Objective: To explain the clinical application value of serum biomarkers in the differential diagnosis of non-obstructive azoospermia (NOA) and obstructive azoospermia (OA). **Methods:** This study retrospectively analyzed the clinical data of 309 azoospermia patients in the Assisted Reproduction Center of the First People's Hospital of Yunnan Province from July 2020 to July 2022, including 118 patients with obstructive azoospermia (OA) and 191 patients with non-obstructive azoospermia. The serum AMH, FSH, LH, E2, Te, PRL, T to LH ratio and average testicular volume were evaluated by binary Logistic regression analysis combined with ROC. **Results:** The indexes of clinical diagnostic value were serum T/LH, FSH, and Te. The ROC AUC of serum T/LH ratio for distinguishing obstructive and non-obstructive azoospermia patients was 0.869 (critical value 2.033, sensitivity 96.6%, specificity 65.4%), the serum FSH ROC AUC was 0.938 (critical value 10.035 mIU/mL, the sensitivity was 84.8%, the specificity was 99.2%), the serum Te ROC AUC was 0.649, and the area under the curve was less than 0.7. **Conclusion:** To clinically distinguish male obstructive and non-obstructive azoospermia, the serum T/LH ratio < 2.033 can be used as a primary screening index, with a sensitivity of 96.6%; FSH > 10.035 mIU/mL can be used as a diagnostic index for non-obstructive azoospermia. The specificity was 99.2%.

Keywords

Non-Obstructive Azoospermia (NOA), Obstructive Azoospermia (OA), Serum T/LH Ratio, Follicle-Stimulating Hormone (FSH)

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

根据世界卫生组织(WHO)的数据[1], 不孕症影响 10%~15%的夫妇, 在不孕夫妇中, 男性因素占 20%~70%。男性不育中最严重的是无精子症[2]。无精子症分类方法众多, 目前尚无统一的分类方法。通常根据男性生殖道是否梗阻或部分缺失将无精子症分为两类: 梗阻性无精子症(obstructive azoospermia, OA)和非梗阻性无精子症(non-obstructive azoospermia, NOA)两种类型[3]。对于梗阻性和非梗阻性无精子症患者所采取的治疗和方法不同, 故在提供明确的治疗选择之前诊断梗阻性无精子症还是非梗阻性无精子症至关重要。

一直以来, 睾丸穿刺活检是鉴别梗阻性和非梗阻性无精子症的金标准, 但该方法属于有创操作, 睾丸穿刺不仅给患者带来痛苦和心理压力, 还可能对睾丸屏障造成损害, 而且在某些情况下, 穿刺还可能会产生加重男性不育症的抗体, 本文主要探索区分梗阻性和非梗阻性无精子症的血清学诊断指标。

2. 资料与方法

1) 研究对象: 2020年7月至2022年7月在云南省第一人民医院生殖医学专科就诊的无精子症患者。

2) 纳入标准: 根据《中国男科疾病诊断治疗指南与专家共识(2016)》无精子症诊疗策略将无精子症患者分为 OA 组(118 例)和 NOA 组(191 例)纳入。所有患者精液检查要求禁欲时间 3~7 天, 2 次取精间隔时间两周以上, 且至少 2 次精液分析检查结果均未检测到精子[4]。

3) 排除标准: 无精子症不能明确诊断为 OA 或 NOA 者。

4) 方法

a) 专科体检: 患者的诊断评估包括男科专科病史、体格检查。左右侧睾丸体积测量: 体格检查时通过使用 Prader 睾丸计(PO)估计双侧睾丸体积大小[5], 记录后续睾丸穿刺结果。

b) 精液分析。男方禁欲 2~7 天, 采用手淫的方式在将精液全部排入广口无菌带盖一次性杯, 记录取精时间, 接收后放入 37℃ 恒温水浴箱待液化后检测。采用 WHO 第五版精液分析手册规范方法进行检测[6]。

c) 性激素检测。所有患者检查前一天晚上十点后禁食禁饮, 抽取第二天早上 8~11 点的静脉血样, 使用 BACKMAN DXI800 化学发光免疫系统, 每日开机正常, 三水平室内质控在控后定量检测患者血清卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、睾酮(T)、雌二醇(E2)及泌乳素(PRL)、抗缪勒管激素(AMH)。

4) 统计学分析采用 SPSS 25.0 统计软件对可能有助于区分梗阻性和非梗阻性无精子症的相关临床指标(血清 AMH、血清 FSH、血清 LH、血清 E2、血清 Te、血清 PRL、T 与 LH 比值及睾丸平均体积)采用二元多因素 Logistic 回归分析, 筛出有价值指标。再使用受试者工作特征(ROC)曲线比较这三项指标对区分梗阻性和非梗阻性无精子症的临床应用价值, 以曲线下面积(AUC)来评价诊断效果。当 AUC > 0.5 时, AUC 越接近 1, 说明诊断效果越好; AUC 在 0.5~0.7 时, 准确性较低; 在 0.7~0.9 时, 有一定准确性; AUC 在 0.9 以上时, 准确性较高。

3. 结果

3.1. 无精子症患者一般情况

按照纳入和排除标准, 共入组 309 例无精子症患者, 其中梗阻性无精子症(OA)患者 118 人, 非梗阻性无精子症(NOA)患者 191 人, 总体基本情况见表 1。

Table 1. General information of 309 patients with azoospermia
表 1. 309 例无精子症患者的基本情况

总体基本情况	OA	NOA
病例数	118	191
年龄(岁)	31.99 ± 6.83	31.39 ± 5.37
睾丸体积(mL)	14.87 ± 2.15	5.58 ± 3.61
精液 PH	7.26 ± 0.53	7.49 ± 0.11
精液量(mL)	2.11 ± 1.11	2.80 ± 1.35
血清 AMH (ng/mL)	10.00 ± 5.54	6.40 ± 5.35
血清 FSH (mIU/mL)	5.30 ± 2.07	24.07 ± 13.84
血清 T (ng/mL)	4.43 ± 1.19	3.83 ± 1.29
血清 LH (mIU/mL)	3.78 ± 1.63	9.12 ± 5.74
T/LH 比值	4.62 ± 1.89	2.17 ± 1.79
血清 E2 (pg/mL)	28.95 ± 10.96	28.73 ± 11.06
血清 PRL (ng/mL)	9.76 ± 5.28	11.10 ± 5.82

Continued

睾丸穿刺获精数	114 (96.61%)	34 (17.80%)
病因分布		
继发性 NOA		
先天性 NOA (46)		106 (55.50%)
特发性 NOA (39)		
先天性 NOA		46 (24.08%)
特发性 NOA		39 (20.42%)
睾丸内梗阻	7 (5.93%)	
附睾梗阻	53 (44.92%)	
输精管缺如或梗阻	33 (27.97%)	
射精管梗阻	2 (1.69%)	
其他原因梗阻	23 (19.49%)	

3.2. 区分梗阻性和非梗阻性无精子症的临床指标的筛查

对血清 AMH、FSH、LH、E2、Te、PRL、T/LH 比及睾丸平均体积，采用二元 Logistic 回归分析，结果显示血清 T/LH 比值、FSH、Te 三项指标 P 值小于 0.05，对区分梗阻性和非梗阻性无精子症患者有意义，其余临床指标 P 值均大于 0.05。见表 2。

Table 2. Comparison of clinical indicators in obstructive and non obstructive azoospermia
表 2. 梗阻性和非梗阻性无精子症的相关临床指标的比较

	血清 AMH	血清 FSH	血清 LH	血清 E2	血清 Te	血清 PRL	T/LH 比值	睾丸平均体积	PH 值
显著性	0.740	0.000	0.225	0.959	0.008	0.915	0.042	0.077	0.090

3.3. 血清 FSH、Te 及 T/LH 在区分梗阻性和非梗阻性无精子症的诊断学评价

血清 T/LH 比值、FSH、Te 这三项指标曲线下面积的值分别为：0.869、0.938、0.649。血清 T/LH 比值、FSH、睾丸平均体积三项指标对鉴别诊断 OA/NOA 的准确度分别为 86.9%、93.8%、64.9%，且 P 小于 0.05，具有统计学意义。血清 Te 曲线下面积小于 0.7，对区分梗阻性和非梗阻性无精子症的准确性较低，故排除血清 Te 项指标。通过计算血清 T/LH 比值、血清 FSH 的约登指数判断相关指标的诊断临界值，血清 T/LH 比值的临界值为 2.033，敏感度为 96.6%，特异性为 65.4%。血清 FSH 的临界值为 10.035 mIU/mL，敏感度为 84.8%，特异性为 99.2%。根据分析结果，可将敏感度 96.6%的血清 T/LH 比值和特异性 99.2%的血清 FSH 作为诊断指标。结果见表 3 和图 1。

Table 3. Diagnostic value of FSH, Te and T/LH ratio
表 3. FSH、Te 及 T/LH 比值的诊断价值

诊断指标	AUC	渐近显著性	约登指数	诊断临界值	敏感度	特异性
T/LH 比值	0.869	0.000	0.620	2.033	0.966	0.654
FSH	0.938	0.000	0.840	10.035	0.848	0.992
Te	0.649	0.000	/	/	/	/

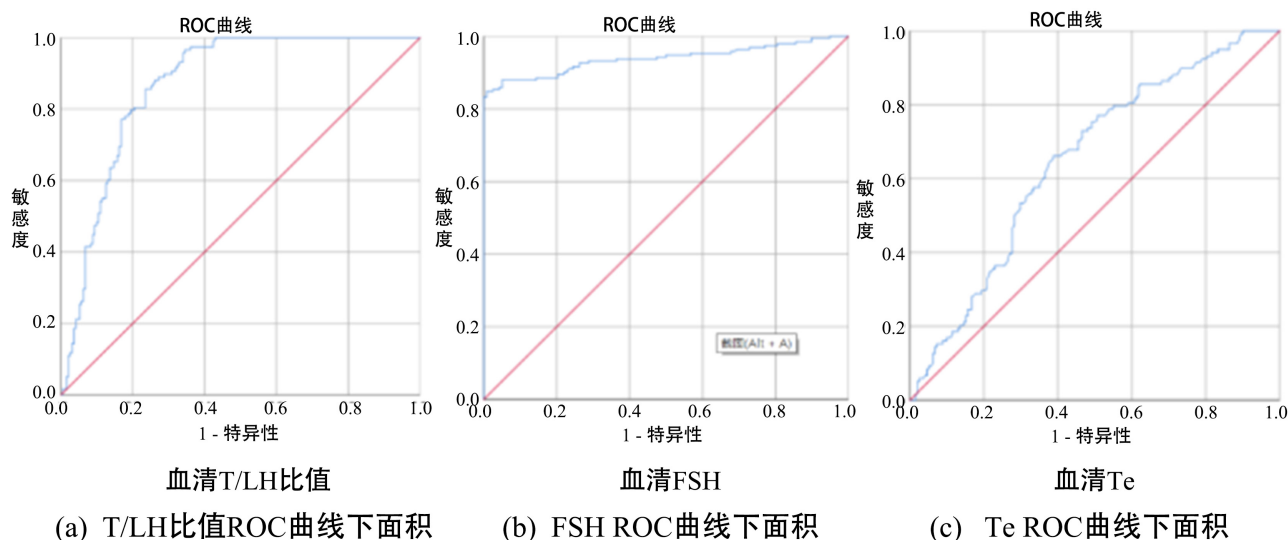


Figure 1. The area under the ROC curve of FSH, Te and T/LH ratio

图 1. FSH、Te 及 T/LH 比值 ROC 曲线下面积

4. 讨论

男性不育发生率 7%~12% [7], 已成为男性不育的一个重要影响因素。非梗阻性无精子症被认为是最具挑战性的疾病, 虽然显微镜下取精联合胞浆内精子注射极大地改善了无精子症不育的治疗预后。但临床实践中对梗阻性无精子症和非梗阻性无精子症的明确分类诊断直接与不育治疗方式、结局密切相关。本研究的目的是探索区分无精子症病因的无创性方法, 减少患者的痛苦和心理压力。

精子生成是一个非常复杂的过程, 受一系列复杂的内分泌、旁分泌和自分泌的相互调节, 涉及支持细胞、睾丸间质细胞(Leydig 细胞)、管周细胞和生殖细胞等为生殖系统提供结构支持的相关信号。而促性腺激素(如黄体生成素和卵泡刺激素)分别通过刺激间质细胞和支持细胞发挥关键作用[8]。所以当机体受到与睾丸精子生成或睾丸后精子成熟相关的分子事件的干扰有可能导致不育。

机体下丘脑 - 垂体 - 性腺轴分泌促黄体生成素及卵泡刺激素[9], FSH 主要通过睾丸支持细胞中的膜结合受体, 直接启动精原细胞的有丝分裂和早期生精发育, 刺激支持细胞发育, 间接刺激 T 的分泌, 从而促进精子发生, 是支持细胞的重要刺激物和精子成熟的重要调节剂[10]。LH 通过刺激曲细精管外具有 LH 受体(LHR)的间质细胞, 刺激循环 AMP 积累和胆固醇转化为孕烯醇酮, 睾酮的形成增加, 此步骤速率由线粒体外膜中的类固醇急性调节蛋白(StAR)决定, 而体内一定水平的 LH 刺激是维持 StAR 基因表达所必需的[11]。睾酮的主要靶向目标是雄激素受体(AR), 遍布全身, 但主要存在于男性生殖器中, 是启动和维持精子发生的最主要因素之一[12]。精子发生过程中依赖睾酮的主要步骤称为精子发生, 即在精子发生的最后阶段, 精子细胞从圆形到细长的减数分裂后步骤[13]。

相关研究[14]表明在衰竭的睾丸组织、较大的 Leydig 细胞簇以及降低的血清 T/LH 比值之间有很强的相关性。Jiang YT 等研究[15]表示在无精子症患者中能获取精子的患者血清 T/LH 比值显著高于不能获得精子的患者, 表明血清 T/LH 比值与男性睾丸间质细胞功能受损及精子发生受损之间存在关联。相关研究[16]估计非梗阻性无精子症约有 20%到 30%的男性不育症患者存在低睾酮水平或高 LH 水平, LH 刺激精子生成的过程依靠睾丸内激素介导的睾酮, 而睾酮可抑制促性腺细胞中 FSH 和 LH 的释放, 最终抑制精子发生。其他研究表明卵泡刺激素升高、睾酮与黄体生成素的比值下降是患者生精功能严重衰竭的最常见表现[17], 较高的血清 FSH、较低的血清 T/LH 比值与 NOA 患者的睾丸病理组织严重程度相关[18]。

本研究使用血清 T/LH 比值区分梗阻性和非梗阻性无精子症患者的临界值 2.033, 敏感性为 96.6%, AUC 为 0.869。

由于 FSH 的分泌受到下丘脑 - 垂体 - 性腺轴正负反馈之间复杂的相互调节作用, 主要作用于睾丸的生精细胞和支持细胞, 直接启动精原细胞的有丝分裂, 刺激初级精母细胞的发育, 被认为是临床评估不育男性的重要指标[19]。根据下丘脑 - 垂体 - 性腺轴, FSH 和 LH 分泌的增加促进了 T 水平的增加, T 通过回路负反馈抑制 FSH 和 LH 的分泌, T/LH 调节精子发生和 FSH 的强激活, FSH 的血清水平可以反映机体生理和病理条件下垂体和睾丸的功能[20]。

表 1 可以看出, 梗阻性无精子症患者的平均血清 T/LH 比值 4.619 显著高于非梗阻性无精子症患者 2.174, 梗阻性无精子症的平均血清 FSH (5.30 mIU/mL)明显低于非梗阻性无精子症患者(24.07 mIU/mL), 此两项血清指标对于区分梗阻性和非梗阻性无精子症具有较高的临床应用价值。从表 3 可以得出血清 T/LH 比值在区分梗阻性和非梗阻性无精子症方面的敏感度为 96.6%, 血清 FSH 在区分梗阻性和非梗阻性无精子症方面的特异性为 99.2%。故临床上针对区分梗阻性和非梗阻性无精子症诊断时, 可将敏感度高的血清 T/LH 比值作为临床初筛指标, 特异性高的血清 FSH 水平作为确诊指标。该研究进行了结合血清 T/LH 比值和 FSH 水平结果来区分无精子症类型的新方法尝试, 与传统方法相比, 该方法具有无创和高效率的优点, 能减少患者痛苦。由于本研究范围仅限于本院诊疗患者, 具有一定的局限性, 还需要在不同中心和人群中进行较大样本量的研究来证实。

5. 结论

联合血清 T/LH 比值及血清 FSH 水平可用于睾丸穿刺前区分梗阻性和非梗阻性无精子症的诊断, 用敏感度高(96.6%)的血清 T/LH 比值指标 < 2.033 作为非梗阻性无精子症临床初筛, 特异性高(99.2%)的血清 FSH 指标 > 10.035 mIU/mL 作为非梗阻性无精子症的诊断, 可以在最大程度上避免不必要的睾丸穿刺。

基金项目

云南省生殖妇产疾病临床医学中心开放课题项目(2020LCZXKF-SZ12)。

参考文献

- [1] Mazzilli, R., Vaiarelli, A., Dovere, L., et al. (2022) Severe Male Factor in *in Vitro* Fertilization: Definition, Prevalence and Treatment. An Update. *Asian Journal of Andrology*, **24**, 125-134. https://doi.org/10.4103/aja.aja_53_21
- [2] 中国医师协会男科学分会无精子症诊疗专家共识编写委员会. 无精子症规范化诊疗专家共识精要[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(46): 3732-3736.
- [3] 宋明哲, 孙莹璞, 孙海翔, 等. 无精子症不育诊断和治疗中国专家共识[J]. 生殖医学杂志, 2023, 32(1): 9-18.
- [4] 中国医师协会生殖医学专业委员会生殖男科学组无精子症诊疗中国专家共识编写组. 无精子症诊疗中国专家共识[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2021, 41(7): 573-585.
- [5] Behre, H.M., Nashan, D. and Nieschlag, E. (1989) Objective Measurement of Testicular Volume by Ultrasonography: Evaluation of the Technique and Comparison with Orchidometer Estimates. *International Journal of Andrology*, **12**, 395-403. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1989.tb01328.x>
- [6] 谷翔群. WHO 人类精液检查与处理实验室手册第五版——相关精液参数的变化与热点问题解析[C]//中国性学会性医学专业委员会第七次全国医学学术会议. 中国性学会性医学专业委员会第七次全国医学学术会议论文集. 2011: 80-81.
- [7] Lotti, F. and Maggi, M. (2018) Sexual Dysfunction and Male Infertility. *Nature Reviews Urology*, **15**, 287-307. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2018.20>
- [8] Shiraishi, K. and Matsuyama, H. (2017) Gonadotropin Actions on Spermatogenesis and Hormonal Therapies for Spermatogenic Disorders [Review]. *Endocrine Journal*, **64**, 123-131. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ17-0001>

- [9] Ali, A., Derar, D.R., Zeitoun, M.M., *et al.* (2018) Impotentia Generandi in Male Dromedary Camels: FSH, LH and Testosterone Profiles and Their Association with Clinical Findings and Semen Analysis Data. *Theriogenology*, **120**, 98-104. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.07.036>
- [10] Caroppo, E., Colpi, E.M., D'amato, G., *et al.* (2019) Prediction Model for Testis Histology in Men with Non-Obstructive Azoospermia: Evidence for a Limited Predictive Role of Serum Follicle-Stimulating Hormone. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **36**, 2575-2582. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01613-8>
- [11] Manna, P.R., Dyson, M.T. and Stocco, D.M. (2009) Regulation of the Steroidogenic Acute Regulatory Protein Gene Expression: Present and Future Perspectives. *Molecular Human Reproduction*, **15**, 321-333. <https://doi.org/10.1093/molehr/gap025>
- [12] Matthiesson, K.L., Mclachlan, R.I., O'donnell, L., *et al.* (2006) The Relative Roles of Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone in Maintaining Spermatogonial Maturation and Spermiation in Normal Men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **91**, 3962-3969. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1145>
- [13] Mclachlan, R.I., O'donnell, L., Meachem, S.J., *et al.* (2002) Identification of Specific Sites of Hormonal Regulation in Spermatogenesis in Rats, Monkeys, and Man. *Recent Progress in Hormone Research*, **57**, 149-179. <https://doi.org/10.1210/rp.57.1.149>
- [14] Holm, M., Rajpert-de Meyts, E., Andersson, A.M. and Skakkebaek, N.E. (2003) Leydig Cell Micronodules Are a Common Finding in Testicular Biopsies from Men with Impaired Spermatogenesis and Are Associated with Decreased Testosterone/LH Ratio. *The Journal of Pathology*, **199**, 378-386. <https://doi.org/10.1002/path.1309>
- [15] Jiang, Y.T., Dong, Y., Yu, X.W., *et al.* (2014) Sperm Retrieval from Patients with Nonmosaic Klinefelter's Syndrome by Semen Cytology Examination. *Genetics and Molecular Research*, **13**, 1848-1854. <https://doi.org/10.4238/2014.March.17.12>
- [16] Xie, X., Guo, X., Li, F., Tan, W., Yin, W. and Chen, R. (2020) Genetic and Sex Hormone Analysis of Infertile Men. *Journal of International Medical Research*, **48**. <https://doi.org/10.1177/0300060519875893>
- [17] Lardone, M.C., Reyes, I.N., Ortiz, E., *et al.* (2021) Testicular Steroid Sulfatase Overexpression Is Associated With Leydig Cell Dysfunction in Primary Spermatogenic Failure. *Andrology*, **9**, 657-664. <https://doi.org/10.1111/andr.12950>
- [18] Kavoussi, P.K., Hudson, K., Machen, G.L., Barsky, M., Lebovic, D.I. and Kavoussi, S.K. (2021) FSH Levels and Testicular Volumes Are Associated with the Severity of Testicular Histopathology in Men with Non-Obstructive Azoospermia. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **38**, 3015-3018. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02313-y>
- [19] Oduwole, O.O., Peltoketo, H. and Huhtaniemi, I.T. (2018) Role of Follicle-Stimulating Hormone in Spermatogenesis. *Frontiers in Endocrinology*, **9**, Article 763. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00763>
- [20] Liu, Y., Wang, G., Zhang, F. and Dai, L. (2022) Correlation between Serum Levels of Reproductive Hormones and Testicular Spermatogenic Function in Men with Azoospermia. *Andrologia*, **54**, e14546. <https://doi.org/10.1111/and.14546>