

Virtual touch tissue imaging quantification applicated in testicular sperm aspiration of non-obstructive azoospermia

GU Yidong¹, WANG Luyun^{2*}, DENG Xuedong¹, YANG Shenmin², JIANG Wei¹

(1. Center of Ultrasound, 2. Center for Reproduction and Genetics, the Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou 215002, China)

[Abstract] **Objective** To observe the value of virtual touch tissue imaging quantification (VTIQ) applicated in testicular sperm aspiration (TESA) of non-obstructive azoospermia (NOS). **Methods** A total of 60 NOA patients were prospectively enrolled and randomly divided into VTIQ group and routine group (each $n=30$). TESA was performed on the area with the minimum shear wave velocity (SWV) shown with VTIQ of VTIQ group and the thickest part of middle testis of routine group. The obtaining rates of sperm were compared between 2 groups, and the value of VTIQ for TESA was analyzed. **Results** There was no significant difference of patients' age, the years of infertility, testicular volume, follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), testosterone (T), estradiol (E_2) nor anti-Müllerian hormone (AMH) between groups (all $P>0.05$), while the total obtaining rate of sperm of VTIQ group was significant higher than that of routine group ($\chi^2=6.79$, $P<0.05$). SWV at the testicular puncture point of successful TESA for obtaining sperm was (1.44 ± 0.31) m/s. Taken SWV=1.63 m/s as the cut-off value, the Youden index of selecting the optimal puncture point of TESA for testis was 0.75, the sensitivity and specificity was 91.70% and 83.30%, respectively. **Conclusion** VTIQ was helpful for evaluating the elasticity of testicular tissue of NOA patients and selecting the optimal puncture point of testis before TESA.

[Keywords] azoospermia; infertility; male; testis; ultrasonography; elasticity imaging techniques

DOI:10.13929/j.issn.1672-8475.2022.11.006

声触诊组织成像定量技术用于非梗阻性无精子症睾丸精子抽吸术

顾怡栋¹, 汪璐璐^{2*}, 邓学东¹, 杨慎敏², 姜 伟¹

(1. 南京医科大学附属苏州医院 苏州市立医院超声中心, 2. 生殖与遗传中心, 江苏 苏州 215002)

[摘要] **目的** 观察声触诊组织成像定量(VTIQ)技术用于非梗阻性无精子症(NOA)睾丸精子抽吸术(TESA)的价值。**方法** 前瞻性纳入 60 例 NOA 患者,随机分为 VTIQ 组和常规组,每组 30 例;选择于 VTIQ 组 VTIQ 示睾丸剪切波速度(SWV)最小处和常规组睾丸中部最厚处行 TESA,观察组间获精率差异,分析 VTIQ 用于 TESA 的价值。**结果** 组间患者年龄、不育年限、睾丸体积、促卵泡激素(FSH)、促黄体生成激素(LH)、睾酮(T)、雌二醇(E_2)及抗米勒管激素(AMH)差异均无统计学意义(P 均 >0.05);VTIQ 组总获精率显著高于常规组($\chi^2=6.79$, $P<0.05$)。VTIQ 组获精处睾丸穿刺点的 SWV 为 (1.44 ± 0.31) m/s;以 SWV=1.63 m/s 为截断值,选择睾丸最优穿刺点行 TESA 的约登指数为 0.75,敏感度和特异度分别为 91.70% 和 83.30%。**结论** VTIQ 有助于 TESA 前评估 NOA 患者睾丸组织弹性及选择最优穿刺点。

[关键词] 无精子症;不育,男性;睾丸;超声检查;弹性成像技术

[中图分类号] R697.4; R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-8475(2022)11-0697-04

[基金项目] 南京医科大学科技发展基金(NMUB20210279)。

[第一作者] 顾怡栋(1985—),男,江苏常州人,硕士,副主任医师。研究方向:不孕不育症的超声诊断。E-mail: guyidong850820@aliyun.com

[通信作者] 汪璐璐,南京医科大学附属苏州医院 苏州市立医院生殖与遗传中心,215002。E-mail: luyunwang123@163.com

[收稿日期] 2022-06-22 **[修回日期]** 2022-08-08

非梗阻性无精子症 (non-obstructive azoospermia, NOA) 与睾丸生精功能衰竭导致精子生成障碍有关^[1], 且致病因素较多, 治疗较为困难。利用卵泡浆内单精子注射 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) 技术可通过仅获取 1 个精子并将其注入卵细胞胞质内而完成受精。睾丸切开取精术 (testicular sperm extraction, TESE)、显微镜下 TESE (microdissection TESE, MD-TESE) 及睾丸精子抽吸术 (testicular sperm aspiration, TESA) 等均可基于睾丸中可能仍存在的局灶性生精区域^[2] 获取 NOA 患者精子。声触诊组织成像定量 (virtual touch tissue imaging quantification, VTIQ) 兼具声触诊组织成像 (virtual touch tissue imaging, VTI) 和声触诊组织定量 (virtual touch tissue quantification, VTQ) 两种传统超声弹性成像技术的优势, 通过获取组织局部剪切波速度 (shear wave velocity, SWV) 进行成像, 能够客观反映组织内部弹性变化, 有助于术前评估 NOA 患者睾丸内局灶性生精区域。本研究观察 VTIQ 用于 NOA TESA 的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 前瞻性纳入 2018 年 1 月—2021 年 12 月南京医科大学附属苏州医院 60 例 NOA 患者, 年龄 23~44 岁、平均 (30.2±3.1) 岁, 不育年限 (未避孕时间) 1~9 年、平均 (3.14±1.74) 年; 随机分为 VTIQ 组和常规组, 每组 30 例。纳入标准^[3-4]: ①接受 2 次及以上精液检查, 且离心镜检均未见明显精子; ②至少一侧睾丸体积 ≥6.00 ml; ③染色体核型分析未见明显遗传学异常; ④Y 染色体微缺失筛查未见明显异常。排除标准^[5-6]: ①精索静脉曲张; ②隐睾; ③既往睾丸炎或附睾炎史; ④既往睾丸外伤或睾丸手术史; ⑤睾丸肿瘤及放射、化学治疗史; ⑥隐匿性无精子症。本研究获院伦理委员会批准 (KL901310); 患者均签署知情同意书。

1.2 仪器与方法 采用 Siemens Acuson Oxana 3 超声诊断仪, 内置 VTIQ 技术软件, 9L4 线阵探头、频率 4~9 MHz。

1.2.1 超声检查 嘱患者仰卧, 一手上提阴茎以充分暴露阴囊, 另一手托住阴囊, 使其保持相对稳定。于睾丸最大纵断面及最大横断面测量其径线, 并根据 Lambert 公式^[7] 计算睾丸体积; 选择较大侧睾丸, 将其体积分为

6.00~8.00 ml、8.01~10.00 ml 及 ≥10.01 ml 共 3 类, 嘱患者平静呼吸, 避免探头对睾丸过度施压, 点击 “Dual” 键进行双幅对照, 获取 VTIQ 图像; 于质量模式最优 (均匀分布的蓝色代表组织硬度最小) 条件下切换至 VTIQ 速度模式, 并于睾丸最大纵断面测量其上、中、下极实质内质量最优区域 SWV, 测量取样范围为 1 mm×1 mm^[8]。

1.2.2 TESA 嘱患者仰卧, 以 2% 利多卡因行精索内神经阻滞麻醉; 选择体积较大侧 (双侧体积相同时选择右侧) 睾丸, 采用 20 ml 一次性侧孔针作为穿刺针, 在超声引导下于 VTIQ 组 SWV 最小区域及常规组睾丸中部最厚处行 TESA; 于相同位置取精 2 次, 分别保存于含有精子培养液的培养皿中, 送胚胎实验室行镜检、固定于 Bouin 液中送病理科行组织学检查, 并以镜检及组织学检查均可见精子为 TESA 获精成功。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 23.0 统计分析软件。以 $\bar{x} \pm s$ 表示计量资料, 组间行 *t* 检验; 采用 χ^2 检验比较计数资料。绘制受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线, 分析 SWV 选择睾丸最优取精穿刺点的价值。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

组间患者年龄、不育年限、最大睾丸体积、促卵泡激素 (follicle-stimulating hormone, FSH)、促黄体生成激素 (luteinizing hormone, LH)、睾酮 (testosterone, T)、雌二醇 (estradiol, E₂) 及抗米勒管激素 (anti-Müllerian hormone, AMH) 差异均无统计学意义 (P 均 >0.05); VTIQ 组 TESA 总获精率显著高于常规组 (P=0.01), 体积为 8.01~10.00 ml 睾丸的获精率高于常规组 (P=0.01), 见表 1。

VTIQ 组获精睾丸穿刺点 SWV 为 (1.44±0.31) m/s; 以 SWV=1.63 m/s 为截断值选择 TESA 睾丸最优穿刺点的约登指数为 0.75, 敏感度和特异度分别为 91.70% 和 83.30%。见图 1~4。

3 讨论

NOA 是由遗传性或先天性异常、后天感染、生殖

表 1 TESA 于 VTIQ 组和常规组获精率 [% (例)]

组别	睾丸体积 (ml)			合计
	6.00~8.00	8.01~10.00	≥10.01	
VTIQ 组 (n=30)	57.14 (4/7)	63.16 (12/19)	50.00 (2/4)	60.00 (18/30)
常规组 (n=30)	25.00 (2/8)	22.22 (4/18)	50.00 (2/4)	26.67 (8/30)
χ^2 值	1.61	6.31	—	6.79
P 值	0.21	0.01	—	0.01

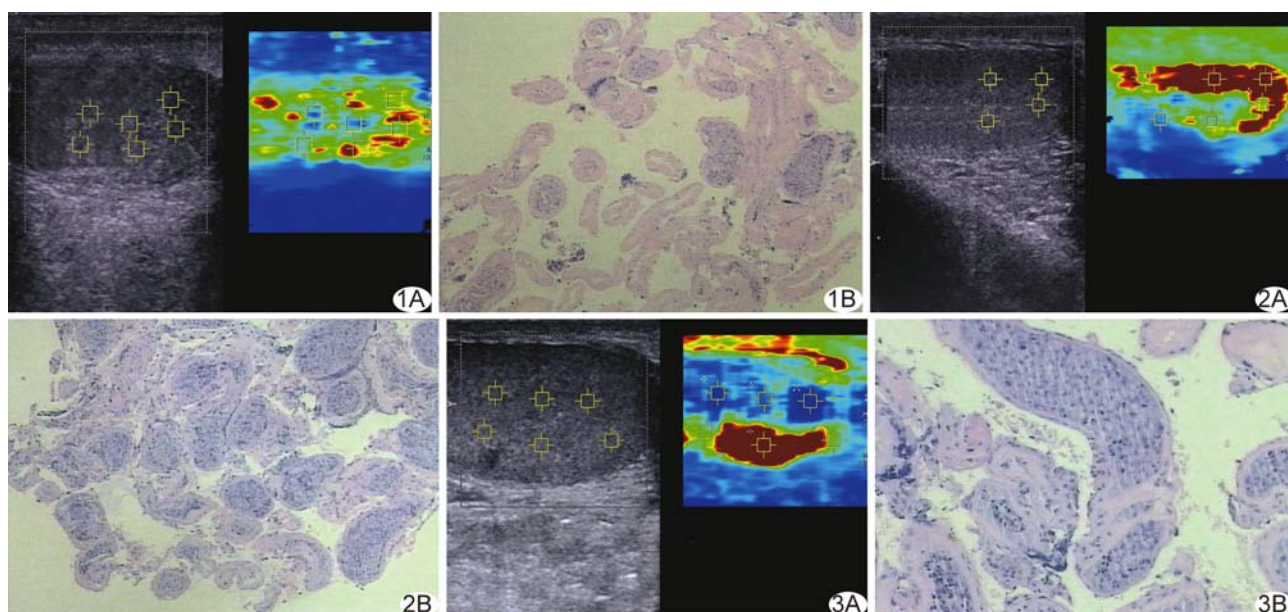


图1 NOA患者,28岁,VTIQ组 A.最大纵切面声像图示右侧睾丸(体积6.93 ml)SWV最小值为2.19 m/s; B.病理图(HE,×200)示曲细精管管壁增厚,70%曲细精管管腔内细胞缺如,30%管腔内见支持细胞、少许生精细胞及个别精子细胞 图2 NOA患者,35岁,VTIQ组 A.最大纵切面声像图示右侧睾丸(体积9.82 ml)SWV最小值为1.91 m/s; B.病理图(HE,×200)示大部分曲细精管管腔内见支持细胞及各级生精细胞,少部分管腔内见精子细胞,部分管腔内支持细胞和各级生精细胞缺如 图3 NOA患者,29岁,VTIQ组 A.最大纵切面声像图示左侧睾丸(体积10.38 ml)SWV最小值为1.21 m/s; B.病理图(HE,×200)示部分曲细精管管腔内见支持细胞及少量各级生精细胞,少部分管腔内见精子细胞,部分管腔内支持细胞和各级生精细胞缺如

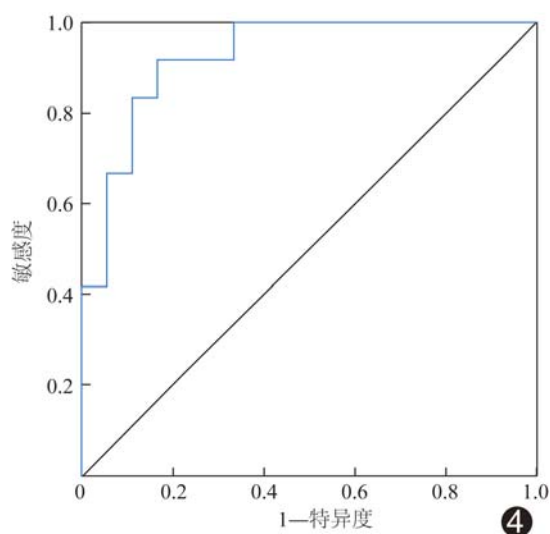


图4 以1.63 m/s为SWV阈值选择TESA最佳穿刺点的ROC曲线

腺病毒暴露、创伤、内分泌系统疾病或特发性疾病等多种因素导致的睾丸生精功能障碍,尤以特发性疾病最为常见^[9]。研究^[9]发现,NOA患者的睾丸仍可能存在局灶性生精中心,这为通过睾丸精子提取技术及ICSI助其获得生育遗传学后代提供了可能。

睾丸精子提取技术包括TESE、MD-TESE及TESA等。TESE创伤较大,且存在术后发生睾丸萎缩、睾丸组织纤维化、性功能减退等并发症风险。MD-

TESE针对性强、所需睾丸组织较少,可在对组织损伤较小的前提下提高获精率,但对医师技术水平要求较高,且仍无法避免术后并发症。TESA操作简单、损伤较小,术后并发症亦较少,但获精率仅为10%~30%^[10]。

评价睾丸生精功能的指标包括年龄、睾丸体积、睾丸组织硬度、FSH、LH、T、E₂及AMH等^[4,11-13]。本研究中VTIQ组与常规组患者年龄、不育年限、最大睾丸体积、FSH、LH、T、E₂及AMH差异均无统计学意义。睾丸组织SWV随年龄增长而升高^[13]。睾丸主要由不同发育阶段的生精细胞、支持细胞和间质细胞构成,故睾丸体积可在一定程度上反映性腺发育水平和生精储备能力^[12]。下丘脑-垂体-睾丸性腺轴中,FSH作用于支持细胞,促进生精细胞分化为成熟精子;LH则促进间质细胞分泌T,与前者产生协同作用;FSH和LH分泌过度则引发负反馈调节,以抑制睾丸生精功能^[6];AMH则由睾丸支持细胞分泌,具有促进精子早期成熟的作用^[12]。

睾丸生精功能分为5级,依次为生精正常、生精减少、生精阻滞、唯支持细胞综合征及精曲小管玻璃样变性。弹性成像技术可通过评估睾丸硬度而反映其生精功能:随着生精功能下降,精曲小管直径及生精上皮高

度降低而固有层厚度逐渐增加,导致精曲小管于受压后形变减少,其实时组织弹性成像评分增高。作为第三代 SWV 成像技术,VTIQ 可通过计算脉冲声束激发组织横向位移的 SWV 定量分析组织弹性变化特征,进一步反映睾丸硬度^[14]。

既往研究^[10]报道,TESA 获精率仅为 10%~30%。本研究光镜下 VTIQ 组 4 例获精成功的体积为 6.00~8.00 ml 的睾丸曲细精管管壁增厚,大部分曲细精管腔内细胞缺如,少部分管腔内见支持细胞、少许生精细胞及个别精子细胞;而获精成功的体积为 8.01~10.00 ml 的睾丸光镜下见大部分曲细精管腔内存在支持细胞及各级生精细胞,少部分管腔内可见精子细胞,另有部分管腔内支持细胞和各级生精细胞缺如,提示睾丸内仍存在局灶性生精中心。本研究常规组 TESA 获精率 26.67%,而 VTIQ 组达 60.00%;VTIQ 组总获精率显著高于常规组,且对体积为 8.01~10.00 ml 以上睾丸的获精率亦高于常规组,提示 VTIQ 有助于提高 TESA 获精率。本研究 2 组 TESA 对体积 ≥ 10.01 ml 睾丸的获精率均为 50% (2/4),分析原因,可能在于:①1 例 VTIQ 组 TESA 取精后胚胎实验室镜检未见明显精子、病理科组织学检查可见精子,故未归为获精成功;②体积较大睾丸的生精功能可能相对较好;③样本量过小。

邝斌等^[13]采用 VTIQ 技术评估 200 名正常男性睾丸生精功能,发现其双侧睾丸平均 SWV 为 (1.23 ± 0.18) m/s。本研究 VTIQ 组睾丸穿刺点的平均 SWV 为 (1.44 ± 0.31) m/s,与上述报道结果接近;以 SWV=1.63 m/s 选择 TESA 睾丸最佳穿刺点的约登指数为 0.75,敏感度和特异度分别为 91.70% 和 83.30%。

综上所述,VTIQ 有助于 TESA 前评估 NOA 患者睾丸组织弹性及选择最佳穿刺点。但本研究样本量小,且睾丸体积与性腺发育水平和生精储备能力有关^[12],有待后续进一步深入分析。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] 孙建华,周梁,季兴哲,等. ICSI 周期显微镜下睾丸切开取精术治疗非梗阻性无精子症的临床研究[J]. 生殖医学杂志, 2019, 28(2):129-133.
- [3] 平萍,陈向锋,王鸿翔,等. 显微外科技术在男性不育症治疗中的应用及疗效分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2015, 7(1):20-22.
- [4] 吕仁华,李凤华,杜晶,等. 实时超声弹性成像应变比值对非梗阻性无精子症手术取精结果的预测价值[J]. 中国男科学杂志, 2014, 27(4):35-38.
- [5] 毛加明,刘德凤,赵连明,等. 睾丸穿刺活检对特发性非梗阻性无精子症患者显微取精成功率的影响[J]. 北京大学学报(医学版), 2018, 50(4):613-616.
- [6] 李定明,蒋小辉,岳焕勋,等. 非梗阻性无精子症患者睾丸体积、生殖激素水平对睾丸细针穿刺取精结果的预测[J]. 成都医学院学报, 2018, 13(4):436-438.
- [7] 张天义,侯曼曼,李井平,等. 实时剪切波弹性成像技术在急性睾丸扭转固定术预后评价中的应用[J]. 医学影像学杂志, 2018, 28(7):1167-1170.
- [8] 詹嘉,刘迎春,陈悦,等. 声触诊组织成像和定量技术鉴别诊断乳腺肿块良恶性的初步探讨[J]. 中国临床医学影像杂志, 2017, 28(6):405-407, 415.
- [9] 陈超,张剑飞,马静,等. 显微镜下睾丸切开取精术治疗非梗阻性无精子症临床效果[J]. 中国计划生育学杂志, 2020, 28(3):385-389.
- [10] BELIVEAU M E, TUREK P J. The value of testicular 'mapping' in men with non-obstructive azoospermia[J]. Asian J Androl, 2011, 13(2):225-230.
- [11] 周雨. 影响显微镜下睾丸切开取精成功率的因素[J]. 中国男科学杂志, 2019, 33(1):65-67.
- [12] 白双勇,王莉,章晓梅,等. 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[J]. 中国生育健康杂志, 2019, 30(1):64-67.
- [13] 邝斌,李明星. 声触诊组织成像定量技术评价正常成人睾丸生精功能[J]. 中国医学影像技术, 2019, 35(1):117-120.
- [14] PISCAGLIA F, SALVATORE V, Di DONATO R, et al. Accuracy of virtual touch acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging for the diagnosis of cirrhosis during liver ultrasonography[J]. Ultraschall Med, 2011, 32(2):167-175.