DOI:10.16016/j.2097-0927.202208194

显微镜下睾丸切开取精术在非梗阻性无精子症助孕治疗中的应用

洪 伟,王 莹,朱 琳,刘俊璇,曾继涛,上官陶,陈绪富,何 畏 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院生殖医学中心

[摘要] **目的** 评估显微镜下睾丸切开取精术(microdissection testicular sperm extraction,MD-TESE)在非梗阻性无精子症(non-obstructive azoospermia,NOA)助孕治疗中的价值及其安全性。**方法** 回顾性分析2017年7月1日至2022年3月15日在我中心确诊为NOA的患者,共176例,根据选择取精方式的不同分为MD-TESE和睾丸穿刺取精术(testicular sperm aspiration,TESA)。比较两种取精方式的手术时间、术中出血量、血肿形成等并发症、精子获得率(sperm retrieval rate,SRR)以及体外受精的临床结局。**结果** 两组患者的年龄、体质量指数(body mass index,BMI)、睾丸体积、睾酮(testosterone,T)、促黄体生成素(luteinizing hormone,LH)、抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone,AMH)、促卵泡生成素(follicle-stimulating hormone,FSH)等无明显差异($P>0.05$);MD-TESE组的手术时间明显长于TESA组($P<0.001$);MD-TESE组术后睾丸血肿发生率为2.4%(1/42),略低于TESA组7.5%(10/134);两组均无术后感染。MD-TESE组的SRR为38.1%(16/42),显著高于TESA组的9.0%(12/134,$P<0.001$)。两组获得的精子用于卵胞浆内单精子显微注射技术(intracytoplasmic sperm infecting,ICSI)助孕治疗,MD-TESE组受精率、卵裂率、临床妊娠率分别为65.1%、93.9%和50.0%,TESA组受精率、卵裂率、临床妊娠率分别为58.3%、71.4%和50.0%,两组平均疗效无明显差别。**结论** MD-TESE安全有效,尤其适合于隐睾、病毒性睾丸炎以及Y染色体AZFc缺失等有迫切希望生育自身遗传背景的子代的无精子症患者。

[关键词] 非梗阻性无精子症;显微镜下睾丸切开取精术;经皮睾丸穿刺取精术;精子获得率;手术并发症

[中图法分类号] R697.22;R698.2;R713.7 [文献标志码] A

Application of microdissection testicular sperm extraction for patients with non-obstructive azoospermia

HONG Wei, WANG Ying, ZHU Lin, LIU Junxuan, ZENG Jitao, SHANGGUAN Tao, CHEN Xufu, HE Wei Center for Reproductive Medicine, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] Objective To investigate the value and safety of microdissection testicular sperm extraction (MD-TESE) for patients with non-obstructive azoospermia (NOA). Methods A retrospective analysis study of 176 NOA patients diagnosed in our center from July 1, 2017 to March 15, 2022. According to sperm retrieval methods, they were divided into MD-TESE group and testicular sperm aspiration (TESA) group. The time of procedure, intra-operative bleeding, surgical complications (such as hematoma), sperm retrieval rate (SRR) and clinical outcome of *in vitro* fertilization were compared between the 2 groups. Results There were no significant differences between the 2 groups in age, body mass index (BMI),

[基金项目] 军事医学与战创伤救治临床新技术计划(SWH2016BZGFKJ-09)

[通信作者] 何 畏,E-mail:anyhewei@163.com

2097-0927/Copyright © 2023, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

testicular volume, and levels of testosterone (T), luteinizing hormone (LH), anti-Müllerian hormone (AMH) and follicle-stimulating hormone (FSH) ($P>0.05$). The MD-TESE group had obviously longer operation time ($P<0.001$) and lower incidence of testicular hematoma rate[2.4% (1/42) *vs* 7.5% (10/134)] than the TESA group. No infections were observed in either group. SRR was significantly higher in MD-TESE group than the TESA group[38.1% (16/42) *vs* 9.0% (12/134), $P<0.001$]. When the obtained sperms were used in intracytoplasmic sperm injection (ICSI), no obvious differences were seen in the fertilization rate, cleavage rate, and clinical pregnancy rate between the MD-TESE group and TESA group (65.1% *vs* 58.3%, 93.9% *vs* 71.4%, 50.0% *vs* 50.0%). **Conclusion** MD-TESE is a safe and effective method for sperm retrieval in NOA patients, especially in those with cryptorchidism, viral orchitis and Y-chromosome AZFc microdeletions.

[**Key words**] non-obstructive azoospermia; microdissection testicular sperm extraction; testicular sperm extraction; sperm retrieval rate; surgical complications

Supported by the Clinical New Technology Plan for Military Medicine and War Trauma Rescue and Treatment (SWH2016BZGFKJ-09). Corresponding author: HE Wei, E-mail: anyhewei@163.com

无精子症是一种严重的男性不育症,约占不育人群的15%[1],根据输精管道是否梗阻,分为梗阻性无精子症(obstractive azoospermia,OA)和非梗阻性无精子症(non-obstractive azoospermia,NOA)。NOA又称为睾丸性无精子症,即睾丸不能产生精子或者生精能力低下,导致外周精液中没有精子,在无精子症的构成中占60%~70%[2]。NOA患者需要通过睾丸手术取精、并借助卵胞浆内单精子显微注射(intracytoplasmic sperm injection,ICSI)等辅助生殖助孕技术获得自身遗传背景的后代[3]。一旦手术取精失败,则只能采取供精或领养方式解决生育难题。

常用的经睾丸手术取精的术式有睾丸穿刺取精术(testicular sperm aspiration,TESA)和睾丸切开取精术(testicular sperm extraction,TESE)等。TESA操作简单,时间短,但穿刺点选择多凭经验,具有一定的盲目性,精子获得率(sperm retrieval rate,SRR)受限。TESE操作复杂,需切开阴囊皮肤、白膜,操作相对繁琐,用时较长,切面选择上因肉眼观察同样存在一定的盲目性。近年来,随着手术机械的改进与操作者技巧探索的深入,显微镜下睾丸切开取精术(microdissection testicular sperm extraction,MD-TESE)逐渐成为NOA的新术式。为充分比较TESA和MD-TESE两种术式在NOA患者中的应用利弊,本研究采取回顾性分析的方法,评估两种术式来源的精子对NOA助孕结局的影响,以期为生殖中心根据自身男科手术特点,选择开展针对NOA的新的诊治手段提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2017年7月1日至2022年3月15日在陆军军医大学第一附属医院生殖医学中心共收治无精子症共计297例,所有患者接受至少3次间断取精,且精液常规及离心沉淀后显微镜下均未见精子。基于患者个人病史、体格检查、生殖内分泌检测、影像学检查、Y染色体微缺失等检查结果,排除不射精、逆行射精、先天性输精管缺如、生殖道炎症后、疝气修补术后及输精管结扎术后所致的医源性精道梗阻、Y染色体AZFa、b段微缺失等情况,并经睾丸活检病理学检查证实为NOA者204例。去除凝血功能异常、合并传染病等情况后,最终纳入经知情同意选择接受手术取精治疗的患者176例。

根据术式不同,将NOA患者分为两组。①睾丸穿刺取精术组(TESA组):134例,其中原发性睾丸生精障碍104例,隐睾5例,其中有3例双侧隐睾,在青春期后行下降固定术;1例为左侧隐睾,右侧影像学未查找到睾丸组织;1例是左侧隐睾,体积5 mL左右,在5岁时行下降固定术,右侧睾丸体积4~5 mL,质地软。Y-AZFc微缺失13例,非嵌合型克氏综合征7例,病毒性睾丸炎3例,低促性腺激素性性腺功能减退症(hypogonadotropic hypogonadism,HH)2例。②显微镜下睾丸切开取精术(MD-TESE组):42例,其中原发性睾丸生精障碍29例,隐睾3例,Y-AZFc微缺失6例,病毒性睾丸炎1例,非嵌合型克氏综合征3例。所有患者术前签署知情同意书,且本研究已通过陆军军医大学第一附属医院医学伦理委员会审批[伦理编号:(B)KY2021181]。

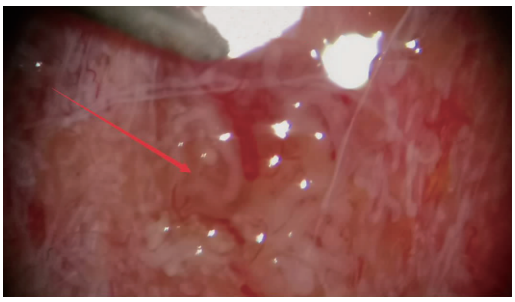
检测项目:①超声测量睾丸体积,运用兰伯特经验公式[4]为睾丸体积(cm^3)=长径(cm)×宽径(cm)×厚径(cm)×0.71。②血清生殖内分泌激素检查,包括

促卵泡生长素(follicle-stimulating hormone,FSH)、促黄体生成素(luteinizing hormone,LH)、睾酮(testosterone,T)、抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone,AMH);方法为化学发光法,检测机器为:BIO-RAD,IMARK。

1.2 手术方法

1.2.1 睾丸穿刺取精术(TESA) 患者取截石位,术区严格消毒、铺巾后,以2%利多卡因3~5 mL行精索外环口环形麻醉和睾丸穿刺点阴囊皮下局部浸润麻醉3~5 min后,以0.7 mm的蝶形针穿刺进入睾丸实质,在20 mL空针负压下抽吸曲细精管,如果细针穿刺抽吸困难,改换粗针穿刺抽吸。经胚胎室处理后观察有精子,停止穿刺;若无精子,继续其他点位穿刺,单侧不超过4点,双侧不超过6点。

1.2.2 显微镜下睾丸切开取精术(MD-TESE) 患者取平卧位,导尿,留置尿管和引流袋。气管插管全身麻醉成功后,术区严格消毒后铺巾,沿着阴囊中隔作长3~4 cm的纵向切口,将阴囊各层筋膜切开,显露睾丸。在手术显微镜(成都科奥达,型号ASOM-610)放大6倍数下观察睾丸表面无血管区,沿睾丸赤道线将白膜横形切开约周径3/4,双极电凝止血后,阻断横过的血管。止血毕,将睾丸沿切口轻柔掰开分离为上下半球;在放大6~15倍手术显微镜下用显微镊轻柔分离曲细精管,并选择相对较粗、饱满的曲细精管,如图1所示送检。如未发现精子,则进一步探查睾丸其他部位;若一侧睾丸内未发现精子,同法探查对侧睾丸。术毕,5-0可吸收线间断缝合睾丸白膜,并依次缝合阴囊各层筋膜,缝合阴囊皮肤,敷料加压包扎。



↑:示存在精子的曲细精管

图1 手术显微镜下可见的曲细精管(×15)

1.3 精子获取及处理

将TESA或MD-TESE获取的曲细精管置于提前预热的精子处理液中,用1 mL无菌注射器在倒置显微镜下划碎组织,使精子自然分离出,观察有无精子。若有精子,收集含有精子处理液,400×g离心10 min,仅保留少量上清液,置于37 ℃培养箱内孵育待行ICSI。

1.4 取卵、卵胞浆内单精子显微注射(ICSI)、移植及观察指标

接受人类辅助生殖助孕治疗的夫妇,将同期根据妻子的年龄与卵巢储备功能状况实施控制性超促排治疗,主要方案为GnRHa长方案和拮抗剂方案。当主导卵泡中≥18 mm卵泡2个以上时给予绒促性素和/或GnRha扳机,并于扳机后36 h行超声引导下经阴道取卵术;取卵当天NOA丈夫行TESA或MD-TESE。

①成功获得精子者,扳机后40~41 h行ICSI,并于ICSI受精后定期观察原核、卵裂情况等,第3天时选择优质卵裂期胚胎1~2枚移植到妻子的宫腔内,常规黄体支持。移植14 d检测血人绒毛膜促性腺激素(chorionic gonadotropin,β-hCG),若确定为生化妊娠,则继续黄体支持至4周后B超检查,以宫腔内见妊娠囊及胎心为临床妊娠。②未获得精子者,根据患者夫妇意愿可选择冻存卵母细胞,同时本次治疗结束。

1.5 统计学分析

采用SPSS 25.0软件进行统计学分析。对于计量资料,符合正态分布的数据以$\bar{x}\pm s$表示,组间比较采用t检验;非正态分布的数据以中位数[$M(P_{25},P_{75})$]表示,组间比较采用Mann-Whitney U秩和检验。计数资料以频率(%)表示,组间比较采用χ^2检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

本研究共纳入176例非梗阻性无精症患者,其中MD-TESE组42例,TESA组134例。两组患者年龄、睾丸体积、体质量指数(body mass index,BMI)、LH、AMH、T、FSH等差异均无统计学意义($P>0.05$,表1)。

2.2 不同术式患者的病因学构成与精子获得率(SRR)比较

42例MD-TESE组中16例成功获得精子,分别是原发性睾丸生精障碍(11/29)、Y-AZFc缺失(2/6)、隐睾(2/3)、病毒性睾丸炎(1/1)。134例TESA组中成功获得精子共12例,分别是原发性睾丸生精障碍(9/104)、隐睾(1/5)、Y-AZFc微缺失(2/13)。MD-TESE组总SRR(38.1%,16/42)显著高于TESA组(9.0%,12/134),两组差异有统计学意义($P<0.001$),见表2。

表 1 两种手术方式患者一般资料的比较[$\bar{x}\pm s$, $M(P_{25},P_{75})$]

项目	MD-TESE 组(n=42)	TESA 组(n=134)	t/U 值	P 值
年龄/岁	32.05±3.66	31.71±4.48	0.428	0.669
BMI/kg·m^{-2}	24.20±0.47	23.86±0.26	0.629	0.526
T/ng·mL^{-1}	3.94±1.22	3.93±1.76	−0.043	0.966
FSH/IU·L^{-1}	22.20(11.76,36.60)	18.72(10.81,25.37)	2.105	0.060
LH/IU·L^{-1}	8.49(5.36,12.01)	6.62(4.75,9.74)	2.137	0.052
AMH/pg·mL^{-1}	4.28(2.04,5.71)	2.89(2.23,10.07)	−0.215	0.835
睾丸体积/mL	10.23±3.92	10.69±3.99	0.626	0.532

BMI:体质量指数;T:睾酮;FSH:促卵泡生长素;LH:促黄体生成素;AMH:抗苗勒管激素

表 2 两组病因学构成与获精率比较

病因学构成	MD-TESE 组		TESA 组		χ^2 值	P 值
	手术例数(n=42)	获精率(SRR)	手术例数(n=134)	获精率(SRR)		
原发性睾丸生精障碍	29	11(37.9%)	104	9(8.7%)	−	−
隐睾	3	2(66.7%)	5	1(20.0%)	−	−
病毒性睾丸炎	1	1(100.0%)	3	0	−	−
Y-AZFc	6	2(33.3%)	13	2(15.4%)	−	−
克氏综合征	3	0	7	0	−	−
HH	0	0	2	0	−	−
总体	42	16(38.1%)	134	12(9.0%)	14.823	<0.001

2.3 两组手术安全性比较

所有纳入研究的 NOA 患者在门诊手术。MD-TESE 手术用时(114.87±6.65)min 和术中出血(2.24±0.12)mL,均高于 TESA 组的(8.90±0.24)min 和(0.23±0.01)mL,差异具有统计学意义(P<0.001)。血肿形成率中,MD-TESE 组较 TESA 组低,但无统计学意义(2.4% *vs* 7.5%,P=0.453),两组均无术后感染、睾丸萎缩、术后勃起功能下降等并发症。见表 3。

表 3 两种手术方式安全性比较[$\bar{x}\pm s$, 例(%)]

组别	n	手术时间/min	术中出血/mL	血肿形成	术后感染
MD-TESE 组	42	114.87±6.65	2.24±0.12	1(2.4)	0
TESA 组	134	8.90±0.24	0.23±0.01	10(7.5)	0
t/χ^2 值		15.927	17.284	1.175	−
P 值		<0.001	<0.001	0.453	−

2.4 两组患者胚胎及配偶 ICSI 临床结局比较

TESA 组 134 例 NOA 患者中 12 例获得精子:1 例隐睾获得 2 条不活动的畸形精子、2 例 Y 染色体 AZFc 缺失获得 2~3 条不活动的畸形精子;9 例特发性 NOA 患者中有 7 例均获得 1~3 条不活动的畸形精子,均无法行 ICSI 治疗,其女方卵母细胞进行冷冻保存。有 2 例特发性 NOA 患者(16.67%)见形态正常的活动精子,行 ICSI 治疗,受精率:58.3%,卵裂率:71.4%,移植 2 例,持续妊娠并顺利活产 1 例。MD-TESE 组 42 例 NOA 患者中有 16 例获得精子,除其中 2 例特发性 NOA 患者获得 1~2 条不活动的畸形精子,不能行 ICSI 治疗外,其他 14 例均有形态正常活动精子行 ICSI 治疗,受精率:65.1%,卵裂率:93.9%,目前已进行胚胎移植 8 例,生化妊娠 6 例(75.0%),临床妊娠 4 例(50.0%),见表 4。

表 4 不同手术方式组患者胚胎及临床结局比较

项目	TESA 组	MD-TESE 组
获得精子例数	12	16
行 ICSI 周期例数	2	14
MII 卵数	12	126
受精率	58.3%(7/12)	65.1%(82/126)
卵裂率	71.4%(5/7)	93.9%(77/82)
生化妊娠率	50%(1/2)	75%(6/8)
临床妊娠率	50%(1/2)	50.0%(4/8)

受精率=(2PN 卵数/MII 卵数)×100%;卵裂率=(2PN 卵裂胚胎数/2PN 卵数)×100%

3 讨论

非梗阻性无精子症(NOA)病因复杂,分为先天性因素(如克氏综合征、Y 染色体 AZF 微缺失、特定的基

因突变、隐睾等)或后天获得性因素(如高温、辐射、放化疗、腮腺炎病毒感染、严重精索静脉曲张或继发下丘脑、垂体疾病等)[5]。目前对于低促性腺激素性性腺功能减退(HH)所致的 NOA,可以选择促性腺激素[hCG + 人绝经期促性腺激素(human menopausal gonadotropin, hMG)]或促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)等治疗[6],部分患者可成功获得精子[7]。对于高促性腺激素性 NOA 患者,预示睾丸生精功能衰竭,可选择治疗方式有限,除手术取精外,只能接受供精或领养。

NOA 的睾丸中存在不同阻滞阶段的精子,因此,睾丸内局部区域可能存在灶状的生精现象[5],为手术取精提供了前提。经皮睾丸穿刺取精术(TESA)操作简单、快捷,但系盲法操作,手术医师仅凭经验在不可预知的生精区域穿刺[8],精子获得率(SRR)较低。MD-TESE 则借助手术显微镜在高倍镜下对睾丸生精灶彻底探查,因显著提高了 SRR 而被推荐开展,但因手术操作复杂,手术时间与创面出血均增加,在广泛应用前有必要做技术操作的训练。我中心在 2020 年以前主要以 TESA 为主,总的 SRR 仅为 9%。2020 年后采用 MD-TESE,42 例患者中 16 例获得精子(38.1%),其 SRR 显著高于 TESA 组(9.0%);MD-TESE 组中大多数成功获得的精子可用于 ICSI 治疗(14/16,87.5%),也明显高于 TESA 组(2/12,16.67%);提示 MD-TESE 组的 ICSI 助孕结局较好,这与文献报告的结果相似[9]。同时,本研究中所有患者采取夫妇同步手术,即 NOA 患者手术取精当天,其配偶经阴道取卵;成功获得的新鲜精子直接用于 ICSI;若未获得精子则行卵母细胞冻存。优点在于避免非必要的二次手术取精;缺点为较高的冻卵或供精的比例。

本研究中两种术式出血量均少,术后均无感染等并发症发生;但 TESA 组睾丸内血肿和阴囊皮下血肿发生率(7.5%)高于 MD-TESE 组(2.4%),可能与 TESA 不能预测穿刺点阴囊皮下和睾丸白膜下的血管,负压下抽吸时,穿刺点周围组织中血管破裂,故血肿形成率相对较高[10]。MD-TESE 是在显微镜放大 6~15 倍数下,可有效避开睾丸白膜下血管和睾丸内血供血管,且在可视状态下进行双极电凝止血,因而血肿形成等并发症少,损伤更小。正如文献[11]中所提及,“暴露充分,彻底解剖,损伤小,取组织少,获精率高,术后血肿形成等并发症少”是 MD-TESE 较 TESA 的最大优势。手术过程中,根据睾丸小叶的分布情况,以左手固定睾丸、食指拇指暴露解剖层次并保持适当的张力,提高对含有精子的曲细精管的识别等都是提高精子获得率、缩短手术时间、减少组织损伤的关键技巧。本研究中 MD-TESE 例数较少,在后续研究中将扩大样本量进行进一步验证。

MD-TESE 在获精率及安全性上有明显优势,除手术技巧的提升外,还应关注 NOA 的病因。本研究中 MD-TESE 术的获精率与其他研究者的报道[9]相比较低,与患者的构成不同有关。MD-TESE 术中特发性睾丸生精障碍占比达 69.2%,其中 1/3 获精;3 例隐睾患者中有 2 例获得精子,1 例腮腺炎性睾丸炎患者获精;3 例克氏综合征患者均未获精。提示不同的病因下 NOA 的手术获精存在明显差异,与 ZHANG 等[12]报道相似。然而 3 例克氏综合征患者未获得精子,和国外文献[13]报道的不一致,可能与病例数太少或者与人种有关[14],值得临床深入总结。基于本研究数据及相关文献,对于隐睾、病毒性腮腺炎、Y 染色体 AZFc 缺失、克氏综合征等患者,MD-TESE 应推荐作为首选。基于 MD-TESE 有限的精子获得率,术前应与患者进行充分沟通后慎重选择。本研究未发现临床常见可以预测 NOA 精子获得率的参数,后续还将继续积累和总结。

综上,MD-TESE 与 TESA 结合 ICSI 技术均为 NOA 助孕治疗的手段,与陈鑫等[15]报道结论一致。虽 MD-TESE 具有操作复杂、耗时长、费用较高、需要借助手术显微镜设备等局限性[16],但本研究提示 MD-TESE 安全性好、获精率更高、ICSI 结局较好、获得自身遗传背景后代的机会更大,尤其适合于隐睾、病毒性睾丸炎及 Y 染色体 AZFc 缺失以及 TESA 不易取材的小睾症等有迫切希望生育自身遗传背景的子代的无精子症患者。

参考文献:

[1] AGARWAL A, MULGUND A, HAMADA A, *et al*. A unique view on male infertility around the globe[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2015, 13: 37. DOI:10.1186/s12958-015-0032-1.

[2] VIJ S C, SABANEGH E Jr, AGARWAL A. Biological therapy for non-obstructive azoospermia[J]. Expert Opin Biol Ther, 2018, 18(1): 19-23. DOI: 10.1080/14712598.2018.1380622.

[3] SCHLEGEL P N. Nonobstructive azoospermia: a revolutionary surgical approach and results[J]. Semin Reprod Med, 2009, 27(2): 165-170. DOI:10.1055/s-0029-1202305.

[4] GOULETSOU P G, GALATOS A D, LEONTIDES L S. Comparison between ultrasonographic and caliper measurements of testicular volume in the dog[J]. Anim

Reprod Sci, 2008, 108(1/2): 1-12. DOI:10.1016/j.anireprosci.2007.06.020.

[5] KRAUSZ C, RIERA-ESCAMILLA A, MORENO-MENDOZA D, *et al*. Genetic dissection of spermatogenic arrest through exome analysis: clinical implications for the management of azoospermic men[J]. Genet Med, 2020, 22(12): 1956-1966. DOI:10.1038/s41436-020-0907-1.

[6] DWYER A A, SYKIOTIS G P, HAYES F J, *et al*. Trial of recombinant follicle-stimulating hormone pretreatment for GnRH-induced fertility in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(11): E1790-E1795. DOI:10.1210/jc.2013-2518.

[7] RASTRELLI G, CORONA G, MANNUCCI E, *et al*. Factors affecting spermatogenesis upon gonadotropin-replacement therapy: a meta-analytic study[J]. Andrology, 2014, 2(6): 794-808. DOI:10.1111/andr.262.

[8] BERNIE A M, MATA D A, RAMASAMY R, *et al*. Comparison of microdissection testicular sperm extraction, conventional testicular sperm extraction, and testicular sperm aspiration for nonobstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis[J]. Fertil Steril, 2015, 104(5): 1099-1103.e3. DOI:10.1016/j.fertnstert.2015.07.1136.

[9] GORGY A, MENIRU G I, NAUMANN N, *et al*. The efficacy of local anaesthesia for percutaneous epididymal sperm aspiration and testicular sperm aspiration[J]. Hum Reprod, 1998, 13(3): 646-650. DOI:10.1093/humrep/13.3.646.

[10] CITO G, COCCIA M E, SESSA F, *et al*. Testicular fine-needle aspiration for sperm retrieval in azoospermia: a small step toward the technical standardization[J]. World J Mens Health, 2019, 37(1): 55-67. DOI:10.5534/wjmh.180077.

[11] 洪锴, 毛加明. 显微镜下睾丸切开取精术在非梗阻性无精子症治疗中的临床应用新进展[J]. 北京大学学报(医学版), 2018, 50(4): 585-589. DOI:10.3969/j.issn.1671-167X.2018.04.001.
HONG K, MAO J M. Recent clinical advances in the clinical application of microscopic orchiotomy sperm retrieval in the treatment of non-obstructive azoospermia[J]. J Peking Univ Heal Sci, 2018, 50(4): 585-589. DOI:10.3969/j.issn.1671-167X.2018.04.001.

[12] ZHANG H L, ZHAO L M, MAO J M, *et al*. Sperm retrieval rates and clinical outcomes for patients with different causes of azoospermia who undergo microdissection testicular sperm extraction-intracytoplasmic sperm injection[J]. Asian J Androl, 2021, 23(1): 59-63. DOI:10.4103/aja.aja_12_20.

[13] RAMASAMY R, RICCI J A, PALERMO G D, *et al*. Successful fertility treatment for Klinefelter's syndrome[J]. J Urol, 2009, 182(3): 1108-1113. DOI:10.1016/j.juro.2009.05.019.

[14] 张靖, 刘贵华, 赵鲁刚, 等. 显微取精术治疗非梗阻性无精子症的疗效分析(附196例报告)[J]. 中华男科学杂志, 2017, 23(9): 804-807. DOI:10.13263/j.cnki.nja.2017.09.007.
ZHANG J, LIU G H, ZHAO L G, *et al*. Micro-dissection testicular sperm extraction for patients with non-obstructive azoospermia: a report of 196 cases[J]. Natl J Androl, 2017, 23(9): 804-807. DOI:10.13263/j.cnki.nja.2017.09.007.

[15] 陈鑫, 徐鸿毅, 刁红录, 等. 不同手术方式来源精子对ICSI助孕结局影响的研究[J]. 湖北医药学院学报, 2021, 40(2): 129-133, 138. DOI:10.13819/j.issn.2096-708X.2021.02.005.
CHEN X, XU H Y, DIAO H L, *et al*. Effect of sperm from different surgical methods on the clinical outcomes of ICSI-assisted pregnancy[J]. J Hubei Univ Med, 2021, 40(2): 129-133, 138. DOI:10.13819/j.issn.2096-708X.2021.02.005.

[16] ALRABEEAH K, YAFI F, FLAGEOLE C, *et al*. Testicular sperm aspiration for nonazoospermic men: sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection outcomes[J]. Urology, 2014, 84(6): 1342-1346. DOI:10.1016/j.urology.2014.08.032.

(**收稿**:2022-08-27;**修回**:2021-10-07)

(编辑 刘秋池)