

无精子症规范化诊疗专家共识精要

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

一、无精子症概述

无精子症是最严重的男性不育症,是指射出的精液内完全没有精子,约占男性不育症患者的 5%~20%^[1]。无精子症的诊断必须有 ≥ 2 次精液标本,相隔 2 周以上,精液离心前后均未发现精子^[2]。无精子症并非指睾丸内没有精子产生,而是强调精液中没有精子^[3]。

根据精子发生的调控机制与输精管道的解剖生理特征,可以将无精子症分为梗阻性无精子症(OA)与非梗阻性无精子症(NOA)。OA 的常见病因有:(1)医源性:如输精管结扎术、疝修补术、阴囊或者下腹部手术;(2)射精管梗阻:占无精子症患者的 1%~5%,精液量少并果糖阴性,卵泡刺激素(FSH)正常,经直肠超声精囊宽度超过 15 mm 提示梗阻,中线处囊肿,射精管扩张及精阜钙化也可以间接提示;(3)先天性双侧输精管缺如(CBAVD):最重要的体征是输精管缺如,患者一般精液量少,睾丸大小及激素水平正常,可行囊性纤维化跨膜电导调节因子(CFTR)基因检测;(4)炎症性或特发性附睾梗阻:往往表现为梗阻以上部位附睾饱满,张力变大,梗阻部位可及硬结,附睾超声图像有附睾体尾部附睾管细网状扩张。NOA 的先天性病因包括克氏综合征、Y 染色体微缺失、隐睾、原发性低促性腺性腺功能减退症等,后天性病因包括肿瘤治疗后继发性无精子症、病毒感染对睾丸的直接或者通过自身免疫间接损害。

根据男性不育的病因“三分法”^[4]将无精子症分为睾丸前无精子症、睾丸性无精子症和睾丸后无精子症三类:(1)睾丸前无精子症:即下丘脑-垂体病变导致的无精子症。常见的病因有卡尔曼氏综合征、垂体存在肿瘤或其他病变者,或既往有垂体手术

史者,泌乳素腺瘤、下丘脑功能不全等。(2)睾丸性无精子症:睾丸体积偏小,或 FSH、黄体生成素(LH)水平偏高,或既往睾丸穿刺、活检未见精子的患者,归入睾丸性无精子症。首先要查看有无 Y 染色体微缺失、克氏综合征或其他染色体核型异常等遗传因素,以及是否存在隐睾、重度精索静脉曲张等情况,根据其具体情况选择治疗方案。病因学治疗则是根据患者的病史、体检结果及辅助检查结果,寻找有无重度精索静脉曲张、隐睾、环境污染、不良生活习惯、生殖毒性药物等影响睾丸生精功能的因素,针对这些因素进行纠正,以协同治疗,并防止睾丸生精功能的进一步恶化。药物保守治疗半年后若仍未见精子,则可以考虑进行睾丸直接取精或者供精人工授精或领养等措施。(3)睾丸后无精子症:即睾丸生精功能正常,但因为睾丸网、附睾、输精管、射精管等输精管道缺失或梗阻而导致精子无法排出至精液中。此类患者睾丸体积、性激素水平正常,第二性征发育正常,体检或辅助检查可能发现输精管道梗阻或缺失征象。睾丸后无精子症的原因可分为三类:(1)先天性梗阻:包括 CBAVD、射精管囊肿等;(2)获得性梗阻:因为炎症等后天因素导致输精管道梗阻,最常见的为附睾炎导致的附睾梗阻,这也是我国 OA 中最常见的类型,部分患者也可能因为精囊结石等原因导致射精管梗阻;(3)医源性梗阻:即因手术损伤输精管道导致无精子症,最常见包括输精管结扎术和腹股沟疝修补术导致的输精管损伤^[5]。睾丸后无精子症患者因睾丸生精功能正常,因此通过睾丸、附睾穿刺或活检多可获得精子,通过 ICSI 生育亲生子女。然而,部分患者有自然生育的需求,需要通过手术重建输精管道,让精子能排出到精液中。由于睾丸后无精子症输精管道梗阻类型较多,要明确诊断需要结合病史、体检、辅助检查等多方面的因素进行分析。输精管道重建手术术式繁多,各自适用于解除不同部位的梗阻,对手术医师有较高的要求。

二、非梗阻性无精子症(NOA)

(一)NOA 的常见病因及类型

DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.46.002

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2017YFC1002001)

作者单位:200080 上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科 上海交通大学泌尿外科研究所男性健康评估中心
上海市生殖医学重点实验室

通信作者:李铮,Email:lizhengboshi@163.com

NOA 是因睾丸生精功能衰竭所致的无精子症, 占无精子症的 60% 左右^[6]。NOA 患者睾丸的生精功能严重受损, 但多数精道通畅。精液检查有正常的精液量 ($>1.5 \text{ ml}$) 和 $\text{pH} (>7.2)$, 精浆生化一般正常, 多数患者睾丸体积偏小, 血清 FSH 增高。部分患者存在染色体核型异常和 Y 染色体微缺失。也有少部分 NOA 患者, 同时存在精道梗阻^[7]。NOA 虽然睾丸生精功能衰竭, 但由于睾丸内生精小管精子发生状况的不均一性, 仍有部分患者睾丸内存在少量生精灶^[8]。由于精子产生极少且不足以排出, 因此精液检查常无法检出精子, 但存在少数 NOA 患者偶尔精液中可检见极少量精子。睾丸生精功能衰竭所致的重度少精症与 NOA, 因致病机制相似, 仅睾丸内生精状况存在差异, 所以在一定条件下可以相互转化。根据病因, NOA 可分为特发性和非特发性两大类, 常见病因如下:

1. 先天性因素: (1) 遗传学因素: 引起 NOA 的遗传学病因主要有: ①染色体数量及结构的改变; ②Y 染色体微缺失; ③基因突变; ④遗传多态性; ⑤表观遗传学改变。在染色体数量和结构异常中, 染色体数量异常占绝大多数, 且 80% 为性染色体异常。性染色体异常主要为 Y 染色体异常, Y 染色体数量及结构的异常, 可导致睾丸发育不全、精子生成障碍甚至性发育畸形, 常见的染色体数量及结构异常有: 克氏征, 46, XX 性发育异常综合征 (DSD), 45, XY, rob (14;22), 45, X/46, XY, Y 染色体的双着丝粒、环形或易位异常, 以及二体性、二倍性及非整倍性的增加。与睾丸分化、精子发生、生精细胞增殖和凋亡相关的基因可表达各种酶、受体、细胞凋亡因子、转录调节因子等, 这些基因的突变可导致 NOA^[9]。已报道的与 NOA 相关的基因突变有: TEX11、SYCE1、RHOXF2、肾母细胞瘤基因 (Wt1)、泛素特异性蛋白酶 (USP) 26、雄激素受体 (AR)、类胰岛素因子 3 (INSL3)、富含亮氨酸重复子的 G 蛋白偶联受体 8 (LGR8)、Y 染色体上 RNA 结合基序 (RBM1Y)、促性腺素调节的睾丸 RNA 解旋酶 (GRTH/Ddx25) 以及 SCP3 等。精子发生过程中表观遗传信息发生较大变化, 主要包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码 RNA 调控和基因印迹四个方面。若精子发生过程中出现生精细胞表观遗传修饰异常, 会导致精子发生障碍。克氏综合征是男性不育中最常见的遗传性疾病, 在无精子症患者中约占 13%。克氏征典型染色体核型为 47, XXY, 主要源于母源性或父源性减数分裂时的性染色体不分离。不同的 Y 染色体微

缺失类型导致不同程度的生精障碍。AZFa 区缺失患者几乎均表现为完全的唯支持细胞综合征 (SCOS) 以及无精子症; AZFb 区缺失患者临床表现可从 SCOS 到少精子症; AZFc 区缺失最常见, 临床表现和组织学表型多样, 可从无精子症到正常精子。(2) 睾丸发育异常: 如先天性无睾症、隐睾等均可引起非梗阻性无精子症。其中, 隐睾是最常见的先天性因素之一, 在足月男婴中发病率在 1% ~ 4%^[10]。(3) 内分泌因素: 下丘脑-垂体-睾丸性腺轴的异常, 可以引起生精功能障碍并可致无精子症。在不育男性中的发病率不到 1%^[11], 包括低促性腺激素性性腺功能减退 (HH), 如 Kallmann 综合征、Prader-Willi 综合征、Laurence-Moon 综合征等、高泌乳素血症、内源性雄激素过表达、雌激素、糖皮质激素过量、甲状腺功能异常等。

2. 继发性因素: (1) 精索静脉曲张: 精索静脉曲张在 NOA 发病机制中的作用尚不明确, 很多 NOA 患者可能同时存在多个引起睾丸生精功能异常的因素。有报道取精术前行精索静脉曲张结扎术可提高精子获取率, 因精子生成需要 2 ~ 3 个月的周期, 实施外科手术治疗后, 需要 6 个月以上, 才可能对未来显微取精术带来一定的益处^[12]。(2) 肿瘤: 睾丸肿瘤破坏了睾丸内结构, 垂体的肿瘤因影响了脑垂体促性腺激素的正常分泌从而影响精子生成。睾丸及垂体肿瘤的内外科治疗, 也可能影响精子的生成。(3) 睾丸扭转: 睾丸扭转后睾丸缺血性损伤、睾丸萎缩, 外科切除睾丸均是导致无精子症的常见原因。(4) 药物及毒素: 棉籽油、环境化学毒素、生殖毒性药物如化疗药物等对于睾丸生精功能产生不利影响, 影响程度与剂量和作用时间有较大关系。(5) 感染炎症: 腮腺炎性睾丸炎、附睾睾丸炎可破坏了睾丸生精细胞, 引起睾丸萎缩。(6) 创伤: 睾丸外伤可致睾丸内部结构及血供受损、睾丸内血肿形成, 并可引起睾丸纤维化、萎缩。(7) 医源性因素: 反复的睾丸取精手术, 精索静脉结扎术中损伤睾丸动脉等可能造成睾丸缺血性萎缩。(8) 环境危害: 如射线 (X 线、核辐射等), 长期高温工作环境、长期蒸桑拿等均可能损伤生精细胞。

(二) NOA 的治疗方法

1. 药物治疗: 对于病因明确的 NOA, 如缺乏促性腺激素释放激素或垂体促性腺激素分泌不足, 引起性腺功能低下, 导致生精小管精子发生停滞而致的 NOA, 常规有 3 种治疗方案: (1) 采用促性腺激素治疗; (2) 使用 GnRH 泵治疗或二者联合应用; (3) 雄

激素替代疗法。如果血清 FSH 不高,可试行抗雌激素类药物或芳香化酶抑制剂类药物治疗^[13],有可能获得较好的疗效。常用药物有他莫昔芬(20 mg/d)、阿那曲唑(1 mg/d)以及来曲唑(2.5 mg/d)等口服,疗程 3~6 个月。

2. 手术治疗:睾丸取精方法主要有睾丸细针穿刺抽吸术(TFNA)、睾丸活检术(TESE)和睾丸显微取精术(Micro-TESE)等。TFNA 和 TESE 精子获取率低, Micro-TESE 借助手术显微镜寻找睾丸内散在分布的微小生精灶,提高精子获得率(SRR)并减少取精过程中的睾丸损伤。手术时机可以选择取卵前一天或取卵当日,也可以在试管婴儿治疗前进行,可能避免女性伴侣的非必要创伤。Friedler 等^[14]发现克氏综合征患者接受睾丸活检取精并睾丸精子冻存,复苏后行 ICSI 治疗,可获得与新鲜精液的相似的临床妊娠率。将显微取精技术看做是 ICSI 治疗一个重要环节,优化术前内分泌治疗、术中精子寻找技巧、术后精子处理、精子冷冻复苏技术及手术时机的选择等多个因素,可获得更好的妊娠结局。未来 NOA 患者的术前内分泌治疗、术前 NOA 患者精子获得率(SRR)的评估及预测、术中精子辨识技术的改进及术后并发症的防治都是未来需要进一步讲究的重点。

三、梗阻性无精子症(OA)

OA 是指睾丸有正常生精功能,由于双侧输精管道梗阻导致精液或射精后的尿液中未见精子或生精细胞。根据梗阻部位可分为睾丸内梗阻、附睾梗阻、输精管梗阻、射精管梗阻。OA 的病因中包括先天性和后天性两种情况。先天性因素最常见的为 CBAVD,是指从睾丸到输精管的整个输精管道中,任何部位的先天性发育异常均可造成输精管道梗阻,后天性因素常见的有感染、特发性、医源性及外伤性等。

1. 睾丸内梗阻:较少见,多由炎症、结核和外伤导致睾丸网或睾丸输出小管梗阻所致,也见于先天性发育不良,如睾丸附睾离断、睾丸网和输出小管发育不良等,睾丸生精功能正常,附睾内没有精子。患者睾丸体积和性激素水平正常,生殖系统 B 超可显示睾丸内可见不规则“蜂窝状”无回声区,主要分布于睾丸纵隔附近区域^[15],附睾管无细网格样改变。治疗上推荐睾丸穿刺或活检获取精子联合 ICSI 助孕。

2. 附睾梗阻:最为最常见,占 OA 的 30%~67%。病因有先天性和获得性两类,先天性病因中

最常见的是 CBAVD,继发性梗阻最常见的原因因为感染,输精管结扎术后及特发性等。临床特点如下:精液量基本正常,精浆果糖正常但中性 α -糖苷酶浓度下降,性激素水平正常,生殖系统超声检查有附睾细网格状改变,遗传学检查基本正常,睾丸或附睾穿刺物可检出精子。对于泌尿生殖道感染后的 OA,可口服抗感染药物,部分患者经有效治疗后精道可恢复通畅,不必接受手术。对于抗感染治疗无效及其他类型的患者,有以下两种治疗选择:输精管附睾管吻合术,等待术后精子通过射精排除,以自然方式生育或者经睾丸或附睾穿刺取精结合 ICSI 技术生育子代。吻合部位影响术后复通率,女方年龄和术后精液参数则影响自然妊娠率。选择何种治疗方式,除了考虑男方病情以外,女方的年龄也是选择治疗方式的重要因素之一。

3. 输精管梗阻:输精管梗阻的常见病因有输精管结扎、先天性畸形、泌尿生殖系统感染、医源性损伤及肿瘤压迫等。患者睾丸生精功能正常,附睾饱满,部分患者可能继发附睾梗阻;输精管结扎术及医源性损伤造成的输精管离断或损伤区段不长,可以通过手术重建,先天性因素或者感染所致输精管梗阻,常因缺损病变区段过长,无法通过手术重建,可以睾丸或者附睾取精通过试管婴儿治疗生育子代。输精管输精管显微吻合术是输精管结扎术后复通的首选术式,复通成功率高;如系医源性因素(幼时斜疝手术)所致输精管损伤,因损伤部位深,探查及游离输精管难度大,为降低吻合手术操作难度,提高复通成功率,推荐腹腔镜或机器人辅助下输精管吻合术。

4. 射精管梗阻:是指射精管及开口部由于管前、管内及管外因素引起的精液排出不畅或阻塞所导致的一种梗阻性病变,分为先天性梗阻和继发性梗阻两类。先天性射精管梗阻的形成原因有中肾管、米勒管、前列腺小囊、以及精囊腺发育异常,继发性原因有感染、射精管和精囊内的结石或钙化、恶性肿瘤、创伤或医源性损伤及动力性梗阻。多数射精管梗阻性无精子症患者无阳性体征,偶尔可触及输精管增粗、附睾均匀性膨大,有时可出现附睾触痛或压痛。射精管梗阻性无精子症的精液特征总结为“四低”:精液量一般 < 1 ml;少精子症,双侧完全性梗阻者为无精子症;精液 pH 值降低,一般在 5.6~7.0;精浆果糖水平降低,甚至为 0。经直肠超声检查可较好地显示精囊、输精管壶腹、射精管和前列腺等结构,是诊断射精管梗阻性无精子症最常用的影像学方法。典型 TRUS 改变总结为:精囊扩张,精囊

管直径 > 1.5 cm; 射精管扩张, 直径 > 2.3 mm; 精阜内或射精管内钙化、结石; 近精阜中线或偏离中线处存在囊肿。有生育需求的 OA 或重度少精子症、顽固性血精和(或)射精痛可采用腹腔镜手术、经尿道射精管切除术(TURED)、经尿道射精管切开术(TUIED)、精道内镜治疗; 试管婴儿治疗也是有效的补充性治疗手段。

5. 先天性输精管精囊缺如: 先天性输精管缺如(CAVD)是男性生殖系统的一种先天性发育缺陷, 可分为先天性双侧输精管缺如(CBAVD)、先天性单侧输精管缺如(CUAVD)和先天性双侧输精管发育不良(CPAVD)^[16]。大部分先天性输精管缺如患者睾丸生精功能正常, 常伴有精囊腺缺如, 附睾可正常、缺如或部分缺如, 部分可合并肾脏发育异常。大部分先天性输精管缺如可通过男性专科体检初步诊断, 生殖系统超声或磁共振检查可明确诊断, 精浆生化检查可以协助诊断, 精浆中性 α -葡萄糖苷酶含量常下降, 如精浆果糖含量下降, 提示合并精囊腺缺如。先天性双侧输精管缺如或发育不良因完全性输精管道梗阻, 表现为无精子症, 如睾丸生精功能正常, 可通过辅助生殖技术生育子代。单侧输精管缺如根据对侧输精管情况, 可表现为无精子症, 少精子症或正常。无精子症病例可尝试行对侧输精管探查、输精管附睾显微吻合术或者辅助生殖技术治疗。

四、无精子症的生育力保存

每个 ICSI 治疗周期的妊娠率约 40%, 部分患者可能需要行多次 ICSI 治疗。然而, MESA、PESA 和 TESE 等都是创伤性手术, 多次反复手术可能造成睾丸、附睾组织纤维化, 导致不可逆的睾丸萎缩、生精功能退化。为了减少患者反复穿刺取精的痛苦, 更好地保全其生精功能, 建议在辅助生殖临床实践中将无精子症患者诊断性穿刺或 ICSI 治疗周期剩余的少量活动精子冷冻保存, 至女方取卵日则可用复苏精子行 ICSI, 这将大大提高该类患者辅助生育治疗的灵活性和可靠性^[17]。

适合在辅助生殖临床上推广使用的稀少/单精子冷冻技术, 需要满足三个条件^[18-19]: (1) 回收率高: 没有高回收率可能会导致复苏后精子数量不足, 而取消 ICSI 治疗周期, 或被迫做卵子冷冻; (2) 复苏存活率高: 要尽可能提高稀少/单个精子复苏后的存活率, 尽管不活动精子也能使卵子受精(需辅助激活), 但可能影响胚胎的发育潜能; (3) 易使用、方便推广。

梗阻性无精子症患者穿刺获得的精子总量一般

比较多, 取 20 μ l 穿刺所获组织镜检, 如在 20 倍显微镜下发现 ≥ 1 条活动精子, 建议使用稀少精子冷冻方案; 非梗阻性无精子症患者穿刺获得的精子一般总量较少, 取 20 μ l 穿刺所获组织镜检, 如在 20 倍显微镜下发现 < 1 条活动精子时, 建议使用单个精子冷冻方案; 无论何种病因, 若穿刺获得的精子总量在 20 倍显微镜下发现 < 1 条活动精子, 建议使用单个精子冷冻方案, 并建议每个载体上冷冻的精子数 ≤ 5 条, 以 3~5 条为宜。严重少、弱、畸形精子症患者的精液质量不稳定, 要视标本中正常形态精子的总条数决定选择稀少或单个精子冷冻方案, 一般认为 20 μ l 穿刺所获组织镜检, 20 倍显微镜下发现正常形态精子总条数 < 1 条活动精子时适合选择单个精子冷冻方案, 如 ≥ 1 条活动精子时, 建议选择稀少精子冷冻方案。

对于男性配子的长期储存, 玻璃化冷冻和冻干技术也许是未来的一个发展方向。因为其便宜、快速并可以成功的适用于不同类型的生殖细胞(不同的成熟阶段)、体细胞和干细胞、组织似乎也可以。再者这些生物材料既可以储存在 4 $^{\circ}$ C, 也可以在环境温度下运输。因此配子的冻干技术非常适用于基因组(细胞核)的保存。因为细胞核生存能力不同于细胞的生存力, 细胞核不受冷冻/干燥的损害, 可以通过核转移技术获得子代。

综上, 无精子症作为不育症中较为严重的类型, 注意对其相对分类治疗。对于三种不同的无精子症类型, 需要采取的治疗方法具有较大的差异, 而对于同一类型的无精子症, 尽管其病因学治疗各有不同, 但是需要采取的常规治疗却有相对统一和规范的治疗方案。因此, “三分法”对无精子症的诊疗具有重要的辅助和指导作用, 是一种简明、科学、规范的诊疗理念, 符合当今无精子症规范化诊疗的需求和病因学诊疗的方向, 有助于无精子症诊疗路径的建立, 值得进一步完善, 并推广应用。

编写秘书组成员: 李朋(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科); 陈慧兴(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科); 田汝辉(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科); 王凯帆(上海长征医院泌尿外科); 黄煜华(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科)

专家委员会名单(按姓氏笔画排序): 马建军(第四军医大学唐都医院泌尿外科); 马猛(上海交通大学医学院附属第九人民医院泌尿外科); 王涛(华中科技大学同济医学院附属同济医院泌尿外科); 方芳(上海交通大学附属第一人民医院护理部); 田龙(首都医科大学附属朝阳医院泌尿外科);

田汝辉(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科); 平萍(上海交通大学医学院附属仁济医院生殖医学中心); 许篷(沈阳东方菁华医院生殖医学中心); 孙红芳(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科); 李铮(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科); 李宏军(北京协和医院泌尿外科); 李彦锋(陆军军医大学大坪医院泌尿外科); 李明(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科); 李湘平(广东省人民医院生殖医学中心); 刘继红(华中科技大学同济医学院附属同济医院泌尿外科); 刘睿智(吉林大学第一附属医院生殖医学中心); 刘锋(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心男科); 江利(湖南省郴州市第一人民医院泌尿外科); 朴勇瑞(延边大学附属医院泌尿外科); 伍学炎(北京协和医院内分泌科); 陈向锋(上海交通大学医学院附属仁济医院生殖医学中心); 谷龙杰(华中科技大学同济医学院附属同济医院泌尿外科); 陆金春(武警江苏总队南京医院检验科); 张炎(中山大学附属第三医院不育与性医学科); 张锋(复旦大学附属妇产科医院生殖医学中心); 杨文涛(广西中医药大学附属瑞康医院泌尿外科); 杨晓玉(南京医科大学第一附属医院生殖医学中心); 金保方(东南大学附属中大医院男科); 周梁(陕西省妇幼保健院生殖中心男科); 胡皓睿(贵阳市妇幼保健院生殖医学中心); 赵福军(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心); 涂响安(中山大学附属第一医院泌尿外科); 夏术阶(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科临床医学中心); 彭靖(北京大学第一医院泌尿外科); 谭艳(湖北医药学院附属人民医院男科); 蓝儒竹(华中科技大学同济医学院附属同济医院泌尿外科); 潘峰(华中科技大学同济医学院附属协和医院泌尿外科)

参 考 文 献

- [1] Wosnitzer M, Goldstein M, Hardy MP. Review of Azoospermia [J]. *Spermatogenesis*, 2014, 4: e28218. DOI: 10. 4161/spmg. 28218.
- [2] Report on evaluation of the azoospermic male [J]. *Fertil Steril*, 2006, 86 (5 Suppl 1): S210-215. DOI: 10. 1016/j. fertnstert. 2006. 08. 030.
- [3] Cooper TG, Aitken J, Auger Jacques, et al. 世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册[M]. 国家人口和计划生育委员会科学技术研究所, 中华医学会男科学分会, 中华医学会生殖医学分会精子库管理组, 等, 译. 5 版北京: 人民卫生出版社, 2011: 35.
- [4] 李铮, 黄煜华, 李朋, 等. 应加强男性不育的规范化诊疗[J]. *中华医学杂志*, 2015, 95 (36): 2897-2899. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2015. 36. 001.
- [5] 李朋, 陈慧兴, 黄煜华, 等. 双侧斜疝术后输精管道损伤相关梗阻性无精子症的手术策略分析[J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2017, 37 (4): 272-275. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2096-2916. 2017. 04. 003.
- [6] Esteves SC. Clinical management of infertile men with nonobstructive azoospermia [J]. *Asian J Androl*, 2015, 17 (3): 459-470. DOI: 10. 4103/1008-682X. 148719.
- [7] European Association of Urology. EAU Guidelines on Male Infertility [M]. Arnhem: EAU Guidelines Office, 2018.
- [8] Flannigan R, Bach PV, Schlegel PN. Microdissection testicular sperm extraction [J]. *Transl Androl Urol*, 2017, 6 (4): 745-752. DOI: 10. 21037/tau. 2017. 07. 07.
- [9] Miyamoto T, Minase G, Shin T, et al. Human male infertility and its genetic causes [J]. *Reprod Med Biol*, 2017, 16 (2): 81-88. DOI: 10. 1002/rmb2. 12017.
- [10] Sijstermans K, Hack WW, Meijer RW, et al. The frequency of undescended testis from birth to adulthood: a review [J]. *Int J Androl*, 2008, 31 (1): 1-11. DOI: 10. 1111/j. 1365-2605. 2007. 00770. x.
- [11] Sigman M, Jarow JP. Endocrine evaluation of infertile men [J]. *Urology*, 1997, 50 (5): 659-664. DOI: 10. 1016/S0090-4295 (97)00340-3.
- [12] Esteves SC, Miyaoka R, Roque M, et al. Outcome of varicocele repair in men with nonobstructive azoospermia: systematic review and meta-analysis [J]. *Asian J Androl*, 2016, 18 (2): 246-253. DOI: 10. 4103/1008-682X. 169562.
- [13] Ring JD, Lwin AA, Köhler TS. Current medical management of endocrine-related male infertility [J]. *Asian J Androl*, 2016, 18 (3): 357-363. DOI: 10. 4103/1008-682X. 179252.
- [14] Friedler S, Raziell A, Strassburger D, et al. Outcome of ICSI using fresh and cryopreserved-thawed testicular spermatozoa in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome [J]. *Hum Reprod*, 2001, 16 (12): 2616-2620.
- [15] 朱菲, 张辉. 高频彩超诊断睾丸网管状扩张 1 例 [J]. *现代临床医学*, 2016, 42 (3): 225. DOI: 10. 11851/j. issn. 1673-1557. 2016. 03. 027.
- [16] Yang X, Sun Q, Yuan P, et al. Novel mutations and polymorphisms in the CFTR gene associated with three subtypes of congenital absence of vas deferens [J]. *Fertil Steril*, 2015, 104 (5): 1268-1275. e1-2. DOI: 10. 1016/j. fertnstert. 2015. 07. 1143.
- [17] AbdelHafez F, Bedaiwy M, El-Nashar SA, et al. Techniques for cryopreservation of individual or small numbers of human spermatozoa: a systematic review [J]. *Hum Reprod Update*, 2009, 15 (2): 153-164. DOI: 10. 1093/humupd/dmn061.
- [18] Peng QP, Cao SF, Lyu QF, et al. A novel method for cryopreservation of individual human spermatozoa [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2011, 47 (8): 565-572. DOI: 10. 1007/s11626-011-9428-1.
- [19] 匡延平, 彭秋平. 精子的冷冻和解冻方法及精子的冷冻和解冻装置: 中国, 101671651 [P]. 2010-03-17.

(收稿日期: 2018-05-27)

(本文编辑: 周阳)