

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.19.009

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220830.1900.023.html\(2022-08-31\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220830.1900.023.html(2022-08-31))

隐匿性精子症患者精液精子和睾丸精子行 ICSI 治疗的临床结局比较*

崔险峰, 丁攀

(天津市中心妇产科医院生殖医学中心 300100)

[摘要] **目的** 比较隐匿性精子症患者采用精液精子和睾丸精子行卵胞浆内单精子注射(ICSI)的临床结局。**方法** 回顾性分析 2009 年 3 月至 2020 年 2 月在该院行辅助生殖技术治疗的 418 例隐匿性精子症患者的临床资料,其中 317 例采用精液精子行 ICSI 治疗(精液精子组),101 例采用睾丸提取精子行 ICSI 治疗(睾丸精子组),比较两组 ICSI 受精率、胚胎着床率、临床妊娠率及出生率等临床指标。**结果** 精液精子组和睾丸精子组的 ICSI 受精率分别为 60.1%和 61.2%,差异无统计学意义($P>0.05$);精液精子组和睾丸精子组的优质胚胎形成率分别为 38.1%和 45.2%,胚胎着床率分别为 34.8%和 54.0%,临床妊娠率分别为 37.8%和 51.5%,出生率分别为 31.5%和 44.6%,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 隐匿性精子症患者行辅助生殖治疗时,采用睾丸精子较精液精子行 ICSI 可获得更优的临床结局。

[关键词] 隐匿性精子症;精子;精液;睾丸;卵胞浆内单精子注射;妊娠率**[中图法分类号]** R714.8**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)19-3289-04

Comparison of clinical outcomes of intracytoplasmic sperm injection treatment with ejaculated sperm and testicular sperm in patients with cryptozoospermia*

CUI Xianfeng, DING Pan

(Reproductive Medical Center, Tianjin Central Hospital of Gynecology obstetrics, Tianjin 300100, China)

[Abstract] **Objective** To compare the clinical outcomes of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in ejaculated sperm and testicular sperm in the patients with cryptozoospermia. **Methods** The clinical data of 418 cases of cryptozoospermia treated by assisted reproductive techniques in this hospital from March 2009 to February 2020 were retrospectively analyzed, among them 317 cases conducted ICSI by adopting ejaculated sperm (ejaculated sperm group) and 101 cases conducted ICSI by extracting testicular sperm (testicular sperm group). The rates of ICSI fertilization, embryo implantation rate, clinical pregnancy rate and birth rate were compared between the two groups. **Results** The ICSI fertilization rates in the ejaculated sperm group and testicular sperm group were 60.1% and 61.2% respectively, and the difference was not statistically significant ($P>0.05$). The high quality embryo formation rates in the ejaculated sperm group and testicular sperm group were 38.1% and 45.2% respectively, the embryo implantation rates were 34.8% and 54.0% respectively, the clinical pregnancy rates were 37.8% and 51.5% respectively, the birth rates were 31.5% and 44.6% respectively, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** When conducting the assisted reproductive treatment in the patients with cryptozoospermia, adopting testicular sperm could obtain better clinical outcome than ejaculated sperm.

[Key words] cryptozoospermia; sperm; seminal fluid; testis; intracytoplasmic sperm injection; pregnancy rate

隐匿性精子症是指精液标本在常规显微镜检下未发现精子,而在离心后的沉淀中发现少量精子^[1]。这些患者的睾丸中存在局灶性的精子发生区^[2],随着

卵胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)技术的出现及发展,采用精液中极少量的精子或睾丸提取的精子行 ICSI 治疗,可以使这些患

* 基金项目:天津市医学重点学科(专科)建设项目(妇产科学 TJYXZDXK-043A)。 作者简介:崔险峰(1972-),副主任医师,博士,主要从事男性不育及辅助生殖技术研究。

者拥有自己的遗传学后代^[3]。然而,既往隐匿性精子症患者采用精液中精子或睾丸提取精子行 ICSI 对治疗结局影响的报道多存有争议^[4]。因此,本研究回顾性分析了本中心此类患者的临床资料,旨在阐明在隐匿性精子症患者的辅助生殖中采用精液精子和睾丸提取精子对 ICSI 临床结局的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2009 年 3 月至 2020 年 2 月在本中心接受试管婴儿治疗,且须同时满足以下 7 个条件的夫妇纳入本研究:(1)男方诊断为隐匿性无精子症;(2)女方诊断为女性生育力未见异常;(3)女方年龄 <35 周岁;(4)促排方案为促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)长方案;(5)获得成熟卵子个数 ≥ 5 个;(6)妻子取卵日,男方精液中找到足够行 ICSI 的活动精子,或精液中未找到精子但通过外科取精术[睾丸细针抽吸精子术/睾丸常规切开取精子术/显微睾丸切开取精术(TESA/TESE/Mic-TESE)]从睾丸中获得足够行 ICSI 的活动精子;(7)妻子促排取卵后即行新鲜周期移植。排除在 1 个周期中既采用精液精子,同时也采用睾丸提取精子的夫妇。共统计分析 418 例隐匿性精子症患者的 ICSI 结果。其中 317 例采用精液精子行 ICSI 治疗,101 例采用睾丸提取精子(其中采用 TESA 取精 8 例,采用 TESE 取精 45 例,采用 Mic-TESE 取精 48 例)行 ICSI 治疗。本研究经本院伦理委员会审核通过,所有受试者均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 精液的处理

妻子取卵日当天,隐匿性精子症患者先采用手淫体外排精,胚胎实验室收集精液标本并离心处理。具体操作:收集到的精液标本放置在 37℃ 水浴箱中充分液化,将液化后的精液转入装有 1.5 mL 梯度离心培养液(ART-2080,美国 CooperSurgical 公司)的离心管,3 000 \times g 离心 20 min,弃上清液,加入 1.5 mL 洗精受精液(G-IVFTM PLUS,瑞典 Vitrolife 公司),混匀后再次 3 000 \times g 离心 20 min,弃上清液,沉淀加入 500 μ L 洗精受精液,混匀后移入培养皿中备用。若发现活精子,则采用这些精子行 ICSI 治疗;若未发现活精子,则安排患者第 2 次体外手淫取精,若取得标本处理后发现活精子,则采用这些精子行 ICSI 治疗;若患者第 2 次取得精液标本处理后未发现活精子或第 2 次体外手淫取精失败,则行外科睾丸取精术取精。

1.2.2 睾丸精子的提取、处理及行 ICSI 后剩余精子的冷冻保存

1.2.2.1 睾丸精子的提取

TESA:局部麻醉后以 22G 针头连接 20 mL 注射器经皮穿刺睾丸,负压吸引获得少量睾丸组织,将抽

吸的睾丸组织放入盛有洗精受精液(G-IVFTM PLUS,瑞典 Vitrolife 公司)的培养皿中,25G 注射针将睾丸组织机械割成较小的碎块,在 200 倍显微镜下寻找精子。TESE:局部麻醉后用小剪刀在睾丸白膜上剪开约 0.3 cm 小口,轻轻挤压睾丸,剪下适量睾丸组织(约 5 mm \times 5 mm),将切下的睾丸组织放入盛有洗精受精液(G-IVFTM PLUS,瑞典 Vitrolife 公司)的培养皿中,用两根 25G 注射针将睾丸组织机械割成较小的碎块,在 200 倍显微镜下寻找精子。Mic-TESE:全身麻醉后顺次切开阴囊皮肤、睾丸鞘膜,挤出睾丸,沿睾丸赤道面切开睾丸白膜(约 2/3 周),掰开睾丸,在手术显微镜(放大 15 左右倍)下逐个睾丸小叶中寻找粗大、饱满的曲线精管,剪下曲线精管放入盛有洗精受精液(G-IVFTM PLUS,瑞典 Vitrolife 公司)的培养皿中,用两根 25G 注射针将睾丸组织机械割成较小的碎块,在 200 倍显微镜下寻找精子。

1.2.2.2 精子的处理

TESA/TESE/Mic-TESE 所获得的睾丸组织经处理镜检发现精子后,将含有睾丸组织的洗精受精液(G-IVFTM PLUS,瑞典 Vitrolife 公司)3 000 \times g 离心 5 min,弃上清液,留沉淀及约 20 μ L 培养液,吹打混匀,置培养箱培养 3 h 后用于 ICSI 治疗。

1.2.2.3 行 ICSI 后剩余精子的冷冻保存

在室温下将精子冷冻液等体积成滴地加入含精子的培养液中,每加 1 滴要充分混匀,室温下放置 10 min;将以上混合液转移到已标明夫妻姓名及编号的无菌冷冻管内封口;将冷冻管悬挂在液氮面上方 30 min 后,投入液氮内贮存。

1.2.3 控制性卵巢刺激方案

常规采用黄体中期 GnRH-a 长方案进行促排周期,降调 ≥ 14 d 时测定激素水平、子宫内膜厚度和窦状卵泡直径,确定达到降调标准后[(内膜厚度 ≤ 5 mm、雌二醇(E2) ≤ 183.5 pmol/L、黄体生成素(LH) ≤ 5 U/L、卵泡刺激素(FSH) < 5 U/L、窦状卵泡直径均 < 8 mm],应用 150~300 IU 促性腺激素(Gn)启动控制性卵巢刺激(COS)周期,并根据 B 超监测的卵泡情况和血清 LH、E2 水平调整 Gn 用量,当 ≥ 3 个主导卵泡直径达到 18 mm 时,肌肉注射人绒毛膜促性腺激素(hCG)4 000~10 000 IU,36 h 后 B 超引导下取卵。

1.2.4 受精、胚胎移植和妊娠

按常规方法进行 ICSI 后 16~18 h 观察有无原核形成,以双原核(2PN)为正常受精。分别于受精后 41~43 h,61~69 h 察看胚胎卵裂情况,并记录卵裂球数目。根据卵裂球大小均匀与否及核碎片量的多少进行胚胎质量评级^[5]。新鲜周期胚胎移植均为第 3 天胚胎,移植后 12 d 检测血清 hCG 水平以确定是否妊娠,移植后 30 d 超声检查,见宫腔内有孕囊和心管搏

动诊断为临床妊娠。

1.3 统计学处理

采用 SPSS11.0 统计软件进行统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单向分类的方差分析;计数资料以例数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料比较

两组患者年龄、睾丸体积、血清 FSH、睾酮水平、确诊到取精时间,以及配偶年龄、血清基础 FSH、E2 水平、基础窦状卵泡数比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);两组患者染色体异常、少数民族患者百分比比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组一般资料比较

项目	精液精子组 (n=317)	睾丸精子组 (n=101)	P
患者年龄 ($\bar{x} \pm s$, 年)	31.74 ± 3.21	32.01 ± 4.36	1.52
睾丸体积 ($\bar{x} \pm s$, 左+右, mL)	16 ± 6	15 ± 4	1.48
患者 FSH ($\bar{x} \pm s$, IU/L)	12.11 ± 9.89	14.28 ± 10.10	1.51
患者睾酮(男性, nmol/L)	3.91 ± 1.74	3.84 ± 1.80	0.79
患者染色体异常[n(%)]	10(3.15)	4(3.96)	0.03
患者为少数民族[n(%)]	43(13.56)	14(13.86)	0.01
确诊到取精时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	127 ± 65	132 ± 69	2.27
配偶年龄 ($\bar{x} \pm s$, 年)	30.24 ± 3.45	30.33 ± 4.75	1.54
配偶基础 FSH ($\bar{x} \pm s$, IU/L)	6.26 ± 1.70	6.48 ± 1.90	0.81
配偶基础 E2 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)	42.72 ± 21.09	40.82 ± 20.35	1.29
配偶基础窦状卵泡数 ($\bar{x} \pm s$, 个)	12.24 ± 6.01	13.50 ± 7.01	1.24

染色体异常:包括 47,XXY、47,YYY 和 AZFc 缺失;少数民族:除汉族外的民族;确诊到取精时间:患者初诊至配偶取卵日的时间。

2.2 COS 周期中临床观察指标比较

两组患者 COS 周期中 Gn 用量、hCG 日 E2 水平、取得成熟卵数目、ICSI 受精率、卵裂率比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);两组优质胚胎形成率比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组受精率、卵裂率及优质胚胎形成率比较

观察指标	精液精子组 ^a	睾丸精子组 ^b	P
Gn 总量 ($\bar{x} \pm s$, IU)	2 310.52 ± 769.25	2 265.81 ± 740.27	0.43
E2 水平 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)	2 814.15 ± 1 721.38	3 113.13 ± 1 812.35	1.25
取得成熟卵数目 ($\bar{x} \pm s$, 个)	10.35 ± 4.26	10.29 ± 4.87	0.10
受精率 [% (n/n)]	60.1 (1 745/2 905)	61.2(566/924)	0.59
卵裂率 [% (n/n)]	94.0 (1 641/1 745)	95.0(538/566)	0.29
优质胚胎形成率 [% (n/n)]	38.1 (625/1 641)	45.2(243/538)	<0.05

^a:精液精子组患者 317 例;^b:睾丸精子组患者 101 例。

2.3 两组新鲜周期胚胎移植情况比较

两组间行新鲜周期移植的移植胚胎数、移植优质胚胎数及移植日内膜厚度均无明显差异 ($P > 0.05$);两组胚胎着床率、临床妊娠率和出生率比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 3。随访胎儿和新生儿畸形,精液精子组中发现 1 例先天性心脏病(室间隔缺损)。

表 3 两组间新鲜胚胎移植着床率、临床妊娠率和出生率比较

观察指标	精液精子组 ^a	睾丸精子组 ^b	P
移植胚胎数 ($\bar{x} \pm s$, 个)	1.94 ± 0.29	1.98 ± 0.25	1.97
移植优质胚胎数 ($\bar{x} \pm s$, 个)	1.49 ± 0.71	1.50 ± 0.62	0.48
内膜厚度 ($\bar{x} \pm s$, mm)	11.15 ± 1.75	11.23 ± 2.04	0.31
胚胎着床率 [% (n/n)]	34.8(208/597)	54.0(102/189)	0.03
临床妊娠率 [% (n/n)]	37.8(120/317)	51.5(52/101)	0.02
出生率 [% (n/n)]	31.5(100/317)	44.6(45/101)	0.02

^a:精液精子组患者 317 例;^b:睾丸精子组患者 101 例。

3 讨论

自从 1992 年 ICSI 应用于男性不育患者,特别是严重的少弱精子症及无精子症患者以来,众多研究已证实采用精液精子、附睾精子和外科取精术获得的睾丸精子行 ICSI 均可使成熟卵母细胞正常受精及形成优质胚胎,并通过移植胚胎可使患者获得临床妊娠和分娩。

部分研究者认为,对隐匿性精子症患者,采用精液精子行 ICSI 的结局较采用提取的睾丸精子结局好,这是因为卵母细胞的体外受精率与精子成熟度密切相关^[6]。正常情况下,睾丸精子生成后需要在附睾中停留一段时间,通过精子质膜通透性改变、精子核成熟及顶体外膜抗原分布的改变,最终获得运动能力及受精能力。而通过外科取精术由睾丸抽取所获得的睾丸精子中成熟精子占比较低^[7-8],使用这样的精子会直接影响卵子激活,从而影响正常受精。但也有部分研究者提出相反的观点,认为隐匿性精子症患者行 ICSI 治疗时,采用睾丸提取的精子较精液精子可以取得更好的结局^[4,9]。分析其可能的原因为隐匿性精子症患者精液中极少量的精子在经过泌尿生殖道时可能受污染或氧自由基损伤,而由睾丸提取的精子则不存在这些因素的影响^[5,10-11]。本研究结果显示,隐匿性精子症患者行 ICSI 治疗时采用精液精子的受精率为 60.1%,采用提取的睾丸精子的受精率为 61.2%,二者无明显差异 ($P > 0.05$),与 TSAI 等^[12]和 ESTEVES 等^[13]的研究结果相似。

一般认为,当受精卵分裂到 4~8 个细胞阶段时受精卵 mRNA 开始转录,提示父方基因开始表达,若精子存在缺陷,父方基因表达受阻,会导致胚胎在 5~8 个细胞阶段发育缓滞^[14]。睾丸精子的成熟度较精液精子的成熟度低,所以部分学者认为采用睾丸精子

行 ICSI 后的优质胚胎率低于采用精液精子^[7]。但本研究结果显示,采用精液精子行 ICSI 后的优质胚胎形成率明显低于采用提取的睾丸精子行 ICSI 后的优质胚胎形成率(38.1% vs. 45.2%, $P < 0.05$),与 ALHARBI 等^[10]和 AMBAR 等^[11]的研究结果相似。本研究结果还显示,采用提取的睾丸精子较精液精子行 ICSI 后的胚胎着床率、临床妊娠率和出生率均明显提高,与 ESTEVES 等^[4]的研究结果相似。分析其可能的原因:睾丸提取的精子虽成熟度不及精液精子,但精子 DNA 损伤程度更低^[11,15-17]。

本研究中行睾丸外科取精者均为在以往精液检验中(离心后)发现有活动精子,但在配偶取卵日精液中未发现精子的隐匿性精子症患者。考虑睾丸外科取精为有创操作,可能导致出血、感染及睾丸萎缩等并发症^[18],且睾丸外科取精在隐匿性精子症患者中的获精率并非 100%,因此,隐匿性精子症患者行 ICSI 治疗时放弃精液精子而采用提取的睾丸精子仍有待进一步研究证实。对于隐匿性精子症患者在第 1 次采用精液精子行 ICSI 治疗妊娠失败后,可考虑在第 2 次 ICSI 治疗时采用提取的睾丸精子。

参考文献

- [1] World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen[S]. 5th ed. Geneva: World Health Organization, 2010.
- [2] WU X, LIN D, SUN F, et al. Male infertility in humans: an update on non-obstructive azoospermia (NOA) and obstructive azoospermia (OA) [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1288: 161-173.
- [3] O'NEILL C L, CHOW S, ROSENWAKS Z, et al. Development of ICSI [J]. *Reproduction*, 2018, 156(1): F51-58.
- [4] ESTEVES S C, ROQUE M, BRADLEY C K, et al. Reproductive outcomes of testicular versus ejaculated sperm for intracytoplasmic sperm injection among men with high levels of DNA fragmentation in semen: systematic review and meta-analysis [J]. *Fertil Steril* 2017, 108(3): 456-467. e1.
- [5] ROCHA J C, PASSALIA F, MATOS F D, et al. Methods for assessing the quality of mammalian embryos: how far we are from the gold standard? [J]. *JBRA Assist Reprod*, 2016, 20(3): 150-158.
- [6] HAMEED N, OZTURK O. Testicular versus epididymal spermatozoa in intracytoplasmic sperm injection treatment cycles [J]. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 2012, 22(4): 159-163.
- [7] CHEN H, SCOTT-BOYER M P, DROIT A, et al. Sperm heterogeneity accounts for sperm DNA methylation variations observed in the caput epididymis, independently from DNMT/TET activities [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 22(10): 834519.
- [8] KERJEAN A, DUPONT J M, VASSEUR C, et al. Establishment of the paternal methylation imprint of the human H19 and MEST/PEG1 genes during spermatogenesis [J]. *Hum Mol Genet*, 2000, 9(14): 2183-2187.
- [9] ESTEVES S C, ROQUE M, GARRIDO N. Use of testicular sperm for intracytoplasmic sperm injection in men with high sperm DNA fragmentation: a SWOT analysis [J]. *Asian J Androl*, 2018, 20(1): 1-8.
- [10] ALHARBI M, ALMARZOUQ A, ZINI A. Sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection outcomes with testicular sperm aspiration in men with severe oligozoospermia and cryptozoospermia [J]. *Can Urol Assoc J*. 2021, 15(5): 272-275.
- [11] AMBAR R F, AGARWAL A, MAJZOUB A, et al. The use of testicular sperm for intracytoplasmic sperm injection in patients with high sperm DNA damage: a systematic review [J]. *World J Mens Health*, 2021, 39(3): 391-398.
- [12] TSAI C C, HUANG F J, WANG L J, et al. Clinical outcomes and development of children born after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using extracted testicular sperm or ejaculated extreme severe oligo-astheno-teratozoospermia sperm: a comparative study [J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(3): 567-571.
- [13] ESTEVES S C, SÁNCHEZ-MARTÍN F, SÁNCHEZ-MARTÍN P, et al. Comparison of reproductive outcome in oligozoospermic men with high sperm DNA fragmentation undergoing intracytoplasmic sperm injection with ejaculated and testicular sperm [J]. *Fertil Steril*, 2015, 104(6): 1398-1405.
- [14] SIMON L, MURPHY K, SHAMSI M B, et al. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development [J]. *Hum Reprod*, 2014, 29(11): 2402-2412.
- [15] JANNATIFAR R, PARIVAR K, ROODBARI N H, et al. Effects of N-acetyl-cysteine supplementation on sperm quality, (下转第 3297 页)

- 外科手术学杂志(电子版),2020,14(3):233-236.
- [3] 中华医学会外科学分会胆道外科学组,中国医师协会外科医师分会胆道外科专业委员会.胆囊癌诊断和治疗指南(2019 版)[J].中华外科杂志,2020,58(4):243-251.
- [4] 李斌斌,孙鼎,何骏,等.158 例原发性胆囊癌根治性手术临床疗效及预后因素分析[J].肝胆胰外科杂志,2021,33(3):135-140.
- [5] VOGEL J A, VAN VELDHUISEN E, AGNASS P, et al. Time-dependent impact of irreversible electroporation on pancreas, liver, blood vessels and nerves; a systematic review of experimental studies [J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166987.
- [6] DAVALOS R V, BHONSLE S, NEAL R E. Implications and considerations of thermal effects when applying irreversible electroporation tissue ablation therapy[J]. Prostate, 2015, 75(10): 1114-1118.
- [7] 陈艳军,程冰冰,郜宇,等.纳米刀消融治疗不可切除肝门部胆管癌的初步探索[J].中国现代普通外科进展,2020,23(4):267-271.
- [8] 张东,耿智敏,陈晨,等.胆囊癌的临床分型和预后关系初步分析:多中心回顾性临床研究[J].中华外科杂志,2019,57(4):258-264.
- [9] SCHMIDT M A, MARCANO-BONILLA L, ROBERTS L R. Gallbladder cancer: epidemiology and genetic risk associations[J]. Chin Clin Oncol, 2019, 8(4):31.
- [10] CHEN C, GENG Z, SHEN H, et al. Long-term outcomes and prognostic factors in advanced gallbladder cancer: focus on the advanced T stage[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166361.
- [11] 徐旻,范恒伟,刘会春,等.经内镜逆行途径胆道支架置入术治疗 68 例恶性梗阻性黄疸患者的效果分析[J].中华全科医学,2017,15(1):24-26.
- [12] 李炜,王敬晗,马文聪,等.胆囊癌外科治疗的争议与思考[J].肿瘤防治研究,2021,48(4):321-326.
- [13] ZHOU Y, ZHANG Z, WU L, et al. A systematic review of safety and efficacy of hepatopancreatoduodenectomy for biliary and gallbladder cancers[J]. HPB (Oxford), 2016, 18(1): 1-6.
- [14] TORRES O J M, ALIKHANOV R, LI J, et al. Extended liver surgery for gallbladder cancer revisited: is there a role for hepatopancreatoduodenectomy? [J]. Int J Surg, 2020, 82 (Suppl 1): 82-86.
- [15] KUIPERS H, DE SAVORNIN LOHMAN E A J, VAN DOOREN M, et al. Extended resections for advanced gallbladder cancer: results from a Nationwide Cohort Study[J]. Ann Surg Oncol, 2021, 28(2): 835-843.
- [16] 熊世锋,邹浩.胆囊癌靶向治疗的研究进展[J].医学研究杂志,2021,50(6):18-21.
- [17] 吴自友,龚伟.胆囊癌免疫治疗现状与进展[J/CD].中华肝脏外科手术学电子杂志,2021,10(1):15-19.
- [18] MARTIN E K, BHUTIANI N, EGGER M E, et al. Safety and efficacy of irreversible electroporation in the treatment of obstructive jaundice in advanced hilar cholangiocarcinoma[J]. HPB (Oxford), 2018, 20(11): 1092-1097.
- [19] 郭凯,李晓勇,周百中,等.纳米刀消融治疗不可切除肝门部胆管癌的临床价值[J].中国普通外科杂志,2020,29(1):78-84.

(收稿日期:2021-11-18 修回日期:2022-06-05)

(上接第 3292 页)

- chromatin integrity and level of oxidative stress in infertile men [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2019, 17(1): 24.
- [16] BARATI E, NIKZAD H, KARIMIAN M. Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management [J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(1): 93-113.
- [17] MOSKOVTSSEV S I, JARVI K, MULLEN J B, et al. Testicular spermatozoa have statistically significantly lower DNA damage compared with ejaculated spermatozoa in patients with unsuccessful oral antioxidant treatment [J]. Fertil Steril, 2010, 93(4): 1142-1146.
- [18] DERUYVER Y, VANDERSCHUEREN D, VAN DER AA F. Outcome of microdissection TESE compared with conventional TESE in non-obstructive azoospermia: a systematic review [J]. Andrology, 2014, 2(1): 20-24.

(收稿日期:2021-12-10 修回日期:2022-06-11)