

DOI: 10.59715/pntjmp.1.4.4

## Các kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn ở nam giới vô tinh không bế tắc

Lê Đình Hiếu<sup>1</sup>, Nguyễn Thanh Quang<sup>2</sup>, Trần Nhật Thăng<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bộ môn Thận - Niệu - Nam Khoa, Trường Đại Học Y Khoa Phạm Ngọc Thạch

<sup>2</sup>Khoa Ngoại Niệu - Ghép Thận, BV Nhân Dân 115

<sup>3</sup>Bộ môn Sản Phụ Khoa, Trường Đại Học Y Dược TP.HCM

### Tóm tắt

Sự ra đời của kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương trứng (ICSI: intracytoplasmic sperm injection) năm 1992 đã cho phép thụ tinh với tinh trùng lấy từ nam giới vô tinh. Trong vô tinh không bế tắc (NOA: nonobstructive azoospermia), thường khó lấy được tinh trùng do có rất ít hoặc không có tinh trùng trưởng thành và sinh tinh thường khu trú, rải rác trong tinh hoàn. Vì vậy, các kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn đã có nhiều cải tiến nhằm tăng tỷ lệ tìm thấy tinh trùng (hiệu quả) và giảm thiểu biến chứng (an toàn) cho bệnh nhân. Phân tích Cochrane y văn không tìm thấy các thử nghiệm ngẫu nhiên đối chứng, làm cơ sở khoa học cho khuyến cáo kỹ thuật này so với kỹ thuật khác vì mỗi kỹ thuật có ưu và khuyết điểm riêng. Khuyến cáo duy nhất là chọn lựa kỹ thuật ít xâm lấn nhất và đơn giản nhất có thể để lấy tinh trùng tinh hoàn. Suy sinh dục nam sau các thủ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn có thể ảnh hưởng lâu dài đến sức khỏe nam giới. Các tiến bộ kỹ thuật trong tương lai liên quan đến kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn, nhận diện tinh trùng ở phòng lab IVF, và các kỹ thuật mới giúp tăng tỷ lệ tinh trùng sống sau đông và rã đông... chắc chắn sẽ tác động không nhỏ đến khả năng y học giúp nam giới NOA có thể được làm bố sinh học.

**Từ khóa:** Vô tinh bế tắc, kỹ thuật lấy tinh trùng, suy sinh dục nam, tiêm tinh trùng vào bào tương trứng.

### Abstract

#### Testicular sperm retrieval techniques in nonobstructive men

The advent of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in 1992 allows the possibility of conception with sperms retrieved from azoospermic men. In nonobstructive azoospermia (NOA) or testicular failure, it's often difficult to retrieve sperms due to the presence of few mature sperms and patchy spermatogenesis in the testis. Therefore, the field of testicular sperm retrieval has witnessed tremendous changes to increase sperm retrieval rates (higher sperm yields) and minimize surgical complications (more safety). A Cochrane review of the literature on techniques of testicular sperm retrieval found a lack of randomized controlled trials to recommend any one testicular sperm retrieval technique over another for NOA as each has its strengths and limitations. The only solid recommendation was to select the least invasive and simplest technique for testicular sperm retrieval whenever possible. Hypogonadism after testicular sperm retrieval procedures could have large and durable effects on man health and overall quality of life. Future advances in testicular sperm retrieval procedures, sperm identification in the IVF laboratory, and novel technologies to increase the yield of viable sperm after freezing and thawing... will certainly have major impact on the medical ability to help NOA men to become biological fathers.

**Key words:** nonobstructive azoospermia, sperm retrieval technique, hypogonadism, ICSI

**Ngày nhận bài:**

20/8/2022

**Ngày phân biện:**

20/9/2022

**Ngày đăng bài:**

20/10/2022

**Tác giả liên hệ:**

Lê Đình Hiếu

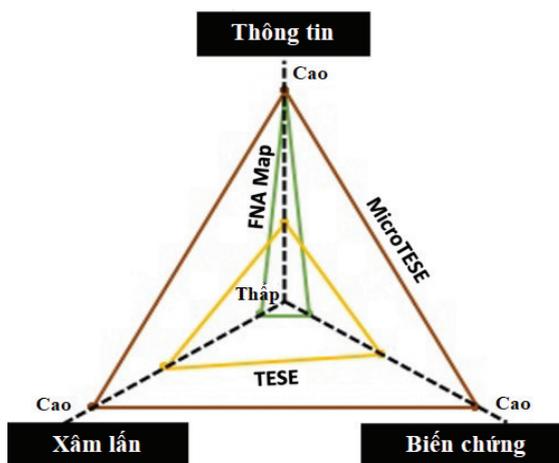
**Email:**

ledinhhiieu@pnt.edu.vn

**ĐT:** 0918274653

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

**Nam giới vô tinh không bế tắc (NOA: nonobstructive azoospermia)** có rất ít hoặc không có tinh trùng trưởng thành. Ngoài ra, sản xuất tinh trùng thường khu trú, rải rác trong tinh hoàn. Vì nhiều cặp vợ chồng có thể cần nhiều chu kỳ IVF-ICSI (in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection) và nhiều lần lấy tinh trùng tinh hoàn để có thai thành công, cần có các kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn (TESE: testis sperm extraction) hiệu quả, ít xâm lấn, an toàn và cho phép trữ đông tinh trùng để tránh lặp lại thủ thuật (Hình 1) [1]. Phân tích Cochrane y văn về các kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn không tìm thấy các thử nghiệm ngẫu nhiên đối chứng, làm cơ sở khoa học cho khuyến cáo kỹ thuật này so với kỹ thuật khác. Khuyến cáo duy nhất là chọn lựa kỹ thuật ít xâm lấn nhất và đơn giản nhất có thể để lấy tinh trùng tinh hoàn [2]. Bài tổng quan này trình bày các kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn về phương diện kỹ thuật, hiệu quả (tỷ lệ tìm thấy tinh trùng) và an toàn đối với bệnh nhân NOA.

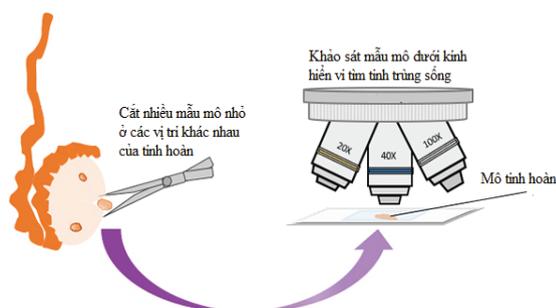


**Hình 1.** Biểu đồ Radar so sánh đặc điểm của 3 kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn dựa trên thông tin thu thập, mức độ xâm lấn và biến chứng. Lập bản đồ FNA (FNA map: màu xanh), Lấy tinh trùng tinh hoàn qui ước (TESE: màu vàng), Lấy tinh trùng tinh hoàn vi phẫu (mTESE: màu nâu). [1] FNA map: fine needle aspiration map, TESE: testicular sperm extraction, micro TESE: microdissection testicular sperm extraction.

## 2. CÁC KỸ THUẬT LẤY TINH TRÙNG TINH HOÀN

**Lấy tinh trùng tinh hoàn nhiều mẫu (multibiopsy TESE)**

TESE nhiều mẫu giúp tăng khả năng tìm thấy tinh trùng ở nam giới NOA nhờ tăng kích thước mẫu mô sinh thiết. Trong kỹ thuật này, nhiều đường rạch (có thể đến 15) ở các vùng khác nhau của tinh hoàn được thực hiện để thu thập mẫu mô cho đến khi đủ tinh trùng (Hình 2) [3]. Báo cáo đầu tiên (năm 1997) mô tả kỹ thuật này ở 21 BN, tìm thấy tinh trùng ở 70% BN [4]. Một nghiên cứu gần đây trên 741 BN báo cáo tỷ lệ tìm thấy tinh trùng là 44% khi sinh thiết 1 mẫu và 58% khi sinh thiết 4 mẫu [5]. Các nghiên cứu khác trên hàng trăm BN cho thấy tỷ lệ tìm thấy tinh trùng là 47 - 48% khi sinh thiết nhiều mẫu [6, 7]. Tuy nhiên, không có các nghiên cứu ngẫu nhiên đối chứng trực tiếp so sánh TESE và TESE nhiều mẫu về hiệu quả và an toàn.

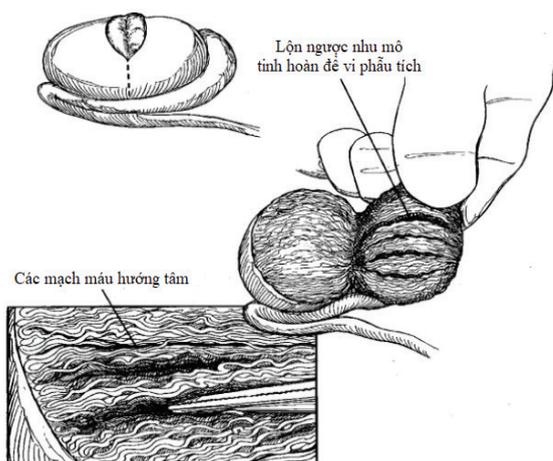


**Hình 2.** Kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn nhiều mẫu [3].

**Lấy tinh trùng tinh hoàn vi phẫu (mTESE: microdissection testicular sperm extraction)**

Năm 1998, Schlegel và cs. đề xuất mTESE nhằm cải thiện khả năng định vị tinh trùng trong tinh hoàn nhờ kính vi phẫu, dựa trên quan sát các ống sinh tinh có hoạt động sinh tinh tích cực thường to hơn và trắng đục hơn khi phóng đại so với các ống sinh tinh không có hoạt động sinh tinh. Trong kỹ thuật này, một đường rạch dọc hay ngang theo suốt chiều dài hay chiều ngang tinh hoàn được thực hiện và nhu mô tinh hoàn được bộc lộ hoàn toàn qua đường rạch này. Các ống sinh tinh được khảo sát dưới kính vi phẫu và được sinh thiết chọn lọc (Hình 3) [8]. Các phân tích gộp so sánh mTESE với TESE hoặc TESE nhiều mẫu cho thấy tỷ lệ tìm thấy tinh trùng cao hơn 15 - 20% đối với mTESE [9,10]. Các phân tích chi tiết hơn cho thấy

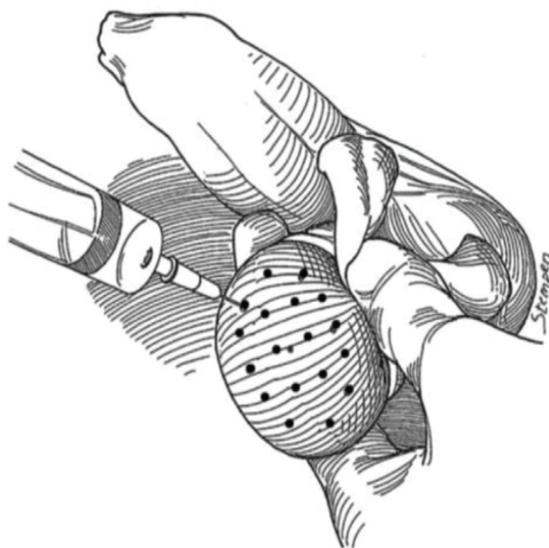
mTESE không ưu việt hơn TESE qui ước đối với sinh tinh nửa chừng mà ở đó các ống sinh tinh đồng nhất về kích thước làm giảm khả năng phân biệt thị giác [11, 12], nhưng hiệu quả hơn TESE qui ước đối với hội chứng chỉ có tế bào Sertoli mà ở đó các ống sinh tinh có tinh trùng dễ dàng phân biệt với các ống sinh tinh “trống” lân cận [13]. Tuy nhiên, không có các nghiên cứu ngẫu nhiên đối chứng xác nhận tính ưu việt của mTESE về hiệu quả và an toàn.



**Hình 3.** Kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn vi phẫu: đường rạch rộng bao trắng cho phép bộc lộ tối đa các ống sinh tinh và khả năng phẫu tích sâu trong nhu mô tinh hoàn [8].

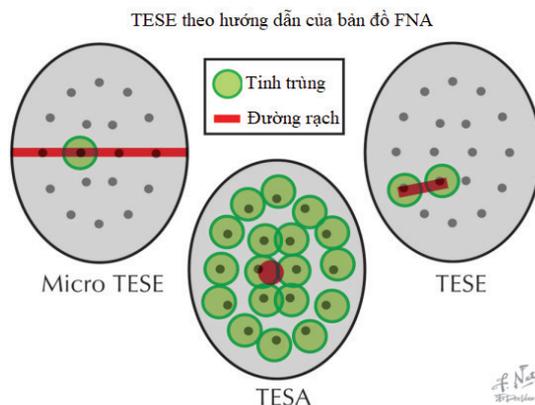
**Lập bản đồ chọc hút tinh hoàn bằng kim nhỏ** (FNA mapping: fine needle aspiration mapping) và lấy tinh trùng tinh hoàn dựa trên bản đồ FNA (FNA map - directed testicular sperm extraction)

Lập bản đồ FNA là thủ thuật chẩn đoán nhằm phát hiện các ổ tinh trùng trong tinh hoàn của BN NOA [14]. 18 mẫu chọc hút tinh hoàn được thực hiện theo 1 mô thức định trước, bao phủ toàn bộ bề mặt và bề sâu tinh hoàn (Hình 4) [15]. Mỗi mẫu mô chọc hút được nhuộm PAP và khảo sát tế bào học để tìm tinh trùng và mô tả hình thái mô học của tinh hoàn. Mở mở lấy tinh trùng tinh hoàn được tiến hành theo hướng dẫn về vị trí và sự hiện diện tinh trùng trên bản đồ FNA [16]. Nhờ vậy, thủ thuật lấy tinh trùng nhanh hơn, khu trú hơn và cơ hội tìm thấy tinh trùng cao hơn TESE “mù”.



**Hình 4.** Kỹ thuật lập bản đồ chọc hút tinh hoàn bằng kim nhỏ (fine needle aspiration mapping): các mẫu tế bào học được lấy từ tinh hoàn theo 1 mô thức xác định trước [15].

Các khác biệt cơ bản giữa TESE dựa trên bản đồ FNA và TESE qui ước gồm (1) đây là kỹ thuật “sinh thiết lòng” giúp xác định sự hiện diện của tinh trùng, vị trí và mật độ tinh trùng trong tinh hoàn trước khi tiến hành lấy mẫu; (b) kỹ thuật này dựa trên sự chính xác của tế bào học chẩn đoán để nhận diện tinh trùng chứ không phải các đánh giá định tính (kích thước và màu sắc ống sinh tinh) để tìm tinh trùng; và (c) nhờ biết trước chính xác vị trí tinh trùng trong tinh hoàn, thủ thuật lấy tinh trùng sẽ khu trú 1 bên tinh hoàn và những vùng cụ thể trong tinh hoàn, do đó, giảm thiểu thời gian can thiệp và qui mô xâm lấn tinh hoàn đồng thời tăng hiệu quả tìm thấy tinh trùng (Hình 5) [17].



**Hình 5.** Cách tiếp cận lấy tinh trùng theo bản đồ FNA (fine needle aspiration). Vòng tròn màu xanh lá là vùng tinh hoàn có tinh trùng.

Đường thẳng và vòng tròn màu đỏ là đường rạch hoặc vị trí chọc hút dự kiến. TESE: testicular sperm extraction, micro TESE: microdissection testicular sperm extraction, TESA: testicular sperm aspiration [17].

Để minh họa các nguyên lý trên, Jarvis và cs. báo cáo các mô thức tìm thấy tinh trùng dựa trên lập bảng đồ FNA ở 82 BN thất bại với mTESE cả 2 bên tinh hoàn [18]. Tính chung, tinh trùng trưởng thành được tìm thấy ở 29% BN nhờ lập bản đồ FNA sau thất bại với mTESE được thực hiện ở các trung tâm khác. Hơn nữa, tinh trùng được tìm thấy chủ yếu ở ngoại vi tinh hoàn chứ không phải ở trung tâm, gợi ý các thủ thuật vi phẫu bị lạc hướng khi lấy mẫu ở trung tâm tinh hoàn. Ngoài ra, tinh trùng được tìm thấy ở các ống sinh tinh hoàn toàn không dẫn (36% trường hợp) hoặc chỉ dẫn nhẹ (31% trường hợp), gợi ý việc ưu tiên sinh thiết các ống sinh tinh dẫn và trắng đục, điều kiện tiên quyết để tìm thấy tinh trùng khi làm mTESE, không cần thiết để có thể tìm thấy tinh trùng trong NOA.

### 3. HIỆU QUẢ LÂM SÀNG IVF/ICSI CỦA CÁC KỸ THUẬT LẤY TINH TRÙNG TINH HOÀN

#### *Tinh trùng OA (obstructive azoospermia) và tinh trùng NOA*

Phân tích gộp các nghiên cứu không phân bố ngẫu nhiên so sánh NOA với OA cho thấy kết quả ICSI (n = 1103 chu kỳ) xấu hơn đối với NOA. Khi phân tích mô hình tác động cố định (fixed - effects analysis), OA đi kèm tỷ lệ thụ tinh cao hơn (RR 1.18, KTC95% 1.13 - 1.23) và tỷ lệ thai lâm sàng cao hơn (RR 1.36, KTC95% 1.10 - 1.69) so với NOA dù không khác biệt về tỷ lệ làm tổ (RR 1.01, KTC95% 0.87 - 1.61) hay tỷ lệ sẩy thai (RR 0.84, KTC95% 0.48 - 1.48) [19]. Các kết quả này có thể phù hợp vì một tỷ lệ đáng kể nam giới NOA, không như nam giới OA, có các bất thường di truyền ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi và thai.

#### *Tinh trùng tươi và tinh trùng rã đông*

Ngay từ khởi đầu, lấy tinh trùng tinh hoàn được thực hiện đồng thời với lấy trứng để cung cấp tinh trùng tươi thực hiện IVF-ICSI. Tuy nhiên, để đơn giản hoá việc sắp xếp thời gian lấy tinh trùng tươi so với lấy trứng, một số trung tâm IVF thực hiện lấy tinh trùng tinh hoàn trước

khi lấy trứng và đông tinh trùng để rã đông và sử dụng sau này. Thực tế cho thấy tinh trùng tinh hoàn rã đông bị giảm đáng kể tỷ lệ di động so với tinh trùng tươi. Điều này có ý nghĩa quan trọng vì các phòng lab IVF thường dựa vào di động của tinh trùng để chọn tinh trùng sống cho các thủ thuật ICSI và có rất ít hoặc không có tinh trùng di động sau rã đông đồng nghĩa có khả năng bơm tinh trùng “không sống” vào trứng.

Một nghiên cứu khảo sát các tác động của trữ đông trên khả năng sống và di động của tinh trùng lấy từ các vị trí giải phẫu khác nhau trên đường sinh dục nam (ống dẫn tinh, mào tinh, và tinh hoàn) cho thấy (1) bất kể vị trí giải phẫu, tất cả tinh trùng trưởng thành dung nạp quá trình đông - rã đông tương tự nhau, theo đó khoảng một nửa số tinh trùng sống ban đầu vẫn sống sau rã đông; (2) không giống như khả năng sống của tinh trùng, hồi phục di động của tinh trùng sau rã đông thay đổi đáng kể theo vị trí giải phẫu: tinh trùng ống dẫn tinh hồi phục di động tốt nhất, kế đến là tinh trùng mào tinh, và sau cùng là tinh trùng tinh hoàn. Khả năng sống và di động trung bình của tinh trùng tinh hoàn tươi là 86% và 5%, trong khi của tinh trùng tinh hoàn đông - rã đông là 46% và 0.2%, một cách tương ứng. Như vậy, mặc dù hồi phục 50% tinh trùng sống sau rã đông, chỉ hồi phục 4% tinh trùng di động ban đầu sau rã đông [20]. Khả năng sống cao của tinh trùng tinh hoàn tươi, dù độ di động rất thấp, khiến tinh trùng tươi di động hay không di động tương đương nhau về khả năng thực hiện ICSI. Tuy nhiên, giảm đáng kể di động và khả năng sống của tinh trùng tinh hoàn đông - rã đông có thể làm giảm thành công IVF-ICSI. Vì thế, đa số trung tâm tiếp tục dùng tinh trùng tinh hoàn tươi cho IVF-ICSI.

Một phân tích gộp 17 nghiên cứu trên 1261 chu kỳ ICSI ở BN NOA cho thấy không khác biệt về tỷ lệ làm tổ (RR 0.93, KTC95% 0.66 - 1.30) hoặc tỷ lệ thai lâm sàng KTC95% 0.86 - 1.24) khi so sánh tinh trùng tinh hoàn tươi và đông - rã đông [21]. Ngoài khác biệt về khả năng sống giữa tinh trùng tinh hoàn tươi và đông - rã đông, tăng tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng sau rã đông tinh trùng tinh hoàn cũng có khả năng giải thích các khác biệt về kết cục lâm sàng [22].

Khi các tranh cãi vẫn tiếp tục là liệu tinh trùng tinh hoàn đông - rã đông có tương đương

lâm sàng với tinh trùng tinh hoàn tươi, đã có những cách tiếp cận sáng tạo liên quan đến thời điểm lấy tinh trùng tinh hoàn tươi. Các nghiên cứu thực nghiệm về độ di động của tinh trùng tinh hoàn theo thời gian cho thấy trong cả NOA và OA, độ di động tinh trùng tăng lên trong vòng 24 - 48 giờ [23, 24] và các tác động của thời gian ủ lên tính toàn vẹn DNA của tinh trùng tinh hoàn rất ít [22]. Do đó, tiến hành lấy tinh trùng tươi 24h đến 48h trước lấy trứng cho phép linh động sắp xếp lịch trình mà không ảnh hưởng xấu hiệu quả lâm sàng của tinh trùng làm ICSI.

#### **Suy sinh dục nam sau các kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn**

Do tính chất xâm lấn của các thủ thuật ngoại khoa tìm tinh trùng tinh hoàn trong NOA tăng lên, các quan ngại về an toàn bệnh nhân cũng tăng lên mà đặc biệt là suy sinh dục nam do can thiệp ngoại khoa, một vấn đề có tác động lớn và lâu dài lên sức khỏe và chất lượng cuộc sống nam giới. Nhìn chung, có nguy cơ đáng kể bị suy sinh dục nam tạm thời và thậm chí vĩnh viễn sau các thủ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn. Số mẫu TESE càng ít và nhỏ, nguy cơ suy sinh dục nam hậu phẫu càng thấp [13].

Chỉ với 1 đường rạch rộng và duy nhất bao trắng tinh hoàn và phẫu tích mô chính xác hơn, mTESE khởi đầu được cho là ít xâm lấn hơn các kỹ thuật TESE đơn giản. Tuy nhiên, với thời gian và kinh nghiệm tích lũy, có thể thấy là nồng độ testosterone huyết thanh hồi phục về mức ban đầu chỉ ở 50 - 90% bệnh nhân 1 năm sau mTESE đối với phẫu thuật viên nhiều kinh nghiệm và theo dõi lâm sàng bệnh nhân thích hợp [25 - 28]. mTESE ảnh hưởng đáng kể đến nguy cơ suy sinh dục nam ngay cả ở bệnh nhân NOA khỏe mạnh và có testosterone huyết thanh bình thường trước mổ (30% các bệnh nhân nguy cơ thấp này bị suy sinh dục nam lâm sàng (< 300 ng/dL) sau mTESE [1]).

Để hạn chế nguy cơ suy sinh dục nam sau TESE, một số tác giả đề xuất cách tiếp cận “từng bước” để tìm tinh trùng, theo đó khởi đầu lấy 1 mẫu TESE duy nhất, tiếp theo là mTESE sử dụng cùng 1 đường rạch tinh hoàn, và sau đó là TESE nhiều mẫu ở tinh hoàn còn lại nếu cần thiết [29]. Một số tác giả khác chỉ thực hiện mTESE 1 bên tinh hoàn. Lập bản đồ FNA tìm tinh trùng là phương thức ít xâm lấn

có khả năng “bảo tồn tinh hoàn” hơn nhờ (1) bệnh nhân NOA không có tinh trùng trên bản đồ FNA được khuyến cáo không thực hiện tiếp các thủ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn khác, do đó tránh được hoàn toàn các can thiệp ngoại khoa; (2) bệnh nhân NOA có tinh trùng trên bản đồ FNA có thể chỉ cần chọc hút tinh trùng tinh hoàn (TESA: testicular sperm aspiration) hoặc các thủ thuật TESE đơn giản để lấy tinh trùng, giảm thiểu nguy cơ phải thực hiện các can thiệp xâm lấn hơn và lớn hơn [15]; và (3) bệnh nhân NOA có tinh trùng trên bản đồ FNA (80 - 85%) thường chỉ cần các can thiệp 1 bên để lấy đủ tinh trùng, do đó, có thể bảo tồn tinh hoàn bên còn lại [18].

#### **4. KẾT LUẬN**

Các kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn đã có nhiều tiến bộ trong vài thập kỷ qua, giúp cải thiện tỷ lệ tìm thấy tinh trùng, tuy nhiên, vẫn chưa đủ chứng cứ y khoa tốt nhất để khuyến cáo kỹ thuật này so với kỹ thuật khác đối với NOA vì mỗi kỹ thuật có ưu và khuyết điểm riêng. Suy sinh dục nam sau các thủ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn có thể ảnh hưởng lâu dài đến sức khỏe nam giới là biến chứng cần lưu ý. Các tiến bộ kỹ thuật trong tương lai liên quan đến kỹ thuật lấy tinh trùng tinh hoàn ít xâm lấn hơn, an toàn hơn và hiệu quả hơn; kỹ thuật nhận diện tinh trùng ở phòng lab IVF; và kỹ thuật tăng tỷ lệ tinh trùng sống sau đông và rã đông... chắc chắn sẽ tác động không nhỏ đến khả năng y học giúp nam giới NOA có thể được làm bố sinh học.

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Godart ES, Turek PJ. The evolution of testicular sperm extraction and preservation techniques. *Fac Rev.* 2020;9:2.
2. Van Peperstraten A, Proctor ML, Johnson NP, Philipson G. Techniques for surgical retrieval of sperm prior to ICSI for azoospermia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006:CD002807.
3. Hong Kong Assisted Reproduction Centre. Surgical Sperm Retrieval [https://www.hkarc.com.hk/Surgical\\_Sperms\\_Retrieval\\_en.html](https://www.hkarc.com.hk/Surgical_Sperms_Retrieval_en.html).
4. Mulhall JP, Burgess CM, Cunningham D, Carson R, Harris D, Oates RD. Presence

- of mature sperm in testicular parenchyma of men with nonobstructive azoospermia: prevalence and predictive factors. *Urology*. 1997;49:91-95; discussion 95-96.
5. Dadkhah F, Hosseini SJ, Sadighi Gilani MA, Farrahi F, Amini E, Kazeminejad B. Optimal number of biopsies and impact of testicular histology on the outcome of testicular sperm extraction. *Urol J*. 2013;10:795-801.
  6. Schwarzer JU, Steinfatt H, Schleyer M, et al. No relationship between biopsy sites near the main testicular vessels or rete testis and successful sperm retrieval using conventional or microdissection biopsies in 220 non-obstructive azoospermic men. *Asian J Androl*. 2013;15:795-798.
  7. Sacca A, Pastore AL, Roscigno M, et al. Conventional testicular sperm extraction (TESE) and non-obstructive azoospermia: is there still a chance in the era of microdissection TESE? Results from a single non-academic community hospital. *Andrology*. 2016;4:425-429.
  8. Schlegel PN. Nonobstructive azoospermia: a revolutionary surgical approach and results. *Semin Reprod Med*. 2009;27:165-170.
  9. Deruyver Y, Vanderschueren D, Van der Aa F. Outcome of microdissection TESE compared with conventional TESE in non-obstructive azoospermia: a systematic review. *Andrology*. 2014;2:20-24.
  10. Bernie AM, Mata DA, Ramasamy R, Schlegel PN. Comparison of microdissection testicular sperm extraction, conventional testicular sperm extraction, and testicular sperm aspiration for nonobstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2015;104:1099-1103 e1091-1093.
  11. Silber SJ. Microsurgical TESE and the distribution of spermatogenesis in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*. 2000;15:2278-2284.
  12. Amer M, Ateyah A, Hany R, Zohdy W. Prospective comparative study between microsurgical and conventional testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia: follow-up by serial ultrasound examinations. *Hum Reprod*. 2000;15:653-656.
  13. Donoso P, Tournaye H, Devroey P. Which is the best sperm retrieval technique for non-obstructive azoospermia? A systematic review. *Hum Reprod Update*. 2007;13:539-549.
  14. Turek PJ, Cha I, Ljung BM. Systematic fine-needle aspiration of the testis: correlation to biopsy and results of organ "mapping" for mature sperm in azoospermic men. *Urology*. 1997;49:743-748.
  15. Beliveau ME, Turek PJ. The value of testicular 'mapping' in men with non-obstructive azoospermia. *Asian J Androl*. 2011;13:225-230.
  16. Shin DH, Turek PJ. Sperm retrieval techniques. *Nat Rev Urol*. 2013;10:723-730.
  17. Smith J, Turek PJ. *Reproductive Medicine*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Press; 2011.
  18. Jarvis S, Yee HK, Thomas N, et al. Sperm fine-needle aspiration (FNA) mapping after failed microdissection testicular sperm extraction (TESE): location and patterns of found sperm. *Asian J Androl*. 2018.
  19. Nicopoullos JD, Gilling-Smith C, Almeida PA, Norman-Taylor J, Grace I, Ramsay JW. Use of surgical sperm retrieval in azoospermic men: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2004;82:691-701.
  20. Bachtell NE, Conaghan J, Turek PJ. The relative viability of human spermatozoa from the vas deferens, epididymis and testis before and after cryopreservation. *Hum Reprod*. 1999;14:3048-3051.
  21. Yu Z, Wei Z, Yang J, et al. Comparison of intracytoplasmic sperm injection outcome with fresh versus frozen-thawed testicular sperm in men with nonobstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35:1247-1257.
  22. Steele EK, McClure N, Lewis SE. Comparison of the effects of two methods of cryopreservation on testicular sperm DNA. *Fertil Steril*. 2000;74:450-453.
  23. Morris DS, Dunn RL, Schuster TG, Ohl DA, Smith GD. Ideal culture time for improvement in sperm motility from testicular sperm aspirates of men with azoospermia. *J Urol*. 2007;178:2087-2091; discussion 2091.

24. Schiewe MC, Rothman C, Spitz A, Werthman PE, Zeitlin SI, Anderson RE. Validation-verification of a highly effective, practical human testicular tissue in vitro culture-cryopreservation procedure aimed to optimize pre-freeze and post-thaw motility. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33:519-528.
25. Takada S, Tsujimura A, Ueda T, et al. Androgen decline in patients with nonobstructive azoospermia after microdissection testicular sperm extraction. *Urology.* 2008;72:114-118.
26. Ramasamy R, Yagan N, Schlegel PN. Structural and functional changes to the testis after conventional versus microdissection testicular sperm extraction. *Urology.* 2005;65:1190-1194.
27. Everaert K, De Croo I, Kerckhaert W, et al. Long term effects of micro-surgical testicular sperm extraction on androgen status in patients with non obstructive azoospermia. *BMC Urol.* 2006;6:9.
28. Ishikawa T, Yamaguchi K, Chiba K, Takenaka A, Fujisawa M. Serum hormones in patients with nonobstructive azoospermia after microdissection testicular sperm extraction. *J Urol.* 2009;182:1495-1499.
29. Franco G, Scarselli F, Casciani V, et al. A novel stepwise micro-TESE approach in non obstructive azoospermia. *BMC Urol.* 2016;16:20.