

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.02.038

无创胚胎染色体筛查技术在单囊胚冻胚复苏移植中的应用价值 及其活产结局的因素分析*

周 知 周 璟 黎业娟 陈 琳 王安国 阮海玲 马 宁 卢伟英

(海南省妇女儿童医学中心生殖医学中心 海南 海口 570206)

摘要 目的:探讨无创胚胎染色体筛查技术(NICS)在单囊胚冻胚复苏移植中的应用价值,分析影响活产结局的因素。**方法:**回顾性分析 2019 年 1 月至 2021 年 12 月我院收治的 197 例行单囊胚冻胚复苏移植患者的临床资料,53 例行 NICS 检查且检测结果提示囊胚染色体拷贝数正常(NICS 组),26 例 NICS 检测结果异常予以排除,118 例未接受 NICS 检测(非 NICS 组)。收集临床资料并追踪妊娠结局,根据妊娠结局将患者分为活产组(75 例)和非活产组(96 例),采用单因素及多因素 Logistic 回归分析影响单囊胚冻胚复苏移植活产的因素。**结果:**NICS 组活产率高于非 NICS 组 ($P<0.05$)。单因素分析显示活产组女方年龄小于非活产组 ($P<0.05$),基础卵泡刺激素(FSH)水平、常规试管婴儿(IVF)周期 ≥ 2 个低于非活产组($P<0.05$),优质胚胎数、移植日子宫内膜厚度和 NICS 检查比例、发育成囊胚时间为 D5 比例高于非活产组($P<0.05$)。多因素 logistic 回归分析显示女方年龄偏大、发育成囊胚时间为 D6 是影响单囊胚冻胚复苏移植活产的危险因素($P<0.05$),NICS 检查是其保护因素($P<0.05$)。**结论:**NICS 筛查胎儿染色体异常可提高单囊胚冻胚复苏移植活产率,产妇高龄和囊胚发育速度过慢是影响活产的主要危险因素。在单囊胚冻胚复苏移植前有必要进行 NICS 检查,并尽量选择 D5 囊胚以提高活产率。

关键词:辅助生殖技术;单囊胚移植;复苏移植;无创胚胎染色体筛查技术;活产结局

中图分类号:R329.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)02-396-05

Application Value of Noninvasive Embryo Chromosome Screening Technology in Single Blastocyst Frozen Embryo Resuscitation Transplantation and the Factors Analysis of Live Birth Outcome*

ZHOU Zhi, ZHOU Jing, LI Ye-juan, CHEN Lin, WANG An-guo, RUAN Hai-ling, MA Ning, LU Wei-ying

(Center of Reproductive Medicine, Hainan Women and Children's Medical Center, Haikou, Hainan, 570206, China)

ABSTRACT Objective: To explore the application value of noninvasive embryo chromosome screening technology (NICS) in single blastocyst frozen embryo resuscitation transplantation, and to analyze the factors affecting of live birth outcome. **Methods:** The clinical data of 197 patients who underwent single blastocyst frozen embryo resuscitation transplantation in our hospital from January 2019 to December 2021 were retrospectively analyzed, 53 cases NICS was performed and the results showed that the blastocyst chromosome copy number was normal (NICS group), 26 cases NICS abnormal test results were excluded, 118 cases did not receive NICS test (non NICS group). Clinical data were collected and pregnancy outcomes were tracked, patients were divided into live birth group (75 cases) and non live birth group (96 cases) according to the pregnancy outcome, the factors affecting the live birth of single blastocyst frozen embryo resuscitation transplantation were analyzed by univariate and multivariate Logistic regression analysis. **Results:** The live birth rate in NICS group was higher than that in non NICS group ($P<0.05$). Univariate analysis showed that the age of women in live birth group was younger than that in non live birth group($P<0.05$), the basal follicle stimulating hormone (FSH) level and routine in vitro fertilization (IVF) cycle ≥ 2 were lower than those in non viable group ($P<0.05$), the number of high quality embryos, endometrial thickness on the day of transplantation and the proportion of NICS examination, the proportion in D5 blastocysts were higher than those in non live birth group ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that the older age of the woman and the time of blastocyst development to D6 were the risk factors affecting the live birth of single blastocyst frozen embryo resuscitation transplantation ($P<0.05$), and NICS examination was its protective factor ($P<0.05$). **Conclusion:** NICS screening for fetal chromosomal abnormalities can improve the live birth rate of single blastocyst frozen embryo resuscitation transplantation, maternal age and slow blastocyst development are the main risk factors affecting live birth. It is necessary to perform NICS examination before single blastocyst frozen embryo resuscitation transplantation, and try to choose D5 blastocysts to improve the live production rate.

Key words: Assisted reproductive technology; Single blastocyst transfer; Resuscitation transplantation; Noninvasive embryo chromosome screening technology; Live birth outcome

* 基金项目:海南省自然科学基金(高层次人才项目)(2019RC389);海南省重点研发计划项目(ZDYF2022SHFZ280;ZDYF2017086)

作者简介:周知(1981-),女,博士,主任医师,主要从事生殖内分泌、医学遗传学方面研究,E-mail:zhouzhi0914@163.com

(收稿日期:2023-07-15 接受日期:2023-08-05)

Chinese Library Classification(CLC): R329.1 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2023)02-396-05

前言

辅助生殖技术(ART)是治疗不孕不育的主要手段,包括体外受精、新鲜或冷冻胚胎移植,减少移植胚胎数目同时保证较高临床妊娠率和活产率一直是 ART 领域关注的热点^[1,2]。单囊胚冻胚复苏移植是降低多胎、早产和保障母婴安全的最佳选择,随着低温保存技术和胚胎培养系统的发展,选择性单囊胚冻胚复苏移植在 ART 领域的应用越来越广泛^[3]。选择高质量的囊胚进行移植对获得更好的围产期结局至关重要,因此胚胎植入前基因检测十分必要和重要。染色体筛查能提高临床妊娠率,降低早期流产率^[4]。植入前基因检测是 ART 染色体筛查的主要手段,但该技术有创,对胚胎后续发育存在潜在影响^[5]。无创胚胎染色体筛查技术(NICS)通过检测胚胎培养液及囊腔液中基因组脱氧核糖核酸(DNA)和线粒体 DNA,分析胚胎染色体的拷贝数,发现潜在染色体异常风险^[6,7]。本研究拟探讨 NICS 与单囊胚冻胚复苏移植临床结局的关系,并分析影响活产结局的因素,旨在为临床 ART 治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性分析 2019 年 1 月至 2021 年 12 月我院收治的 197 例行单囊胚冻胚复苏移植产妇临床资料,纳入标准:① 年龄 20-40 岁;② Gardner 囊胚形态评估适合进行胚胎移植。排除标准:① 合并严重心肺、肝肾等内科疾病;② 子宫腔形态异常;③ 子宫内膜病变、子宫内膜损伤、宫内积液;④ 未经治疗的输卵管积水;⑤ 夫妻双方有严重遗传性疾病或夫妻一方有 ART 禁忌证;⑥ 精神或心理疾病。其中 79 例 NICS 检查,53 例检测结果提示囊胚染色体拷贝数正常(NICS 组),26 例结果异常予以排除,118 例未接受 NICS 检测(非 NICS 组)。NICS 组,年龄 29~38 岁,平均(34.52±3.09)岁,不孕年限 2~6 年,平均(4.15±1.06)年;体质指数 21.05~26.87 kg/m²,平均(23.75±2.65) kg/m²;非 NICS 组,年龄 28~39 岁,平均(34.90±3.09)岁,不孕年限 2~7 年,平均(4.05±1.13)年;体质指数 20.69~26.93 kg/m²,平均(23.16±2.47) kg/m²。两组年龄、不孕年限、体质指数比较差异无统计学意义($P>0.05$),本研究已经获得我院伦理委员会批准。

1.2 单囊胚冻胚复苏移植

所有产妇均接受常规拮抗剂促排卵方案,扳机 36 h 后经阴道超声引导下穿刺取卵,行常规试管婴儿(IVF)和卵胞浆内单精子显微注射受精。采用玻璃化冷冻方式冻存,激光人工皱缩囊胚,置于 1# 平衡液(日本 KITAZATO 公司)中室温平衡 5 min,后置于 2# 玻璃化溶液(日本 KITAZATO 公司)中清洗,将囊胚吸入 Cryotop 载杆前端并迅速浸入液氮中冷冻保存。囊胚复苏后将受精卵置于 K-MINC-1000 型二氧化碳培养箱内(美国 COOK 公司),单微滴单胚胎培养法,先应用 G-1TM 培养液(瑞典 Vitrolife 公司)培养 72 h,再应用 G-2TM 培养液(瑞典 Vitrolife 公司)培养至 D5~D6,采用 Gardner 法^[8]进行形

态学评估,选择囊胚 3 期及以上,内细胞团或滋养层细胞评级均不含的 C 囊胚冷冻保存。采用人工周期准备内膜(递增法口服戊酸雌二醇),10 d 后若子宫内膜厚度到 8 mm 及以上开始黄体支持,黄体支持的第 6 天行囊胚移植。

1.3 NICS 检测

将每个胚胎的囊胚培养液约 30 μ L 转移到含 5 μ L 细胞裂解缓冲液的 RNase-DNase-free PCR 管中(苏州亿康医学检验有限公司),收集等量囊胚培养基作为阴性对照,囊胚培养液在液氮中快速冷冻,-80℃冰箱中保存待检。采用多次退火环状循环扩增技术单细胞全基因组扩增+高通量测序进行 NICS 检测,采用培养基行全基因组扩增,使用 ChromInst(苏州亿康医学检验有限公司)制备文库,在 Illumina MiSeq 平台上进行检测,从每个样品中产生大约 200 万个序列读取,提取高质量的 reads 并将其映射到人类 hg19 基因组,去除重复 reads,通过循环二进制定分割算法对每个 bin 的拷贝数进行分割,合并具有相似趋势的 bin 并计算最终的拷贝数。筛选染色体正常胚胎进行移植,不接受 NICS 检测的产妇选择形态学优质囊胚(Gardner $\geq$ 3BB 的囊胚为优质囊胚)直接进行胚胎移植。

1.4 临床结局和临床资料收集

追踪临床结局,包括临床妊娠(宫腔内见妊娠囊)、早期流产(妊娠 12 周内胚胎停止发育或流产)、活产(早产或足月产分娩婴儿存活)。临床妊娠率=临床妊娠例数/总例数 $\times$ 100%、早期流产率=孕 12 周内流产例数/临床妊娠例数 $\times$ 100%、活产率=活产周期数/临床妊娠周期数 $\times$ 100%^[10]。根据妊娠结局将产妇分为活产组(75 例)和非活产组(96 例)。收集女方年龄、男方年龄、不孕年限、不孕因素、体质指数、基础(入组后治疗前)激素水平[卵泡雌激素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌二醇(E₂)、基础窦卵泡数、IVF 周期、优质胚胎数、发育成囊胚时间、移植日子宫内膜厚度、是否接受 NICS 检查等资料。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 25.00 分析数据,Kolmogorov-Smirnov 法检验计量资料,符合正态分布以($\bar{x}\pm s$)表示,采用独立样本 t 检验。计数资料以例(%)表示采用 χ^2 检验。采用单因素及多因素 Logistic 回归分析影响单囊胚冻胚复苏移植活产的因素。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 NICS 检测结果

79 枚优质囊胚 NICS 检测结果显示染色体拷贝数正常 53 枚(见图 1),26 枚染色体拷贝数异常(见图 2),染色体拷贝数异常中 19 枚为非整倍体,5 枚为嵌合体,2 枚为结果不明。

2.2 NICS 组和非 NICS 组临床结局比较

NICS 组活产率高于非 NICS 组($P<0.05$),两组临床妊娠率、早期流产率比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.3 影响单囊胚冻胚复苏移植活产结局的因素分析

活产组女方年龄小于非活产组($P<0.05$),基础 FSH 水平、IVF 周期 $\geq$ 2 个比例低于非活产组($P<0.05$),发育成囊胚时间

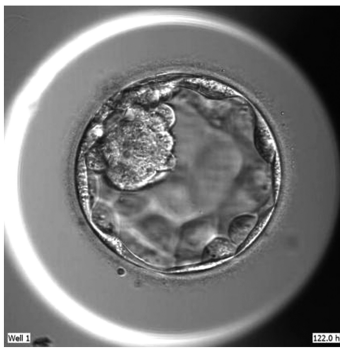


图 1 染色体拷贝数正常囊胚

Fig. 1 Chromosomal copy number of normal blastocysts

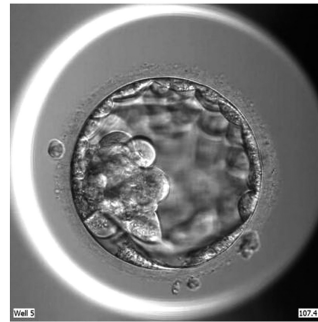


图 2 染色体拷贝数异常囊胚

Fig. 2 Abnormal chromosome copy number of blastocysts

表 1 NICS 组和非 NICS 组临床结局比较(%)

Table 1 Comparison of clinical outcomes between NICS group and non NICS group(%)

Groups	n	Clinical pregnancy rate	Early abortion rate	Live birth rate
NICS group	53	34(64.15)	6(17.65)	32(60.38)
Non NICS group	118	59(50.00)	19(32.20)	43(36.44)
χ^2		2.952	0.670	8.510
P		0.086	0.413	0.004

为 D5 比例高于非活产组($P<0.05$), 优质胚胎数、移植子宫内膜厚度和 NICS 检查比例高于非活产组($P<0.05$), 两组男方年龄、不孕年限、不孕因素、体质量指数、基础 LH、基础 E2、基础窦卵泡数比较差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 2。以女方年龄(原值输入)、基础 FSH 水平(原值输入)、IVF 周期(赋值: 0=1 个, 1= ≥ 2 个)、发育成囊胚时间(赋值: 0=D5, 1=D6)、优质胚胎数(原值输入)、移植子宫内膜厚度(原值输入)、NICS 检查(赋值: 0=是, 1=否)为自变量, 以单囊胚冻胚复苏移植活产结局(赋值: 0=活产, 1=未活产)为因变量, 建立 Logistic 回归方程, 逐步后退法排除无关变量, 最终女方年龄偏大、发育成囊胚时间为 D6 是影响单囊胚冻胚复苏移植活产的危险因素($P<0.05$), NICS 检查是保护因素($P<0.05$), 见表 3。

3 讨论

选择性单囊胚冻胚复苏移植技术将胚胎培养时间延长至囊胚期, 为选择最具活力的胚胎提供了机会, 并改善与子宫内膜的同步, 与卵裂期胚胎移植相比, 选择性单囊胚冻胚复苏移植具有更高的临床妊娠率、更高的活产率和更低的异位妊娠风险, 还可防止多胎妊娠, 降低母胎并发症的风险^[8]。早期胚胎存在染色体异常风险, 导致胚胎着床失败和妊娠丢失, 因此选择优质胚胎进行移植可降低先天性染色体异常发生率, 目前对胚胎进行分级的常用方法是通过胚胎形态评估, 但是形态学上高质量的胚胎不等于染色体正常, 大约 44.4%形态学评估高质量的第 3 天胚胎仍然存在染色体异常^[9]。植入前基因检测可选择染色体正常的胚胎, 提高受孕率, 降低 ART 的流产率^[10], 然而, 植入前基因检测需要细胞活检, 对发育中的胚胎具有侵袭性, 可能对后代造成长期伤害^[11]。因此迫切需要一种侵入性较小的技术来评估人类胚胎着床前的遗传和染色体缺陷。

2013 年 Palini 等首次在宫腔液中检测到 DNA^[12], 发现胚胎可能释放低水平的基因组 DNA 和高水平的线粒体 DNA 到

培养基和囊胚中^[13], 并且从培养基中提取线粒体 DNA 和基因组 DNA 的成功率高达 98.8%和 63.0%^[14], 因此基于胚胎培养基的微创着床前遗传学筛查技术在临床应用越来越多。NICS 是利用培养基与囊胚液评估染色体异常和线粒体 DNA 拷贝数的侵入性较小的胚胎选择方法, 可筛选高发育潜力和正常染色体胚胎^[15]。本研究选择 Gardner 形态学质量为优的囊胚, 经 NICS 检测发现染色体拷贝数异常 26 枚, 表明胚胎形态学评分对胚胎质量的评价存在一定弊端, 形态学检查不能排除染色体异常, 而 NICS 可弥补胚胎形态学检查的弊端。进一步分析临床结局发现 NICS 组活产率高于非 NICS 组, NICS 检查是单囊胚冻胚复苏移植活产保护因素, 提示 NICS 检查可改善单囊胚冻胚复苏移植的临床结局, 提高新生儿活产率, 降低新生儿先天染色体异常风险。一项多中心前瞻性试点研究表明, NICS 筛查胚胎倍性可提高胚胎移植手术患者的活产率^[16]。分析原因为移植前检出胚胎非整倍体, 可提高妊娠效率, 改善妊娠结局^[17], NICS 可有效筛查非整倍体胎儿, 避免染色体异常胚胎植入, 进而提高活产率。

本研究回归分析结果显示女方年龄、囊胚发育时间是影响活产的主要影响因素。研究显示随着年龄的增长, 女性卵巢储备和卵母细胞质量的下降, 生育能力也自然下降, 尤其是 35 岁之后卵母细胞质量加速下降^[18], 卵母细胞非整倍体风险增加, 这与交叉形成缺陷、内聚蛋白丢失、纺锤体变形、纺锤体组装检查点故障、微管-着丝点附着失败、着丝点错误定向、线粒体功能障碍诱导的活性氧增加、蛋白质过乙酰化和 DNA 损伤有关^[19,20]。因此年龄越大, 卵母细胞质量越低, 非整倍体风险越大, 活产率越低。体外培养的胚胎通常在受精后第 5 天(D5)发育成囊胚, 但也有一些胚胎发育较慢, 在第 6 天(D6)或更晚才发育成囊胚, 本研究发现 D5 囊胚具有更高的活产率, Wang 等人^[21]也发现 D5 组的着床率、临床妊娠率、活产率均显著高于 D6 组, 提示胚胎发育速度对 ART 临床结局有一定影响。曾泳

表 2 影响单囊胚冻胚复苏移植活产结局的单因素分析[($\bar{x} \pm s$)/例(%)]Table 2 Single factor analysis of single blastocyst frozen embryo resuscitation transplantation live birth outcome [($\bar{x} \pm s$)/n(%)]

Project	Live birth group (n=75)	Non live birth group (n=96)	t/χ^2 value	P value
Female age (year)	33.21±4.03	36.01±3.41	4.818	0.000
Male age (year)	38.21±4.36	38.35±4.12	0.215	0.830
Infertility duration (year)	4.13±1.39	4.05±1.26	0.394	0.694
Infertile factors [n(%)]				
Ovulation disorder	24(32.00)	33(34.38)	1.272	0.736
Matrix factor	16(21.33)	23(23.95)		
Male factor	21(28.00)	28(29.17)		
Unknown factors	14(18.67)	12(12.50)		
Body mass index(kg/m ²)	23.23±2.42	23.05±2.51	0.473	0.637
Basal FSH(U/L)	8.63±2.50	10.21±2.09	6.891	0.000
Basal LH(U/L)	4.79±1.13	3.81±1.20	0.111	0.912
Basal E ₂ (pmol/L)	55.72±8.12	60±12.09	1.000	0.319
Basal antral follicle count(n)	10.51±2.13	9.09±0.81	1.886	0.061
IVF cycle [n(%)]				
One	52(69.33)	45(46.88)	4.618	0.032
≥ Two	23(30.67)	51(53.12)		
Number of optimal embryo (n)	5.72±0.35	4.03±0.42	5.146	0.000
Endometrial thickness on transplantation day(mm)	12.37±2.15	9.26±2.19	2.658	0.009
The time of blastocyst development [n(%)]				
D5	41(54.67)	32(33.33)	7.832	0.005
D6	34(45.33)	64(66.67)		
NICS check up [n(%)]				
Exist	38(50.67)	15(15.62)	7.550	0.006
No	37(49.33)	81(84.38)		

表 3 影响单囊胚冻胚复苏移植活产结局的 Logistic 回归分析

Table 3 Logistic regression analysis of the effect of single blastocyst frozen embryo resuscitation transplantation on the live birth outcome

Factor	β	SE	Wald χ^2	OR(95%CI)	P value
Constant term	12.352	3.062	16.273	-	0.000
The woman was older	0.712	0.296	5.786	2.038(1.141~3.641)	0.005
The time of blastocyst development was D6	0.502	0.201	6.238	1.652(1.114~2.450)	0.002
NICS check up	-0.624	0.265	5.545	0.536(0.319~0.901)	0.009

梅等人^[22]认为 D5 囊胚有更高的着床潜能和发育潜能, D5 囊胚冷冻复苏移植可提高胚胎着床率和临床妊娠率。分析原因: 首先, 子宫内膜对 D5 囊胚的容受性高于 D6^[23], 而良好的子宫内膜容受性可为胚胎提供附着、植入和发育的机会, 改善妊娠结局^[23]; 其次, D6 囊胚发育迟缓, 异常纺锤体发生风险高^[24], 由于体外培养时间较长, D6 囊胚在冷冻复苏过程中耐受性更差, 容易发生胚胎损伤, 因此 D6 囊胚活产率较低^[25]。

综上, NICS 可筛查胎儿染色体异常, 提高单囊胚冻胚复苏

移植活产率, 产妇高龄和囊胚发育速度过慢是影响活产的主要危险因素, 临床应予以重点关注。

参考文献(References)

- [1] Graham ME, Jelin A, Hoon AH Jr, et al. Assisted reproductive technology: Short- and long-term outcomes [J]. Dev Med Child Neurol, 2023, 65(1): 38-49.
- [2] Hu KL, Zheng X, Hunt S, et al. Blastocyst quality and perinatal outcomes in women undergoing single blastocyst transfer in frozen

- cycles[J]. Hum Reprod Open, 2021, 2021(4): hoab036.
- [3] 李真, 王可欣, 任炳楠, 等. 冷冻胚胎复苏移植周期不同质量和发育速度的单囊胚移植的临床结局[J]. 郑州大学学报(医学版), 2022, 57(5): 722-726.
- [4] 肖露, 权利, 梁红星, 等. 无创胚胎染色体筛查技术对单囊胚冻胚复苏移植临床结局的影响[J]. 广西医学, 2020, 42(14): 1795-1798.
- [5] 梁天晓, 谭季春. 胚胎植入前基因检测发展现状及研究进展 [J]. 临床军医杂志, 2020, 48(4): 475-477.
- [6] 孙波, 孙波, 王勇, 张春晖, 等. 无创胚胎染色体筛查在不同年龄段胚胎植入前遗传学检测的有效性 [J]. 中国医师杂志, 2021, 23(9): 1290-1293, 1298.
- [7] Xu J, Fang R, Chen L, et al. Noninvasive chromosome screening of human embryos by genome sequencing of embryo culture medium for in vitro fertilization [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(42): 11907-11912.
- [8] 林佳. 辅助生殖技术中临床热点问题研究 -- 单胚胎移植系列研究 [D]. 山东: 山东大学, 2020.
- [9] Zhang J, Xia H, Chen H, et al. Less-invasive chromosome screening of embryos and embryo assessment by genetic studies of DNA in embryo culture medium [J]. J Assist Reprod Genet, 2019, 36(12): 2505-2513.
- [10] 李太旻, 李蓉, 王海燕. 胚胎植入前基因检测技术在体外受精 - 胚胎移植中的应用现状[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2020, 40(11): 952-957.
- [11] 杨华, 吴卓, 李春苑, 等. 胚胎植入前基因检测技术的研究进展和思考[J]. 广西医学, 2019, 41(21): 2764-2767, 2777.
- [12] Palini S, Galluzzi L, De Stefani S, et al. Genomic DNA in human blastocoele fluid[J]. Reprod Biomed Online, 2013, 26(6): 603-610.
- [13] Hammond ER, McGillivray BC, Wicker SM, et al. Characterizing nuclear and mitochondrial DNA in spent embryo culture media: genetic contamination identified[J]. Fertil Steril, 2017, 107(1): 220-228.
- [14] Stigliani S, Anserini P, Venturini PL, et al. Mitochondrial DNA content in embryo culture medium is significantly associated with human embryo fragmentation[J]. Hum Reprod, 2013, 28(10): 2652-2660.
- [15] Xi H, Qiu L, Yao Y, et al. Noninvasive Chromosome Screening for Evaluating the Clinical Outcomes of Patients With Recurrent Pregnancy Loss or Repeated Implantation Failure [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13(6): 896357.
- [16] Sato T, Sugiura-Ogasawara M, Ozawa F, et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: a comparison of live birth rates in patients with recurrent pregnancy loss due to embryonic aneuploidy or recurrent implantation failure [J]. Hum Reprod, 2019, 34(12): 2340-2348.
- [17] 周海燕, 吴彩云, 陈大蔚, 等. 胚胎植入前染色体非整倍体检测在不同适应证中的助孕结局分析[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(4): 687-692.
- [18] Ahmed TA, Ahmed SM, El-Gammal Z, et al. Oocyte Aging: The Role of Cellular and Environmental Factors and Impact on Female Fertility[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 54(1247): 109-123.
- [19] Ma JY, Li S, Chen LN, et al. Why is oocyte aneuploidy increased with maternal aging?[J]. J Genet Genomics, 2020, 47(11): 659-671.
- [20] 兰素伟, 王杏茶, 王春辉, 等. 不同病变类型子宫内膜异位症对卵巢储备功能及辅助生殖技术结果的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(18): 3554-3557, 3590.
- [21] Wang X, Zhen J, Sun Z, et al. Effects of fifth day (D5) or sixth day (D6) frozen-thawed blastocysts on neonatal outcomes [J]. Zygote, 2016, 24(5): 684-691.
- [22] 曾泳梅, 王琪, 孟祥黔, 等. D5 与 D6 囊胚冷冻复苏移植后妊娠结局和新生儿情况比较 [J]. 湖南中医药大学学报, 2016, 36(A01): 304-305.
- [23] Neykova K, Tosto V, Giardina I, et al. Endometrial receptivity and pregnancy outcome [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2022, 35(13): 2591-2605.
- [24] Xu H, Qiu S, Chen X, et al. D6 blastocyst transfer on day 6 in frozen-thawed cycles should be avoided: a retrospective cohort study [J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2020, 20(1): 519.
- [25] Bourdon M, Pocate-Cheriet K, Finet de Bantel A, et al. Day 5 versus Day 6 blastocyst transfers: a systematic review and meta-analysis of clinical outcomes[J]. Hum Reprod, 2019, 34(10): 1948-1964.