

· 临床研究 ·

胚胎植入前遗传学检测降低高龄冻融胚胎移植患者早期自然流产率的研究

邢俊¹, 王洁¹, 黄晨阳¹, 周建军^{2*}

¹南京大学医学院附属鼓楼医院生殖医学中心, 江苏 南京 210008; ²南京大学分子生殖医学中心, 江苏 南京 210008

[摘要] 目的:探讨胚胎植入前遗传学检测(preimplantation genetic testing, PGT)对高龄患者冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)周期临床妊娠早期自然流产率的影响。方法:回顾性分析2015年4月1日—2020年7月30日南京大学医学院附属鼓楼医院生殖医学中心 ≥ 35 岁行PGT-FET的103个周期与常规FET的1495个周期的患者资料,采用1:2倾向性评分匹配的方法匹配出具有相似基线特征的患者队列,对匹配后的两组进行临床妊娠率、早期自然流产率、活产率等临床指标进行比较。结果:经1:2倾向性评分匹配,PGT-FET组中103例患者和常规FET组的206例患者成功配对,两组患者基线资料相似,差异无统计学意义。PGT-FET组早期自然流产率显著低于常规FET组(11.11% vs. 27.18%, $P < 0.05$),差异有统计学意义;PGT-FET组活产率高于常规FET组(43.69% vs. 32.52%, $P = 0.05$),但差异无统计学意义;两组生化妊娠率、临床妊娠率、晚期自然流产率、多胎分娩率差异均无统计学意义。PGT的3个亚组胚胎植入前染色体非整倍体检测(preimplantation genetic testing for aneuploidy, PGT-A)组、胚胎植入前染色体结构重排检测(preimplantation genetic testing for structural rearrangements, PGT-SR)组、胚胎植入前单基因病遗传学检测(preimplantation genetic testing for monogenic disease, PGT-M)组生化妊娠率、临床妊娠率、早期自然流产率、晚期自然流产率、活产率、多胎分娩率差异均无统计学意义。结论:PGT可以降低高龄FET患者临床妊娠早期自然流产率,可能与PGT技术可以筛除高龄所致的增多的非整倍体胚胎有关。

[关键词] 胚胎植入前遗传学检测;年龄;早期流产率

[中图分类号] R711.6

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2021)11-1663-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20211117

《中国高龄不孕女性辅助生殖临床实践指南》定义35岁作为女性生殖高龄的分界线^[1], ≥ 35 岁的女性,不孕症发生率逐渐增加,其自然流产风险随年龄增加显著增高,妊娠率和活产率显著下降^[2]。胚胎植入前遗传学检测(preimplantation genetic testing, PGT)是一种基因诊断方法,利用PGT技术能够识别出染色体异常的胚胎,从而使染色体正常的胚胎得以移植,已成为辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)的一个重要组成部分^[3]。PGT通过对胚胎染色体数目异常的筛查,在临床中被用于改善高龄妇女体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)的妊娠结局,通过选择染色体数目正常的胚胎进行移植可以提高临床妊娠率和胚胎种植率,降低流产率,提高活产率^[4]。研究显示,对 ≥ 35 岁高龄患者行胚胎植入前基因非整倍体

检测(preimplantation genetic testing for aneuploidy, PGT-A)助孕可降低流产率^[5],但也有研究持反对观点^[6]。目前多数研究未区分活检胚胎类型(分裂胚或者囊胚),并且在冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)阶段没有统一的内膜准备方案,对于女方年龄、内膜等混杂因素也很少纳入分析。基于此,本研究采用倾向性评分匹配(propensity-score matching, PSM),排除了年龄、子宫内膜厚度、胚胎天数等混杂因素对妊娠结局的干扰,并统一冻融周期内膜准备方案,探讨PGT对 ≥ 35 岁高龄患者FET周期早期自然流产率的影响,以期在临床工作中为患者提供更合理的建议。

1 对象和方法

1.1 对象

收集2015年4月1日—2020年7月30日南京大学医学院附属鼓楼医院生殖医学中心行激素替代周期FET的1598个单囊胚FET周期,其中常规FET周

[基金项目] 国家自然科学基金(81200127);江苏省社会发展科技计划项目(BL2014003);南京市卫生青年人才培养工程
*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhou6jj@hotmail.com

期1 495个,行PGT助孕的PGT-FET共103个周期。103个PGT-FET周期中56个周期为PGT-A,33个周期为胚胎植入前染色体结构重排检测(preimplantation genetic testing for structural rearrangements,PGT-SR),14个周期为胚胎植入前单基因病遗传学检测(preimplantation genetic testing for monogenic disease,PGT-M),均采用二代测序法进行全染色体拷贝数变异(copy number variant,CNV)分析,以筛选整倍体囊胚进行移植。排除了非高龄(<35岁)、生殖道畸形、子宫腺肌症、子宫内膜异位症患者。所有患者签署知情同意书,其中进入临床PGT周期的患者均额外签署了PGT知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方案

本中心采用常规的控制性促排卵方案,监测患者外周血清性激素变化情况,同时阴道超声监测卵泡发育情况,当有2个卵泡直径 ≥ 18 mm时,注射人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin,hCG)5 000~10 000 U,36 h后行阴道超声介导取卵。

1.2.2 体外受精、胚胎培养和囊胚活检

取卵术中取出的成熟M II 卵母细胞行卵胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection,ICSI),ICSI术后16~18 h进行原核观察,以受精卵出现双原核即2PN为正常受精。在ICSI注射后第3天,使用激光在卵裂期胚胎透明带切1个10 μ m的孔径。囊胚的评分由2位高年资胚胎学家依据Gardner囊胚评分标准进行评估^[7-8]。使用5期和6期囊胚用于活检,用内径20 μ m的活检针从孵出的囊胚滋养层中吸取5~10个细胞后,采用激光辅助切割。取下的细胞用磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline,PBS)洗涤后,转移至0.2 mL PCR管于-80 $^{\circ}$ C冰箱储存。活检后的囊胚立即进行玻璃化冷冻,储存于液氮中。

未行PGT检测的患者,在授精后第3天,选择2枚优质胚胎进行冷冻。剩余胚胎的细胞数 ≥ 4 个且未发育停滞,在原核期未观察到多核现象,则继续进行囊胚培养,依据Gardner囊胚评分标准,4期、5期和6期囊胚为可冷冻的囊胚。

1.2.3 全基因组扩增和基于二代测序的染色体CNV分析

活检取出的滋养层细胞采用REPLI-g单细胞扩增试剂盒(Qiagen公司,德国)或用Sureplex单细胞扩增试剂盒(Illumina公司,美国)进行全基因组扩增,构建DNA文库,采用MiSeq测序仪(Illumina公司,美国)进行DNA高通量测序^[9-10],检测范围涵盖

23对染色体,能检测到4 Mb以上片段微缺失/微重复。筛选出正常的、可移植的胚胎,择期行胚胎移植。

1.2.4 子宫内膜的准备、胚胎移植

入组患者均采用激素替代周期方案进行内膜准备,服药14~20 d,根据患者内膜情况及性激素水平肌肉注射黄体酮注射液(浙江仙琚制药)60 mg/d进行内膜转化,转化6 d后安排解冻囊胚移植。移植后14 d检测血清hCG,hCG>200 mU/mL为生化妊娠,移植后28~30 d经阴道超声检查见妊娠囊者为临床妊娠。妊娠12周前发生的自然流产定义为早期自然流产,其余孕周<28周或胎儿体重<1 000 g的流产为晚期流产。按期随访至胎儿出生,记录胎儿出生数量及情况。

1.3 统计学方法

使用SPSS 22.0对数据进行整理和统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用Kolmogorov-Smirnov test对各组数据的进行正态性检验,符合正态分布的采用独立样本 t 检验,不符合正态分布则用Mann-Whitney U 检验进行连续变量数据的两组间比较。分类变量数据则采用卡方检验或Fisher精确检验。PSM过程设定卡钳值为0.05,对患者基础特征(女方年龄、转化日子宫内膜厚度<8 mm或 ≥ 8 mm、移植第5天或第6天囊胚)3个因素采用1:2随机匹配法进行匹配。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PGT-FET周期与常规FET周期的人群特征及临床结局比较

比较PGT-FET组103个周期和常规FET组的1 495个周期的人群特征及临床结局。结果显示,两组间的女方年龄、男方年龄等基线资料差异无统计学意义,周期数据提示两组移植前子宫内膜厚度无显著差异。但PGT-FET组与常规FET组第5天囊胚(D5)占总体移植胚胎(D5+D6)的比例差异有统计学意义。在此基础上,分析两组FET后的临床妊娠结局。结果显示,PGT-FET组患者早期自然流产率显著低于常规FET组(11.11% vs. 25.31%, $P < 0.05$),PGT-FET组活产率显著高于常规FET组(43.69% vs. 33.04%, $P < 0.05$),两组间的生化妊娠率、临床妊娠率、晚期自然流产率、多胎分娩率差异均无统计学意义。

本研究调整女方年龄、子宫内膜厚度和移植胚胎天数(D5/D6)等混杂因素对临床妊娠结局的潜在影响,在两组之间进行了1:2的PSM,随机筛选出

PGT-FET组中的103个周期和常规FET组中的206个周期,并比较了匹配后两组患者的一般基线资料及周期内情况(表1)。结果显示两组间的女方年龄、男方年龄、移植前内膜厚度、移植胚胎天数占比差异均无统计学意义。在此基础上,分析两组FET的临床妊娠结局,结果显示:PGT-FET组早期自然流产率显著低于常规FET组(11.11% vs. 27.18%, $P < 0.05$),差异有统计学意义而活产率高于常规FET组(43.69% vs. 32.52%, $P=0.05$),但差异无统计学意义;两组间的生化妊娠率、临床妊娠率、晚期自然流产率、多胎分娩率差异均无统计学意义。

2.2 PGT-A、PGT-SR、PGT-M周期的人群特征描述及临床结局比较

103个PGT-FET周期中56个为PGT-A,33个为PGT-SR,14个为PGT-M,均采用二代测序法进行全染色体CNV分析,以筛选整倍体囊胚进行移植。比较了PGT-A、PGT-SR、PGT-M冻融胚胎的人群特征及临床结局。结果显示3组间的女方年龄、男方年龄等基线资料差异无统计学意义,周期数据提示两组移植前子宫内膜厚度、第5天囊胚、第6天囊胚(D5、D6)占总体移植胚胎(D5+D6)的比例,差异均无统计学意义。

在此基础上,分析3组间FET后的临床妊娠结局。结果显示,PGT-A、PGT-SR、PGT-M冻融胚胎3组间的生化妊娠率、临床妊娠率、早期自然流产率、晚期自然流产率、活产率、多胎分娩率差异均无统计学意义(表2)。

表1 PSM后PGT-FET组与常规FET组的人群特征描述及临床结局比较

观察指标	匹配后		P值
	常规FET组 (n=206)	PGT-FET组 (n=103)	
女方年龄(岁)	37.71 ± 2.67	37.42 ± 2.27	0.34
男方年龄(岁)	38.65 ± 4.61	38.67 ± 4.32	0.97
移植前内膜厚度(例)			
< 8 mm	10	5	0.99
≥8 mm	196	98	
胚胎天数[n(%)]			0.47
D5[D5/(D5+D6)]	107(51.94)	58(56.31)	
D6[D6/(D5+D6)]	99(48.06)	45(43.69)	
妊娠结局[% (n/N)]			
生化妊娠率	53.40(110/206)	58.25(60/103)	0.42
临床妊娠率	50.00(103/206)	52.43(54/103)	0.69
早期自然流产率 ^a	27.18(28/103)	11.11(6/54)	0.04
晚期自然流产率 ^a	3.88(4/103)	3.70(2/54)	0.99
活产率	32.52(67/206)	43.69(45/103)	0.05
多胎分娩率	1.49(1/67)	6.67(3/45)	0.08

a:以获得临床妊娠的病例计算流产率。

3 讨论

既往研究显示,ART的总妊娠丢失率约29%,其中58%发生于妊娠6周之内,而妊娠超过20周的妊娠丢失率仅为2%^[11]。妊娠丢失的主要原因有高龄、既往流产史、感染、肥胖和激素水平异常等^[12]。早期妊娠丢失是指妊娠12周内的妊娠丢失,是评价ART成功率的重要指标之一^[13],ART相关的妊娠丢

表2 PGT-A、PGT-SR、PGT-M周期的人群特征描述及临床结局比较

观察指标	PGT-A组(n=56)	PGT-SR组(n=33)	PGT-M组(n=14)	P值
女方年龄(岁)	37.79 ± 2.42	36.70 ± 2.08	37.64 ± 2.13	0.09
男方年龄(岁)	39.12 ± 4.24	38.00 ± 4.74	38.43 ± 4.32	0.49
移植前内膜厚度(例)				
< 8 mm	4	1	0	0.45
≥8 mm	52	32	14	
胚胎天数[n(%)]				
D5[D5/(D5+D6)]	31(55.36)	19(57.58)	8(57.14)	0.98
D6[D6/(D5+D6)]	25(44.64)	14(42.42)	6(42.86)	
妊娠结局[% (n/N)]				
生化妊娠率	55.36(31/56)	60.61(20/33)	64.29(9/14)	0.79
临床妊娠率	53.57(30/56)	51.51(17/33)	50.00(7/14)	0.97
早期自然流产率 ^a	10.00(3/30)	11.76(2/17)	14.29(3/7)	0.94
晚期自然流产率 ^a	0(0/30)	5.88(1/17)	14.26(1/7)	0.17
活产率	48.21(27/56)	39.39(13/33)	35.71(5/14)	0.58
多胎分娩率	7.41(2/27)	7.69(1/13)	0(0/5)	0.82

a:以获得临床妊娠的病例计算流产率。

失也主要发生在妊娠早期^[14]。自然流产的因素很多,其中,50%~60%的自然流产与胚胎染色体异常相关^[15]。35岁以后,女性的生育力明显下降^[16],高龄患者的卵子由于氧化应激损伤累积等原因,在减数分裂时容易发生错配、重组、线粒体减少以及纺锤体着丝粒异常等,卵子非整倍体率较年轻女性增高,从而导致胚胎染色体异常,发生早期妊娠丢失^[17]。纺锤体聚合检验点是细胞减数分裂 I 期同源染色体和减数分裂 II 期姐妹染色单体能正确分离的保障。随着年龄的增长,卵母细胞内纺锤体聚合检验点蛋白表达下降,容易发生染色体分离缺陷,导致生殖细胞非整倍发生率升高^[18]。

研究报道对高龄女性患者卵母细胞的第一极体和第二极体进行活检,荧光原位杂交分析(fluorescence in situ hybridization, FISH)结果显示,高龄女性卵母细胞的非整倍体率显著增加^[19]。而对体外受精中未受精的 M II 卵母细胞进行了 R 显带技术分析,证明女性年龄和卵母细胞非整倍体发生率呈正相关^[20]。

另有报道,应用染色体微阵列技术(chromosomal microarray analysis, CMA)检测自然流产组织的染色体数目和结构异常,结果显示异常结果检出率为 55.34%。其中,相较于年龄 < 35 岁的患者,≥35 岁患者的流产组织染色体异常检出率显著升高(83.33% vs. 51.65%),提示高龄是导致胚胎染色体异常发生率升高的高危因素^[21]。既往 Franasiak 等^[22]的研究也证实了这一结论。

对 PGT 治疗周期中女性不同年龄段的胚胎正常率及临床结局进行的回顾性分析显示,女性年龄 ≥35 岁时,胚胎染色体正常率为 29.1%,显著低于年龄 < 25 岁患者(50.00%)及 25~34 岁患者(50.15%)。年龄 ≥35 岁时女性临床妊娠率为 40.00%,显著低于年龄 < 25 岁的患者(83.33%)及 25~34 岁的患者(82.50%),提示女性年龄升高会显著降低临床妊娠率和胚胎的染色体正常率^[23]。

既往研究对年龄 ≥35 岁的不孕症高龄病例使用多因素逻辑回归分析,推测其接受 ART 后妊娠丢失的危险因素。结果显示年龄 ≥35 岁的高龄不孕症患者,年龄、既往妊娠流产史(≥3 次)和 hCG 日子宫内膜厚度是影响其接受 ART 治疗后发生妊娠丢失的主要危险因素^[24-25]。在此基础上,另有研究对高龄患者的年龄进一步分组,将患者年龄分为 36~37 岁组、38~39 岁组、40 岁组、41 岁组、42 岁组、43 岁组、44 岁组和 45~48 岁组,进一步分析不同年龄段早期

妊娠丢失率与胚胎移植数及胚胎质量的关系,结果显示年龄是导致早期妊娠丢失的无法补救的危险因素,随年龄增长,患者临床妊娠率、活产率降低,早期妊娠丢失率显著升高,并且各年龄组早期妊娠丢失率与胚胎质量和移植胚胎数没有显著关系^[26]。

关于高龄患者的 PGT-A 是否可以改善患者自然流产结局仍存在广泛争议。一项多中心随机对照试验表明,与仅根据形态学标准进行胚胎选择相比,高龄患者中,PGT-A 可显著提高 35~40 岁女性每移植周期的持续妊娠率及活产率^[5]。但是,也有学者对这篇研究提出质疑^[6]。一项回顾性队列研究发现,35~37 岁及 >37 岁的患者中,非 PGT-A 组与对照组在活产率和流产率方面差异均无统计学意义^[27]。此外,既往荟萃分析结果显示,在对流产率进行年龄亚组分析后,35 岁以上的妇女采取 PGT-A 时,PGT-A 组与对照组间的差异无统计学意义^[28]。但是多数研究并未区分第 3 天卵裂期胚胎活检或者第 5 天囊胚活检,并且 FET 周期中没有统一内膜准备方案。

考虑到年龄为不可逆转因素,本研究并未对患者年龄进一步分组。同时考虑了子宫内膜厚度及移植胚胎不同天数对临床结局的潜在影响,对初始数据进行了 PSM 以控制混杂因素的影响。着重探讨 PGT 技术对结局的影响,试图证实可以通过筛除高龄患者的非整倍体胚胎来降低其早期自然流产率。研究结果显示,PGT 可以显著降低高龄患者 FET 周期的早期自然流产率。提示对于符合 PGT 指征的不孕症患者,应考虑尽早接受 PGT 助孕治疗。同时,我们也注意到,匹配前相较于常规 FET 组,PGT-FET 组患者早期自然流产率显著降低、活产率显著升高。而匹配后 PGT-FET 组活产率虽有升高,但差异无统计学意义,这可能与本研究样本量小相关。此外,本研究对 PGT 周期进行了更细化的分析,PGT 周期的 3 个亚组 PGT-A、PGT-SR、PGT-M 周期的人群特征描述及临床结局的差异均无统计学意义。本研究尚为一项初步的回顾性研究,在此基础上,计划进一步进行随机分组的前瞻性队列研究,为 PGT 广泛应用于高龄患者提供理论基础。

[参考文献]

- [1] 蒋 励,陈耀龙,罗旭飞,等. 中国高龄不孕女性辅助生殖临床实践指南[J]. 中国循证医学杂志,2019,19(3): 253-270
- [2] HEFFNER L J. Advanced maternal age—how old is too old?[J]. N Engl J Med,2004,351(19):1927-1929
- [3] ZEGERS-HOCHSCHILD F, ADAMSON G D, DYER S,

- et al. The international glossary on infertility and fertility care,2017[J]. *Hum Reprod*,2017,32(9):1786-1801
- [4] 中国医师协会生殖医学专业委员会. 高龄女性不孕诊治指南[J]. *中华生殖与避孕杂志*,2017,37(2):87-100
- [5] MUNNÉ S, KAPLAN B, FRATTARELLI J L, et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial[J]. *Fertil Steril*, 2019, 112(6): 1071-1079.e7
- [6] ORVIETO R, GLEICHER N. Preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A)—finally revealed[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2020, 37(3): 669-672
- [7] GARDNER D K, SCHOOLCRAFT W B. Culture and transfer of human blastocysts[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 1999, 11(3): 307-311
- [8] ALFARAWATI S, FRAGOULI E, COLLS P, et al. The relationship between blastocyst morphology, chromosomal abnormality, and embryo gender[J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(2): 520-524
- [9] TAN Y, YIN X, ZHANG S, et al. Clinical outcome of preimplantation genetic diagnosis and screening using next generation sequencing[J]. *Gigascience*, 2014, 3(1): 30
- [10] LI N, WANG L, WANG H, et al. The performance of whole genome amplification methods and next-generation sequencing for pre-implantation genetic diagnosis of chromosomal abnormalities[J]. *J Genet Genomics*, 2015, 42(4): 151-159
- [11] SUNDERAM S, KISSIN D M, CRAWFORD S B, et al. Assisted reproductive technology surveillance - United States, 2014 [J]. *Morb Mortal Week Rep Surveillance Summ*, 2017, 66(6): 1-24
- [12] SAPRA K J, JOSEPH K S, GALEA S, et al. Signs and symptoms of early pregnancy loss[J]. *Reprod Sci*, 2017, 24(4): 502-513
- [13] YU B, FRITZ R, XIE X, et al. The impact of using donor sperm in assisted reproductive technology cycles on perinatal outcomes[J]. *Fertil Steril*, 2018, 110(7): 1285-1289
- [14] WENBERG A L, OPDAHL S, BERGH C, et al. Effect of maternal age on maternal and neonatal outcomes after assisted reproductive technology[J]. *Fertil Steril*, 2016, 106(5): 1142-1149.e14
- [15] VAN DEN BERG M M, VAN MAARLE M C, VAN WELY M, et al. Genetics of early miscarriage [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822(12): 1951-1959
- [16] AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS COMMITTEE ON GYNECOLOGIC PRACTICE AND PRACTICE COMMITTEE. Female age-related fertility decline. Committee opinion No. 589 [J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(3): 633-634
- [17] WU T, YIN B, ZHU Y, et al. Molecular cytogenetic analysis of early spontaneous abortions conceived from varying assisted reproductive technology procedures [J]. *Mol Cytogenet*, 2016, 9: 79
- [18] HOMER H A. Mad2 and spindle assembly checkpoint function during meiosis I in mammalian oocytes [J]. *Histol Histopathol*, 2006, 21(8): 873-886
- [19] KULIEV A, CIESLAK J, ILKEVITCH Y, et al. Chromosomal abnormalities in a series of 6, 733 human oocytes in preimplantation diagnosis for age-related aneuploidies [J]. *Reprod Biomed Online*, 2003, 6(1): 54-59
- [20] PELLESTOR F, ANDRÉO B, ARNAL F, et al. Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes [J]. *Hum Genet*, 2003, 112(2): 195-203
- [21] 陈伟萍,潘海滔,张涛. 103例自然流产组织的染色体微阵列结果分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2021, 29(3): 392-394
- [22] FRANASIAK J M, FORMAN E J, HONG K H, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15, 169 consecutive trophoblast biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening [J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(3): 656-663.e1
- [23] 李昉,仲万霞,姚宁,等. 女性年龄对胚胎植入前遗传学诊断及筛查结局的影响[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2017, 55(1): 60-62, 68
- [24] 杨霞,岳丰,孙小燕. 辅助生殖技术治疗高龄不孕症患者妊娠丢失的危险因素分析[J]. *中国妇幼保健*, 2018, 33(3): 631-633
- [25] 窦倩,谭丽,马丽影,等. 高龄不孕症患者辅助生殖技术中早期妊娠丢失的危险因素分析[J]. *现代妇产科进展*, 2017, 26(5): 380-381, 384
- [26] 张庆颜,张俊,周星宇,等. 高龄不孕症患者冻融胚胎移植胚胎数目和质量与早期妊娠丢失率的关系[J]. *南方医科大学学报*, 2021, 41(7): 1050-1055
- [27] SARKAR P, JINDAL S, NEW E P, et al. The role of preimplantation genetic testing for aneuploidy in a good prognosis IVF population across different age groups [J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2021, 67(5): 366-373
- [28] SIMOPOULOU M, SFAKIANOUDIS K, MAZIOTIS E, et al. PGT-A: who and when? A systematic review and network meta-analysis of RCTs [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2021, 38(8): 1939-1957

[收稿日期] 2021-08-27