



• 生育力下降现状的生殖医学对策 •

|| 院士特稿 ||

以生殖健康为导向的辅助生殖技术发展*

胡沛然¹, 潘洁雪¹, 刘欣梅¹, 黄荷凤^{1,2,3,4△}

1. 复旦大学附属妇产科医院 生殖与发育研究院(上海 200030); 2. 上海市生殖与发育重点实验室(上海 200030);
3. 中国医学科学院 胚胎源性疾病研究创新单元2019RU056(上海 200030);
4. 浙江大学医学院附属妇产科医院 生殖遗传教育部重点实验室(杭州 310030)

【摘要】 辅助生殖技术(assisted reproductive technologies, ARTs)作为生殖医学的核心内容之一,涵盖了从配子成熟、合子形成到胚胎发育等多个关键生命早期发育过程。随着全球生育力下降趋势的加剧,不孕症患者倾向于选择ARTs以实现生育愿望。同时,人们也越来越关注ARTs可能带来的不利影响。本文旨在讨论目前临床上常用的几种辅助生殖技术〔如体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)、卵胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)、双相卵细胞体外成熟(biphasic *in vitro* maturation, biphasic IVM)、胚胎冷冻及冷冻胚胎复苏移植(frozen embryo transfer, FET)、胚胎植入前遗传学检测(preimplantation genetic testing, PGT)、非侵入性胚胎遗传学检测(non-invasive PGT, niPGT)等〕及其前沿发展,重新审视各项技术在以生殖健康为目标的辅助生殖过程中的地位,并进一步讨论辅助生殖技术对子代健康的影响。在保障患者和子代健康的导向下,发展和完善辅助生殖技术,提高技术的高效性和安全性,造福人类生殖健康。

【关键词】 辅助生殖技术 生殖健康 体外受精 单精子注射 胚胎植入前遗传学检测 综述

Reproductive Health-Oriented Development in Assisted Reproductive Technologies HU Peiran¹, PAN Jiexue¹, LIU Xinmei¹, HUANG Hefeng^{1,2,3,4△}. 1. Obstetrics and Gynecology Hospital, Institute of Reproduction and Development, Fudan University, Shanghai 200030, China; 2. Shanghai Key Laboratory of Reproduction and Development, Shanghai 200030, China; 3. Research Units of Diseases of Embryonic Origin (No. 2019RU056), Chinese Academy of Medical Sciences, Shanghai 200030, China; 4. Key Laboratory of Reproductive Genetics of the Ministry of Education, Department of Reproductive Endocrinology, Women's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310030, China

△ Corresponding author, E-mail: huanghefg@hotmail.com

【Abstract】 Assisted reproductive technologies (ARTs) are core components of the field of reproductive medicine, encompassing multiple pivotal stages of early development from gamete maturation and fertilization to embryo development. Against the backdrop of a deteriorating trend of global decline in fertility rates, patients with infertility problems increasingly turn to ARTs to realize their dreams of parenthood. However, concomitant with this trend is a growing apprehension regarding the potential adverse effects of ARTs. Herein, we endeavor to discuss several common ARTs procedures utilized in clinical settings and the relevant cutting-edge advancements. The ARTs discussed in the article include *in vitro* fertilization (IVF), intracytoplasmic sperm injection (ICSI), biphasic *in vitro* maturation (biphasic IVM), frozen embryo transfer (FET), preimplantation genetic testing (PGT), non-invasive PGT (niPGT), etc. In addition, we reevaluated their roles within the broader context of assisted reproduction aimed at promoting reproductive health. Additionally, we will delve into the impact of ARTs on the reproductive health of the offspring. By prioritizing the reproductive well-being of both patients and their offspring, the ongoing development and improvement of ARTs to enhance their efficacy and safety will contribute significantly to the advancement of human reproductive health.

【Key words】 Assisted reproductive technology Reproductive health *in vitro* fertilization Intracytoplasmic sperm injection Preimplantation genetic testing Review

* 国家重点研发计划(No. 2021YFC2700603、No. 2022YFC2703803、No. 2022YFC2703001), 国家自然科学基金(No. 82088102、No. 82171613), 上海市协同创新集群项目(No. 2020CXJQ01), 上海市生殖与发育前沿科学研究基地、中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(No. 2019-I2M-5-064), 上海市申康医院发展中心临床三年行动计划(No. SHDC2020CR1008A)和浙江省大学生科技创新活动计划(No. 2022R401200)资助

△ 通信作者, E-mail: huanghefg@hotmail.com

出版日期: 2024-05-20

世界卫生组织的报告和我国的流行病学调查均指出全球范围内人类生育力逐渐下降的趋势^[1-2]。在这样的背景下,辅助生殖技术(assisted reproductive technologies, ARTs)成为解决不孕症问题的关键医疗选择^[3]。ARTs包括对配子、胚胎或基因物质进行体内外操作,为胚胎发育提供支持,以增加不孕症患者的受孕机会。ARTs包含多种技术,患者可根据具体情况和需求进行选择 and 组合。世界卫生组织将生殖健康定义为在生殖系统及其功能和过程所涉一切事宜上,身体、精神和社会等方面的健康状况,而不仅仅指没有疾病或不虚弱。随着ARTs的普及,试管婴儿数量不断增加,不孕症患者的活产率显著提高。尽管绝大多数通过ARTs诞生的婴儿是健康的,但人们越来越关注这些技术可能带来的产科不良结局、胎儿出生缺陷以及子代远期健康问题。因此,本文将深入探讨ARTs中最常用的几项技术[如体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)、卵胞浆内单精子注射(*intracytoplasmic* sperm injection, ICSI)、双相卵细胞体外成熟(*biphasic in vitro* maturation, biphasic IVM)、胚胎冷冻及冷冻胚胎复苏移植(*frozen embryo transfer*, FET)、胚胎植入前遗传学检测(*preimplantation genetic testing*, PGT)、非侵入性胚胎遗传学检测(*non-invasive PGT*, niPGT)]等及其最新进展,并围绕生殖健康这一目标,讨论如何进一步完善和发展ARTs。

1 IVF和ICSI是ARTs的基石

IVF和ICSI是最主要的ARTs,覆盖了受精过程中的原核形成、迁移与融合,胚胎早期发育等关键发育时期。

1.1 体外受精-胚胎移植 (*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)

IVF-ET技术初次应用于临床时,被认为只有在女性双侧输卵管损伤、堵塞、缺失等情况下才能明显提高患者的妊娠率^[4]。

在IVF技术开展的最初阶段,与自然妊娠相比,成功妊娠的妇女会面临更高的妊娠并发症风险以及较差的围产期结局^[5],影响因素包括IVF流程中对母体和胚胎的影响、父母本身不育不孕遗传背景、IVF带来的多胎妊娠等^[6]。研究显示,多胚胎移植所致的多胎妊娠是导致早产、低出生体质量、子代远期健康风险增高最主要的原因^[7]。与自然妊娠相比,通过ARTs的单胎妊娠还会增加产科不良结局^[8]。然而,也有观点认为ARTs并非导致这些不良结局的主要因素。他们指出,在一些队列研究中,接受ARTs的患者本身就处于生育能力减退阶段或有不孕症,而对照组却是自然妊娠的正常人群,因此实验设计并未

排除生育力减退和不孕症的干扰因素。一些针对生育能力减退人群的研究支持了这一观点^[9-11],他们发现那些未使用ARTs而仍能受孕的生育力减退患者,出现子痫前期、早产、产前出血等并发症的风险更高。

1.2 ICSI

ICSI被视为针对严重男性不育症的最佳治疗选择,包括重度/极重度少弱畸精症、逆行射精症、梗阻性无精子症以及IVF受精失败的患者。ICSI是常用的辅助生殖技术,并长期广泛用于大多数不育症患者,在某些地区甚至占了总周期数的70%~80%^[12]。

然而,最近研究表明^[13],对于非常严重的少弱精子症,ICSI技术在首次移植后的活产率上并未有显著提高,此外,由于可用胚胎数量较少,ICSI的整个体外受精周期的累积活产率也明显低于常规IVF组。相比于常规IVF技术,ICSI技术需要复杂的显微操作技术将精子注射到卵母细胞内,绕过了精卵结合的自然选择过程,这增加了实验室操作的复杂性和治疗费用。因此,无论从有效性、安全性还是经济性的角度考虑,常规IVF技术都应被推荐为治疗非严重男性不育患者的最佳选择方案。

2 受精前辅助生殖技术

通过促排卵技术获得的卵细胞,其发育和成熟程度是决定胚胎正常发育的关键因素。

2.1 轻度刺激促排卵和传统促排卵的优势比较

传统的促排卵方案认为增加促排药物的剂量可以获得尽可能多的卵细胞,从而提高妊娠率;而轻度刺激促排卵方案则使用较低剂量的促性腺激素或促排药物,获得数量有限的卵细胞。尽管轻度刺激促排卵方案被认为有利于减少治疗压力,耐受性更佳、价格更低廉,并且可以降低卵巢过度刺激综合征(*ovarian hyperstimulation syndrome*, OHSS)的风险,但因其临床效果存疑,轻度刺激促排卵方案没有像传统促排卵方案一样被临床中心广泛采用。

Meta分析表明,尽管轻度刺激方案中获得的卵细胞数量较少,但在高、中、低反应人群中获得高质量胚胎的概率相同^[14]。此外,活产率和累积活产率在轻度刺激促排卵方案和传统促排卵方案之间并没有明显的差异。这表明轻度刺激IVF可能是一个有效且安全的促排方案,特别是对于OHSS风险较高的患者。

2.2 Biphasic IVM

Biphasic IVM技术只需要低剂量促排卵甚至不需要促排卵,被认为是对多囊卵巢综合征患者非常友好的治疗方案,可以避免OHSS等并发症。Biphasic IVM分为pre-

IVM和常规IVM两个步骤。pre-IVM的关键在于C型利钠肽(C-type natriuretic peptide, CNP), 也被称为“卵母细胞成熟抑制物”, 它通过NPR2受体触发cGMP的合成, cGMP扩散到卵母细胞后抑制磷酸二酯酶3, 同时维持cAMP高水平, 抑制促成熟因子, 使卵母细胞停滞在GV期。随着LH峰的到来, NPR2和CNP下降, 磷酸二酯酶3激活, cAMP降低, 启动生发泡破裂。pre-IVM的目的在于避免卵母细胞从卵泡中剥出后立即恢复减数分裂, 要抑制自发的IVM, 维持来自小窦状卵泡卵母细胞的发育程序。简而言之, Pre-IVM用于保证卵母细胞在体外完整地发育流程, 然后进行IVM^[15]。科学家在牛胚胎中将几乎未发育的非常小的卵泡进行长达5 d的pre-IVM培养后, 其卵细胞仍可发育到正常水平^[16]。

Biphasic IVM技术也是亟须展开化疗、放疗的癌症患者快速保存生育能力的方案之一。无激素ARTs将为患者带来巨大的好处, 因为它将减少副作用和不适, 降低血清激素和超声的监测次数, 从而节省成本。此外, 它将大幅简化不孕症治疗, 因为可以随时进行取卵操作, 可方便地适应患者和医院的需要。我们近期的研究也认为ARTs所存在的负面影响可能是由于促排卵造成的^[17], 通过Biphasic IVM减少这些副作用将对生殖医学的发展产生深远影响。

3 受精后辅助生殖技术

在ARTs中, 受精后胚胎的发育和移植对妊娠率和活产率至关重要。为提高成功率, 胚胎冷冻技术和多种胚胎遗传学检测技术正快速发展。

3.1 FET

1983年, 世界首例冻融胚胎移植试管婴儿获得成功妊娠推动了ARTs的发展^[18]。IVF中的胚胎移植过程面临着时间成本和多胎妊娠风险的挑战。FET技术的应用为解决这些问题提供了新途径。通过冷冻保存胚胎, 可以在短时间内反复尝试单个胚胎移植, 充分发挥单个IVF周期的潜力, 同时避免患者在不适宜的生理状态下进行胚胎移植。因此, FET技术广泛应用于辅助生殖领域。

胚胎冷冻保存技术的突破性进展在于玻璃化冷冻技术的应用。与传统的缓慢冷冻法相比, 玻璃化冷冻技术提高了存活率和活产率^[19]。目前, 部分生殖中心采用全胚胎冷冻策略, 将胚胎在质量评估后冷冻保存, 以便在将来的周期中解冻并移植, 为患者提供更有利的妊娠环境, 增加了治疗的灵活性, 提高了ARTs的效率。研究显示, 全冷冻策略能显著提高子宫腺肌病患者在ARTs治疗后的累积活产率^[20]。

3.2 遗传学检测技术

3.2.1 PGT

PGT是一种将辅助生殖技术与遗传学诊断技术相结合的胚胎检测技术, 旨在对植入前的胚胎进行遗传学检测, 并选择无遗传缺陷的胚胎进行植入, 以获得健康子代。这项技术是阻断遗传病传递、提高出生人口质量的重要手段。

根据其筛查的疾病, PGT分为三类: 单基因遗传病的PGT(PGT for monogenic disorder, PGT-M)和非整倍体的PGT(PGT for aneuploid, PGT-A)以及对染色体重排的PGT(PGT for chromosomal structure rearrangements, PGT-SR)。在携带基因易位的患者进行助孕治疗时, 实施PGT可以有效降低妊娠失败率, 在实施PGT后, 患者成功临床妊娠的时间提前到4个月以内, 平均只需要1.4个ART周期^[21]。

在PGT的操作过程中, 对胚胎活细胞检测是必不可少的, 目前活检方法有两种, 一是在卵裂期进行活检; 另一种方法是在囊胚期进行滋养层细胞活检, 由于此时内细胞团(inner cell mass, ICM)已经形成, 囊腔充分扩张, 活检的目标为滋养细胞, 该方法有助于降低对ICM的干扰, 增加可供诊断的细胞数量, 从而提高PGT的准确性。然而, 在活检操作中产生的机械力可能会导致滋养细胞核出现“出芽”行为, 最终导致部分DNA脱落到细胞质中, 可能导致PGT出现假阳性结果^[22]。这与以前的数据调查结果相一致, 一些被PGT诊断为嵌合体也可能在胚胎移植后正常妊娠, 正常分娩, 并且子代的健康状况良好, 但这项研究也同样指出经PGT-A诊断为嵌合体的胚胎确实有着更高的自然流产率^[23]。这表明仍需更多以嵌合体系代为对象的随访研究来检验PGT-A的诊断效能, 并进一步改良活检技术。

3.2.2 niPGT

IVF的终极目标是在单个胚胎移植后实现正常分娩。虽然进行PGT筛查后可减少胚胎基因异常, 但是活检操作可能会引发远期健康问题^[24]。基于安全性考虑, 胚胎学家们一直在探索更好的胚胎基因检测方法。

随着囊胚穿刺抽液技术出现, 无细胞分析遗传物质成为可能。在囊胚阶段, 囊胚本身会自然经历坍塌和重新扩张的循环, 因此检测囊胚液中的DNA被认为是侵袭性最小的PGT方法。然而, 在胚胎玻璃化冷冻保存过程中需要抽取囊胚液以减少冰晶的形成, 而这个技术的缺陷在于囊胚液中的DNA差异非常大, 有些胚胎的囊胚液中甚至无法通过扩增技术检测到DNA^[25]。造成这种差异的原因至今仍无定论, 也许是胚胎之间的差异, 也许是操

作流程(包括囊胚液的吸取、储存、扩增等方面)的差异。这项技术想要进一步发展,需要制定一个普遍认同的规范化流程标准^[26]。

另一种方法是利用胚胎使用过的培养基液(spent embryo culture media, SCM),其中也含有胚胎的DNA。研究表明,SCM比囊胚液含有更多的DNA^[27],使用SCM也可以避免囊胚穿刺这一显微操作,操作流程更加简便。进一步研究发现,SCM中的遗传物质成分包括基因组DNA和线粒体DNA。在培养第2~3天时性染色体混杂,这是受到母源卵丘细胞的污染^[28-29],此时检测无法准确评估胚胎的情况。如果使用ICSI技术进行受精可以明显降低母源以及父源的污染因素。目前多数科学家认为,SCM中胚胎的DNA是胚胎细胞凋亡后释放的,有研究指出ICM细胞比滋养外胚层细胞凋亡的比例更高^[30],因此SCM来源的DNA更能反映胚胎基因状态。通过比较SCM niPGT-A和滋养外胚层活检取材PGT-A,发现两者的假阴性率都为0%,但SCM niPGT-A的阳性预测值优于活检PGT-A^[31]。

医学的发展方向正在朝着“微创”甚至“无创”技术的方向迈进,这种发展符合医患双方的利益。患者可以显著降低手术负担和风险,医生也能减少有创操作技术的培训成本和器械成本,提高经济效益,减少工作量。然而,niPGT技术尚未完全成熟,其扩增和测序技术仍需升级以提高准确性。正如本实验室在无创产前基因筛查中提出的全新COATE-seq方法可以极大提高孕妇血液cfDNA筛查率^[32],niPGT技术在胚胎遗传学检测方面取得更好的效果还需测序方法的进步。

4 ARTs对子代健康的影响

4.1 ARTs与子代远期健康

发育源性疾病理论(developmental origins of health and disease, DOHaD)认为^[33],在胚胎生命早期的发育过程中受到不利因素的影响可能会增加成年后患病的风险。一些队列研究显示,通过ARTs产生的子代患多种非传染性疾病的风险较高,但这些研究结果存在争议^[34]。最近的队列研究结果呈现积极趋势^[35-36],这可能是由ARTs技术的进步和各临床中心的操作流程规范带来的积极反馈。一项在英国开展为期10年的随访研究表明,与自然妊娠组的子代相比,ARTs组的子代在出生1年内医疗支出更多,但未经治疗的不孕症和只经过促排卵的组别的子代也有相同的医疗支出增加。这说明ARTs后代健康状况应该是与相关父母的遗传背景有关,而非ART的影响^[37]。

在胚胎冷冻方面,由于其提高活产率和降低费用的优势,FET在临床上的应用迅速增长。人们越来越关注胚胎冷冻和解冻可能带来的影响。本实验室首先通过了小鼠模型的动物研究发现^[38],通过FET得到的子代雄性小鼠相较于正常妊娠和IVF子代雄性小鼠存在糖脂代谢异常、胰岛素抵抗以及代谢通路中相关基因的转录水平不同。然而,该研究使用的是缓慢冷冻法,与目前临床使用的玻璃化冷冻有所不同。随后我们开展了一项有关FET儿童早期代谢变化的临床前瞻性研究^[39],发现FET儿童的空腹血糖水平和载脂蛋白APOE升高,但空腹胰岛素水平和HOMA-IR低于正常妊娠出生的儿童。这些指标的变化似乎并不足以证实FET儿童处在明显的糖脂代谢紊乱状态。此外,我们还在一项回顾性队列研究中发现,FET冻藏胚胎时长并不会影响妊娠并发症和不良产科结局^[40]。

4.2 ARTs与表观遗传学

DOHaD的机制研究除了关注临床研究外,还着眼于胚胎DNA甲基化。一项Meta分析指出,ARTs的确会对胚胎的DNA甲基化产生影响,虽然受影响的甲基化范围广泛,但改变程度都很轻微。然而,这些甲基化改变的临床意义目前尚不明确,无法断定这些改变会导致产科不良结局,需进行长期随访以探究远期健康问题^[41]。过去的研究普遍认为,ARTs与印迹基因病有关。然而,目前仍难以确认是ARTs操作本身引起的,还是其他因素如父母双方的不孕不育状况所致^[42-43]。

综上所述,随着技术的发展和临床操作流程的规范化,ARTs对子代健康的潜在风险逐渐降低。尽管早期研究指出通过ARTs产生的子代可能面临较高的非传染性疾病风险,但最新的队列研究显示,这些风险更多与父母的遗传背景相关。胚胎冷冻技术,尤其是玻璃化冷冻的应用,显著提高了活产率,对子代早期代谢变化的影响有限。虽然动物研究提示FET可能引起代谢异常,但临床研究尚未证实其对子代的长期健康有明显不利影响。此外,研究表明ARTs对胚胎DNA甲基化的影响轻微且缺乏明确的临床意义。但仍需要长期随访以全面评估其远期影响。

5 总结

本文介绍了几种临床中最常用的ARTs,并指出部分技术也许需要重新审视,是否应该继续作为临床中首选的治疗。ICSI应该只作为严重男性不育患者的最佳选择,正确的方案选择可以获得更好的预后。在新兴技术的介绍中,我们也可以看到一种趋势,即微创、无创与药

物的减量使用或不使用。多年的ARTs实践中,临床医生和胚胎学家们开始意识到更少的干预将会得到更理想的结果。

ARTs对于人类生殖健康来说是一把双刃剑,它既可以作为生育力减退患者和不孕症患者完成生育的梦想,也可能因为过程中的部分操作损害患者或子代的健康。在临床实践中,我们应该为患者采用个性化、基于当前循证依据的方案,使ARTs接受度更高、更为经济实惠,从而在全球范围内普及。

在未来的研究中,应进一步探索相关机制。ARTs整个流程涵盖了受精前、受精过程、胚胎发育等多个对生命周期至关重要的时期,将“进行ARTs”作为研究变量过于笼统,接下来的机制研究应该将变量细分到某种ARTs技术中的某个具体步骤或环节,确定该步骤或环节对卵细胞、胚胎或母体的影响。只有以这样的精度去进行实验设计和研究,才可以更精准地改进相关方案,实现生殖健康的最终目标。

* * *

作者贡献声明 胡沛然负责初稿写作、审读与编辑写作,潘洁雪负责监督指导、审读与编辑写作,刘欣梅负责论文构思、监督指导,黄荷凤负责论文构思、经费获取。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution HU Peiran is responsible for writing--original draft, and writing--review and editing. PAN Jiexue is responsible for supervision and writing--review and editing. LIU Xinmei is responsible for conceptualization and supervision. HUANG Hefeng is responsible for conceptualization and funding acquisition. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] World health organization sexual and reproductive health and research. Infertility prevalence estimates, 1990–2021. World Health Organization. (2023-01-04)[2023-04-03]. <https://www.who.int/publications/i/item/978920068315>.
- [2] ZHOU Z, ZHENG D, WU H, *et al*. Epidemiology of infertility in China: a population-based study. *BJOG*, 2018, 125(4): 432–441. doi: 10.1111/1471-0528.14966.
- [3] ZHOU Z, CHEN L, WU H, *et al*. Assisted reproductive technology in Beijing, 2013–2015. *Reprod Biomed Online*, 2018, 37(5): 521–532. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.08.002.
- [4] CORABIAN P, HAILEY D. The efficacy and adverse effects of *in vitro* fertilization and embryo transfer. *Int J Technol Assess Health Care*, 1999, 15(1): 66–85. doi: 10.1017/s0266462399015172.
- [5] JACKSON R A, GIBSON K A, WU Y W, *et al*. Perinatal outcomes in singletons following *in vitro* fertilization: a meta-analysis. *Obstetr Gynecol*, 2004, 103(3): 551–563. doi: 10.1097/01.AOG.0000114989.84822.51.
- [6] WISBORG K, INGERSLEV H J, HENRIKSEN T B. IVF and stillbirth: a prospective follow-up study. *Hum Reprod*, 2010, 25(5): 1312–1316. doi: 10.1093/humrep/deq023.
- [7] HART R, NORMAN R J. The longer-term health outcomes for children born as a result of IVF treatment: Part I --General health outcomes. *Hum Reprod Update*, 2013, 19(3): 232–243. doi: 10.1093/humupd/dms062.
- [8] QIN J, LIU X, SHENG X, *et al*. Assisted reproductive technology and the risk of pregnancy-related complications and adverse pregnancy outcomes in singleton pregnancies: a meta-analysis of cohort studies. *Fertil Steril*, 2016, 105: 73–85.e1-6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.007.
- [9] HAYASHI M, NAKAI A, SATOH S, *et al*. Adverse obstetric and perinatal outcomes of singleton pregnancies may be related to maternal factors associated with infertility rather than the type of assisted reproductive technology procedure used. *Fertil Steril*, 2012, 98(4): 922–928. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.05.049.
- [10] JAQUES A M, AMOR D J, BAKER H W G, *et al*. Adverse obstetric and perinatal outcomes in subfertile women conceiving without assisted reproductive technologies. *Fertil Steril*, 2010, 94(7): 2674–2679. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.02.043.
- [11] THOMSON F, SHANBHAG S, TEMPLETON A, *et al*. Obstetric outcome in women with subfertility. *BJOG*, 2005, 112(5): 632–637. doi: 10.1111/j.1471-0528.2004.00489.x.
- [12] RUBINO P, VIGANÒ P, LUDDI A, *et al*. The ICSI procedure from past to future: a systematic review of the more controversial aspects. *Hum Reprod Update*, 2016, 22(2): 194–227. doi: 10.1093/humupd/dmv050.
- [13] WANG Y, LI R, YANG R, *et al*. Intracytoplasmic sperm injection versus conventional *in-vitro* fertilisation for couples with infertility with non-severe male factor: a multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*, 2024, 403(10430): 924–934. doi: 10.1016/S0140-6736(23)02416-9.
- [14] DATTA A K, MAHESHWARI A, FELIX N, *et al*. Mild versus conventional ovarian stimulation for IVF in poor, normal and hyper-responders: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 2021, 27(2): 229–253. doi: 10.1093/humupd/dmaa035.
- [15] GILCHRIST R B, HO T M, De VOS M, *et al*. A fresh start for IVM: capacitating the oocyte for development using pre-IVM. *Hum Reprod Update*, 2024, 30(1): 3–25. doi: 10.1093/humupd/dmad023.
- [16] GARCIA BARROS R, LODDE V, FRANCIOSI F, *et al*. A refined culture system of oocytes from early antral follicles promotes oocyte maturation and embryo development in cattle. *Reproduction*, 2023, 165(2): 221–233. doi: 10.1530/REP-22-0277.
- [17] SUN C F, SHENG J Z, HUANG H F. A mutual comparison of pregnancy outcomes between different conception modes: a propensity score matching based retrospective cohort study. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2024, 15: 1351991. doi: 10.3389/fendo.2024.1351991.
- [18] TROUNSON A, MOHR L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*, 1983, 305(5936): 707–709. doi: 10.1038/305707a0.
- [19] RIENZI L, GRACIA C, MAGGIULLI R, *et al*. Oocyte, embryo and

- blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update*, 2017, 23(2): 139–155. doi: [10.1093/humupd/dmw038](https://doi.org/10.1093/humupd/dmw038).
- [20] BOURDON M, SANTULLI P, MAIGNIEN C, *et al.* The "freeze-all" strategy seems to improve the chances of birth in adenomyosis-affected women. *Fertil Steril*, 2024, 121(3): 460–469. doi: [10.1016/j.fertnstert.2023.11.039](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.11.039).
- [21] FISCHER J, COLLS P, ESCUDERO T, *et al.* Preimplantation genetic diagnosis (PGD) improves pregnancy outcome for translocation carriers with a history of recurrent losses. *Fertil Steril*, 2010, 94(1): 283–289. doi: [10.1016/j.fertnstert.2009.02.060](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.02.060).
- [22] DOMINGO-MUELAS A, SKORY R M, MOVERLEY A A, *et al.* Human embryo live imaging reveals nuclear DNA shedding during blastocyst expansion and biopsy. *Cell*, 2023, 186(15): 3166–3181.e18. doi: [10.1016/j.cell.2023.06.003](https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.06.003).
- [23] Practice Committee and Genetic Counseling Professional Group (GCPG) of the American Society for Reproductive Medicine. Clinical management of mosaic results from preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) of blastocysts: a committee opinion. *Fertil Steril*, 2020, 114(2): 246–254. doi: [10.1016/j.fertnstert.2020.05.014](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.05.014).
- [24] ALTERI A, CERMISONI G C, POZZONI M, *et al.* Obstetric, neonatal, and child health outcomes following embryo biopsy for preimplantation genetic testing. *Hum Reprod Update*, 2023, 29(3): 291–306. doi: [10.1093/humupd/dmad001](https://doi.org/10.1093/humupd/dmad001).
- [25] TŠUIKO O, ZHIGALINA D I, JATSENKO T, *et al.* Karyotype of the blastocoel fluid demonstrates low concordance with both trophoctoderm and inner cell mass. *Fertil Steril*, 2018, 109(6): 1127–1134.e1. doi: [10.1016/j.fertnstert.2018.02.008](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.02.008).
- [26] LEAVER M, WELLS D. Non-invasive preimplantation genetic testing (niPGT): the next revolution in reproductive genetics? *Hum Reprod Update*, 2020, 26(1): 16–42. doi: [10.1093/humupd/dmz033](https://doi.org/10.1093/humupd/dmz033).
- [27] GALLUZZI L, PALINI S, STEFANI S, *et al.* Extracellular embryo genomic DNA and its potential for genotyping applications. *Future Sci OA*, 2015, 1(4): FSO62. doi: [10.4155/fso.15.62](https://doi.org/10.4155/fso.15.62).
- [28] HAMMOND E R, MCGILLIVRAY B C, WICKER S M, *et al.* Characterizing nuclear and mitochondrial DNA in spent embryo culture media: genetic contamination identified. *Fertil Steril*, 2017, 107(1): 220–228.e5. doi: [10.1016/j.fertnstert.2016.10.015](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.10.015).
- [29] VERA-RODRIGUEZ M, DIEZ-JUAN A, JIMENEZ-ALMAZAN J, *et al.* Origin and composition of cell-free DNA in spent medium from human embryo culture during preimplantation development. *Hum Reprod*, 2018, 33(4): 745–756. doi: [10.1093/humrep/dey028](https://doi.org/10.1093/humrep/dey028).
- [30] BOLTON H, GRAHAM S J L, Van der AA N, *et al.* Mouse model of chromosome mosaicism reveals lineage-specific depletion of aneuploid cells and normal developmental potential. *Nat Commun*, 2016, 7: 11165. doi: [10.1038/ncomms11165](https://doi.org/10.1038/ncomms11165).
- [31] HUANG L, BOGALE B, TANG Y, *et al.* Noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy in spent medium may be more reliable than trophoctoderm biopsy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(28): 14105–14112. doi: [10.1073/pnas.1907472116](https://doi.org/10.1073/pnas.1907472116).
- [32] ZHANG J, WU Y, CHEN S, *et al.* Prospective prenatal cell-free DNA screening for genetic conditions of heterogenous etiologies. *Nat Med*, 2024, 30(2): 470–479. doi: [10.1038/s41591-023-02774-x](https://doi.org/10.1038/s41591-023-02774-x).
- [33] ZOU K, DING G, HUANG H. Advances in research into gamete and embryo-fetal origins of adult diseases. *Sci China Life Sci*, 2019, 62(3): 360–368. doi: [10.1007/s11427-018-9427-4](https://doi.org/10.1007/s11427-018-9427-4).
- [34] ZHANG S, LUO Q, MENG R, *et al.* Long-term health risk of offspring born from assisted reproductive technologies. *J Assist Reprod Genet*, 2024, 41(3): 527–550. doi: [10.1007/s10815-023-02988-5](https://doi.org/10.1007/s10815-023-02988-5).
- [35] BRÄNNSTRÖM M, DAHM-KÄHLER P, KVARNSTRÖM N, *et al.* Reproductive, obstetric, and long-term health outcome after uterus transplantation: results of the first clinical trial. *Fertil Steril*, 2022, 118(3): 576–585. doi: [10.1016/j.fertnstert.2022.05.017](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.05.017).
- [36] KENNEDY A L, VOLLENHOVEN B J, HISCOCK R J, *et al.* School-age outcomes among IVF-conceived children: a population-wide cohort study. *PLoS Med*, 2023, 20(1): e1004148. doi: [10.1371/journal.pmed.1004148](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004148).
- [37] HUA X, RIVERO-ARIAS O, QUIGLEY M A, *et al.* Long-term healthcare utilization and costs of babies born after assisted reproductive technologies (ART): a record linkage study with 10-years' follow-up in England. *Hum Reprod*, 2023, 38(12): 2507–2515. doi: [10.1093/humrep/dead198](https://doi.org/10.1093/humrep/dead198).
- [38] QIN N, ZHOU Z, ZHAO W, *et al.* Abnormal glucose metabolism in male mice offspring conceived by *in vitro* fertilization and frozen-thawed embryo transfer. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 637781. doi: [10.3389/fcell.2021.637781](https://doi.org/10.3389/fcell.2021.637781).
- [39] DONG Z H, WU T, ZHANG C, *et al.* Effect of frozen-thawed embryo transfer on the metabolism of children in early childhood. *J Clin Med*, 2023, 12(6): 2322. doi: [10.3390/jcm12062322](https://doi.org/10.3390/jcm12062322).
- [40] XU J J, CHEN L, LI C, *et al.* Effect of embryo cryopreservation duration on pregnancy-related complications and birthweight after frozen-thawed embryo transfer: a retrospective cohort study. *J Dev Orig Health Dis*, 2022, 13(2): 187–196. doi: [10.1017/S2040174421000192](https://doi.org/10.1017/S2040174421000192).
- [41] BARBERET J, DUCREUX B, GUILLEMAN M, *et al.* DNA methylation profiles after ART during human lifespan: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 2022, 28(5): 629–655. doi: [10.1093/humupd/dmac010](https://doi.org/10.1093/humupd/dmac010).
- [42] LAZARAVICIUTE G, KAUSER M, BHATTACHARYA S, *et al.* A systematic review and meta-analysis of DNA methylation levels and imprinting disorders in children conceived by IVF/ICSI compared with children conceived spontaneously. *Hum Reprod Update*, 2014, 20(6): 840–852. doi: [10.1093/humupd/dmu033](https://doi.org/10.1093/humupd/dmu033).
- [43] BERNTSEN S, SÖDERSTRÖM-ANTTILA V, WENNERHOLM U B, *et al.* The health of children conceived by ART: 'the chicken or the egg?' *Human Reprod Update*, 2019, 25(2): 137–158. doi: [10.1093/humupd/dmz001](https://doi.org/10.1093/humupd/dmz001).

(2024-01-19收稿, 2024-05-10修回)

编辑 何学令



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用 4.0 国际许可协议 (CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© 2024 《四川大学学报(医学版)》编辑部 版权所有

Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Science)