

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.26.012

文章编号: 1005-8982(2017)26-0061-05

新进展研究·论著

高龄 IVF 患者应用黄体期促排卵方案与 GnRH-a 超短方案的助孕结局比较*

王天琪¹, 孙振高², 杨毅¹, 王晓明¹, 徐凯月¹, 宋景艳¹, 张兴兴¹, 王爱娟¹

(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011)

摘要: **目的** 观察黄体期促排卵方案与 GnRH-a 超短方案在行体外受精 - 胚胎移植(IVF-ET)助孕高龄患者中的应用,探讨黄体期促排卵方案的有效性及其可行性。**方法** 对 114 例高龄患者 161 个 IVF-ET 周期过程及结局进行回顾性分析,其中, GnRH-a 超短方案 83 例(A 组)、黄体期促排卵方案 31 例(B 组),比较两种方案的促排卵效果及妊娠结局。**结果** 与 A 组相比, B 组人绝经期促性腺激素用量较多、重组促卵泡激素用量较少、促性腺激素(Gn)用量较多、Gn 费用较少及受精率较高,优质胚胎率较低,组间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者在年龄、不孕年限、体重指数、基础卵泡刺激素、基础黄体生成素、基础雌二醇、Gn 天数、扳机日雌二醇水平、平均获卵数、2PN、可利用胚胎数、可移植胚胎率、临床妊娠率及早期流产率等方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 对于高龄患者,黄体期促排卵方案与 GnRH-a 超短方案相比,在 Gn 费用较少的情况下有较高的受精率,且两组在总获卵数、可利用胚胎率及妊娠结局等方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),提示黄体期促排卵方案可作为高龄 IVF 患者理想的治疗方案。

关键词: 高龄; 体外受精 - 胚胎移植; 黄体期促排卵; GnRH-a 超短方案

中图分类号: R714.8

文献标识码: A

Comparison of pregnancy outcomes of luteal-phase ovulation and GnRH-a ultra-short program in aged patients with IVF*

Tian-qi Wang¹, Zhen-gao Sun², Yi Yang¹, Xiao-ming Wang¹, Kai-yue Xu¹,
Jing-yan Song¹, Xing-xing Zhang¹, Ai-juan Wang¹

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan, Shandong 250355, China;

2. The Affiliated Hospital, Shandong University of Traditional Chinese Medicine,
Ji'nan, Shandong 250011, China)

Abstract: **Objective** To observe the application of luteal-phase ovulation and gonadotropin-releasing hormone-a (GnRH-a) ultra-short program in elderly patients with *in vitro* fertilization and embryo transfer (IVF-ET) and to explore the effectiveness and feasibility of ovulation induction in luteal phase. **Methods** A total of 114 patients with advanced age were retrospectively analyzed, among which 83 cases took ultra-short program (group A) and 31 cases received ovulation induction of luteal phase (group B). The ovulation-induction effect and pregnancy outcomes were compared between the two groups. **Results** Compared with the group A, the dosage of human menopausal gonadotropin was larger, the dosage of recombinant follicle stimulating hormone was smaller, the cost of gonadotropin (Gn) was lower, and the fertilization rate was higher, the rate of high quality embryos was lower in the group B ($P < 0.05$). There was no significant difference in age, infertility duration, BMI, basal follicle stimulating hormone, basal luteinizing hormone, basal estradiol, Gn days, triggering estradiol, 2PN cleavage rate, the number of available embryos, the rate of transplantable

收稿日期: 2017-01-03

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81373676; 81674018)

[通信作者] 孙振高, E-mail: sunzhengao@163.com; Tel: 13708938621

embryo, clinical pregnancy rate or early abortion rate between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusions** In the elderly patients, the luteal-phase ovulation induction program has a higher rate of fertilization in the case of low Gn cost compared with the ultra-short program, and the two programs have no significant difference in the total number of oocytes retrieved, the available embryo rate or pregnancy outcome, suggesting that luteal-phase ovulation induction program can be used as an ideal treatment for elderly patients with IVF.

Keywords: elderly patient; *in vitro* fertilization-embryo transfer; luteal-phase ovulation stimulation; GnRH-a ultra-short program

随着二胎政策的放开,越来越多的高龄妇女有生育要求,但随着年龄的增长,女性卵巢储备功能逐渐低下,可表现为窦卵泡数减少和(或)卵母细胞质量下降,对外源性药物刺激反应不敏感,促排卵结果不尽人意,最终导致低妊娠率。是目前困扰生殖医生的一项重要难题。为达到最佳的助孕效果,生殖医生在临床实践中应用各种预处理方案及促排卵方案以提高高龄体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)患者的妊娠率^[1-2]。本文通过回顾性分析 114 例采用黄体期促排卵方案或促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin-releasing hormone-a, GnRH-a)超短方案在高龄 IVF-ET 患者助孕的临床资料,探讨其临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 10 月-2016 年 9 月于山东中医药大学附属医院中西医结合生殖与遗传中心因输卵管管或(和)男方因素进行体外受精/卵胞浆内单精子显微注射移植助孕的 114 例高龄患者的临床资料,分别采用 GnRH-a 超短方案或黄体期促排卵方案治疗者共 161 个周期。纳入标准:①基础卵泡刺激素(basic follicle stimulating hormone, bFSH) >10 U/L;②基础窦卵泡数(antral follicle count, AFC) ≤ 5 个;③病人年龄 ≥ 40 岁^[3-5]。具备 3 项中任意 2 项者。排除标准:①内分泌疾病;②子宫腺肌症;③子宫内膜生长不良;④卵巢早衰;⑤染色体异常等。根据不同的促排卵方案分为两组:采用 GnRH-a 超短方案(A 组)和采用黄体期促排卵方案(B 组)。助孕过程中所有激素的测定均应用贝克曼化学发光法检测。

1.2 方法

GnRH-a 超短方案月经第 2 天 B 超检查无卵巢囊肿,记录 AFC 大小及数量,基础 FSH <20 U/L,应用达菲林 0.1mg 皮下注射 1 次,月经第 3 天开始应用普利康[重组促卵泡激素(recombinant follicle stimulating hormone, r-FSH)]与人绝经期促性腺激素(human

menopausal gonadotropin, HMG)(75 IU/安培,珠海丽珠医药集团股份有限公司)150~225 IU/d,根据 B 超监测卵泡发育的情况调整促性腺激素(Gonadotropin, Gn)用量。当患者双侧卵巢有 1 个主导卵泡直径 ≥ 18 mm 或有 2 个主导卵泡直径 ≥ 17 mm 时停用 Gn,并肌注绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)10 000 IU(5 000 IU/安培,珠海市丽珠医药集团股份有限公司)扳机,注射 HCG 36 h 后取卵。取卵后进行体外受精(*in-vitro* fertilization, IVF)或卵胞浆内单精子显微注射技术培养,按本中心相关程序执行,取卵后 72 h 选择可利用胚胎进行新鲜胚胎移植(embryo transfer, ET)或选择 >2 级的卵裂期可用胚胎(>4 -细胞)进行冷冻保存^[6-8]。

1.2.1 实施方案 黄体期促排卵是卵泡期取卵或自然周期条件下排卵后开始注射 HMG 促排卵,起始剂量为 150~225 IU/d。2~3 d 后开始 B 超下监测卵泡,根据卵泡发育情况调整 Gn 用量,当有 1 个卵泡直径 ≥ 18 mm 时,予 HCG 10 000 IU 诱导排卵,注射 HCG 36 h 后取卵,取卵后予黄体支持,72 h 后行胚胎冷冻保存,冷冻保存标准如上。①新鲜 ET 入选超短方案行新鲜胚胎移植。本中心现行标准是:于取卵后进行黄体支持, B 超下监测内膜 ≥ 8 mm、血值孕酮 <1.5 ng/ml,转化内膜第 5 天移植第 3 天胚胎。移植后给予黄体酮支持,黄体支持应用至 ET 后 10~12 周;②冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfe, FET)黄体期促排卵方案行全胚冷冻后解冻胚胎移植助孕。本中心现行具体流程为:取卵后下 1 个月经周期第 2 天检查卵巢及性激素情况,行激素替代建立人工周期:于月经第 3 天口服补佳乐(戊酸雌二醇片,德国拜耳医药公司)4~6 mg/d 定期行阴道 B 超监测内膜,当子宫内膜 ≥ 8 mm、形态最佳时肌注黄体酮 40 mg/d 使内膜转化分为泌期,其后的第 3 天行 FET,继续给予黄体酮及补佳乐作为黄体支持。移植标准同本中心现行标准。

1.2.2 监测妊娠结果 移植后 14 d 测血清 HCG 水平,阳性者 β -hCG >5 IU/ml 确定是否妊娠,2 周

后行 B 超检查,以 B 超见到宫腔内妊娠囊有胎心搏动诊断为临床妊娠。

1.2.3 观察指标 比较两组患者的基础情况、促排卵过程中 Gn 天数及用量、肌注 HCG 日的血清雌二醇(Estradiol,E2)水平、获卵总数、2PN、可利用胚胎率及优质胚胎率(受精率=受精数/成熟卵数;2PN 卵裂率=2PN 卵裂数/受精数;优质胚胎率=1 级胚胎数/2PN 卵裂数),同时了解两组的临床妊娠率及流产率(临床妊娠率=累积妊娠率)。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用两独立样本校正的 *t* 检验,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基础情况的比较

两组的年龄、不孕年限、体重指数(body mass

index,BMI)、bFSH、基础黄体生成素(basic luteinizing hormone,bLH)及基础雌二醇(basic estradiol,bE2)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 两组促排卵结局比较

两组 Gn 天数、扳机日 E2 水平、平均获卵数、2PN 卵裂率、可利用胚胎数及可利用胚胎率等比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组在 r-FSH 用量、HMG 用量、Gn 总量及 Gn 费用、受精率及优胚率等比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),B 组 r-FSH 用量低于 A 组,HMG 用量高于 A 组,Gn 总用量高于 A 组,Gn 费用低于 A 组,受精率高于 A 组,但优质胚胎率低于 A 组。见表 2~4。

2.3 两组妊娠率、流产率比较

妊娠率为 21.7%(18/83),流产率为 22.2%(4/18);B 组临床妊娠率为 23.8%(5/21),流产率为 20.0%(1/5)。两组临床妊娠率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.044, P = 0.899$),两组流产率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.044, P = 0.964$)。

表 1 两组基础情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	年龄/岁	不孕年限/年	BMI/(kg/m ²)	bFSH/(IU/L)	bLH/(IU/L)	bE2/(pg/ml)
A 组	43.05 ± 2.77	4.95 ± 4.52	23.35 ± 4.15	11.257 ± 3.37	5.31 ± 2.93	55.68 ± 71.57
B 组	42.90 ± 2.66	3.62 ± 2.44	24.34 ± 2.72	12.00 ± 6.26	5.03 ± 1.87	50.24 ± 28.66
<i>t</i> 值	0.215	1.297	-1.031	-0.738	0.404	0.340
<i>P</i> 值	0.872	0.476	0.476	0.834	0.799	0.192

表 2 两组促排卵用药情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Gn 使用天数/d	Gn 用量/IU	r-FSH 用量/IU	HMG 用量/IU	Gn 费用/元
A 组	9.56 ± 2.17	2 976.56 ± 1 066.22	405.96 ± 362.39	2 897.59 ± 711.09	2 177.41 ± 2 024.73
B 组	10.43 ± 3.25	3 895.24 ± 1 299.13	9.52 ± 43.64	3 935.809 ± 1 267.17	1 484.87 ± 463.80
<i>t</i> 值	-1.453	-3.354	2.544	-4.714	2.793
<i>P</i> 值	0.449	0.040	0.010	0.001	0.006

表 3 两组促排卵结果比较 (个, $\bar{x} \pm s$)

组别	获卵数	可利用胚胎数
A 组	3.48 ± 2.67	1.39 ± 1.22
B 组	4.71 ± 3.69	1.95 ± 1.36
<i>t</i> 值	-1.741	1.114
<i>P</i> 值	0.144	0.067

表 4 两组促排卵结果比较 %

组别	受精率	2PN 卵裂率	可移植胚胎率	优质胚胎率
A 组	61.00	78.88	75.53	27.33
B 组	76.00	76.92	68.30	13.33
χ^2 值	10.410	0.028	1.114	4.625
<i>P</i> 值	0.013	0.867	0.299	0.043

3 讨论

女性的卵泡数量随着年龄的增长而逐渐减少,女性出生时大约有 50 万~100 万卵泡,但只有 1%的成熟卵子可以排出,绝大多数卵泡将闭锁丢失^[9-13]。所

以女性的生育力会随着年龄的增长而降低,>40 岁可出现月经不规律,>50 岁因卵泡耗竭和质量下降可表现为绝经^[14-15]。因此,临床可以通过采用增加获卵数提高受精率的方案最终提高高龄 IVF 患者妊

娠率。

超短方案于月经第 2 天使用 1 次 GnRH-a, 月经第 3 天开始使用 Gn 直至 HCG 日。该方案利用 GnRH-a 的 flare up 作用, 具有: ①能够加强卵泡募集过程、缩短卵泡成熟时间, 减少 Gn 的用量; ②GnRH-a 降调节效应持续时间较长, 能较好的防止卵泡期黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 波动及 HCG 日前早发 LH 峰; ③GnRH-a 仅注射 1 次, 不影响 HCG 日前后垂体功能, 对黄体期内源性 LH 影响小的特点, 适用于卵巢反应不良、基础窦数量少的患者。但是超短方案于卵泡期降调节, 对窦卵泡产生激发作用, 会出现 E2 升高, 对卵子质量造成不利影响, GELETY 等研究证实该结论^[26]。同时, 超短方案降调节作用不显著, 可能诱发过早的内源性 LH 峰, 导致卵泡和卵母细胞过早黄素化, 从而影响卵子和胚胎质量, 使受精率降低, 最终导致妊娠率降低, 本研究结果也证实该结论^[27]。

黄体期促排卵方案现有研究表明, 在 1 次月经周期中可能有 2~3 个卵泡波的发育^[28-29]。同时有众多研究表明, 黄体期促排卵可提高卵母细胞收益率和妊娠率^[20-21]。其具体机制可能是在第 1 波卵泡波中的优势卵泡排出后还有更大规模和更大类固醇激素合成能力的卵泡波出现, 黄体期卵泡波产生的卵子含有的 E2 浓度较高、在卵泡液和颗粒细胞 LHR mRNA 表达量更多^[22]。另有学者研究表明, 黄体期促排卵可刺激卵母细胞数量迅速增, 获得的胚胎质量较高, 周期取消率降低^[23]。在黄体期促排卵过程中, 卵泡生长处于高孕酮状态, 有研究表明, 高孕酮状态下不影响卵子发育成熟, 且不易出现早发性 LH 峰^[24]。CEDRIN 等^[25]研究证实, 与其他方案相比, 黄体期促排卵方案有更高的受精率, 本研究结果再一次证实该结论。综上, 众多研究结果为高龄 IVF 患者采用黄体期促排卵方案提供了临床依据。现就本中心行黄体期促排卵方案的高龄 IVF 患者初步结果予以报道, 本研究发现, 两组在 HMG 用量、r-FSH 用量、Gn 费用及受精率比较有差异。其中, B 组与 A 组比较, HMG 用量较多、r-FSH 用量较少、Gn 费用较少及受精率较高, 这可能与黄体期卵泡对 Gn 的敏感性低, 因此需用大剂量的 HMG 促进卵泡发育成熟有关^[24]。HMG 用量增多, r-FSH 用量减少, 使黄体期促排卵方案 Gn 费用减少; 同时 B 组平均总获卵数、2PN 卵裂率及可利用胚胎数均高于 A 组, 两组比较无差异, 原因可能为黄体期促排卵并未对垂体进行降调, 卵泡期 LH

呈现较低水, 卵泡较同步发育; 本研究表明, B 组的临床妊娠率高于 A 组, 早期流产率低于 A 组, 两组比较无差异, 这可能与同周期行全胚冻存, 择机行 FET, 使子宫内膜与胚胎发育较同步有关; 两组受精率比较有差异, B 组的受精率高于 A 组。综上所述, 黄体期促排卵方案在 Gn 费用少于 GnRH-a 超短方案的同时, 具有更高的受精率, 进而可增加高龄患者的妊娠机会。但也有研究认为, 黄体期促排卵也会出现卵泡发育不良、卵泡黄素化、未成熟卵泡早排等获卵失败导致低优胚率的结果^[26]。本研究中, B 组优胚率低于 A 组, 两组比较无差异, 但处于统计学差异的边缘, 这可能与统计样本量小有关, 需增加样本量后进一步分析, 同时存在某些患者无优势卵泡发育的情况而不能进行黄体期促排卵, 对于该部分患者所面临的问题亦成为生殖医学领域医生的一大困扰。此外, 黄体期促排卵方案中, 因应用大量 HMG, 导致子宫内膜与卵泡不能同步发育, 因此同周期内不进行 ET, 行全胚冷冻保存, 择机进行 FET, 这必将延长患者的治疗周期, 但行 FET 可以在子功内膜容受性最佳时进行, 因此可提高高龄 IVF 患者的临床妊娠率以取得较为满意的妊娠结局。

本研究认为, 两组获卵情况及妊娠结局比较无差异, 且有 Gn 花费少、有较高受精率的优点, 提示黄体期促排卵不失为高龄 IVF 患者的佳选助孕方案。有研究认为, 高龄可为影响 IVF 结局的一个单独因素^[27]。随着二胎政策的开展, 对于行 IVF-ET 助孕的高龄患者采取何种收益最大的助孕方案值得每一位生殖医生的深思。但由于本研究随访的行黄体期促排卵方案的病例数较少, 将黄体期促排卵方案在高龄 IVF 患者中推而广之尚需大量的前瞻性临床研究进一步佐证。

参 考 文 献:

- [1] REVELLI A, CASANO S, SALVAGNO F, et al. Milder is better Advantages and disadvantages of mild ovarian stimulation for human in vitro fertilization[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2011, 9(42): 25.
- [2] LAMAZOU F, FUCHS F, GRYNBERG M, et al. Cancellation of IVF-ET cycles: poor prognosis, poor responder, or variability of the response to controlled ovarian hyperstimulation? An analysis of 142 cancellations[J]. Gynecol Obstet Biol Reprod, 2012, 41(12): 41-47.
- [3] BANCISI L F, BROEKMANS F J, LOOMAN C W, et al. Impact of repeated antral follicle counts on the prediction of poor ovari-

- an response in woman under going in vitro fertilization[J]. *Fertil Steril*, 2002, 77(2): 328-333.
- [4] CAROPPO E, MATTEO M, SCHONAUER L M, et al. Basal FSH concentration as a predictor of IVF outcome in older women undergoing stimulation with GnRH antagonist[J]. *Reproductive Biomedicine Online*, 2007, 13(6): 815-820.
- [5] BAIRD D T, COLLINS J, EGOZCUE J, et al. Fertility and ageing[J]. *Hum Reprod Update*, 2005, 11(3): 261-276.
- [6] BERGH C. Single embryo transfer: a mini-review[J]. *Human Reproduction*, 2005, 20(2): 323-327.
- [7] GARDNER D K. Elective Single-Embryo Transfer versus Double-Embryo Transfer in in Vitro Fertilization-NEJM[J]. *New England Journal of Medicine*, 2005, 351(23): 2392-2402.
- [8] JR J H, VEECK L L, MUASHER S J. Cryopreservation: the problem of evaluation[J]. *Human Reproduction*, 1995, 10(8): 2136-2138.
- [9] HANSEN K R, KNOWLTON N S, THYER A C, et al. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause[J]. *Human Reproduction*, 2008, 23(3): 699-708.
- [10] BLOCK E. A quantitative morphological investigation of the follicular system in newborn female infants[J]. *Acta Anatomica*, 1953, 17(3): 201-206.
- [11] WALLACE W H, KELSEY T W. Human ovarian reserve from conception to the menopause[J]. *Plos One*, 2011, 5(1): 495-513.
- [12] BAKER T G, SUM W. Development of the ovary and oogenesis[J]. *Clin Obstet Gynaecol*, 1976, 3: 3-26.
- [13] GOUGEON A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses[J]. *Endocr Rev*, 1996, 17: 121-155.
- [14] TE VELDE E R, PEARSON P L. The variability of female reproductive ageing[J]. *Hum Reprod Update*, 2002, 8: 141-154.
- [15] NELSON S M, TELFER E E, ANDERSON R A. The ageing ovary and uterus: new biological insights[J]. *Hum Reprod Update*, 2012, 19: 67-83.
- [16] GELETY T J, PEARLSTONE A C, SURREY E S. Short-term endocrine response to gonadotropin-releasing hormone agonist initiated in the early follicular, midluteal, or late luteal phase in normally cycling women[J]. *Fertil Steril JT-Fertility and Sterility*, 1995, 64(6): 1074-1080.
- [17] YOUNIS J S, MATILSKY M, RADIN O, et al. Increased progesterone/estradiol ratio in the late follicular phase could be related to low ovarian reserve in in vitro fertilization-embryo transfer cycles with a long gonadotropin-releasing hormone agonist[J]. *Fertil Steril JT-Fertility and Sterility*, 2001, 76(2): 294-299.
- [18] JR R J, HARLOW S D, HELMUTH M E, et al. Updated assays for inhibin B and AMH provide evidence for regular episodic secretion of inhibin B but not AMH in the follicular phase of the normal menstrual cycle [J]. *Human Reproduction*, 2014, 29(3): 592-600.
- [19] MORI T. Regulatory principles of follicular development[M]. *Ovarian Stimulation Protocols*, Springer India, 2016: 1-16.
- [20] CUMMINS J M, YOVICH J M, EDIRISINGHE W R, et al. Pituitary down-regulation using leuprolide for the intensive ovulation management of poor prognosis patients having in vitro fertilization (IVF)-related treatments[J]. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 1989, 6(6): 345.
- [21] DROESCH K, MUASHER S J, BRZYSKI R G, et al. Value of suppression with a gonadotropin-releasing hormone agonist prior to gonadotropin stimulation for in vitro fertilization[J]. *Fertility & Sterility*, 1989, 30(1): 77-78.
- [22] MIURA R, HANEDA S, LEE H H, et al. Evidence that the dominant follicle of the first wave is more active than that of the second wave in terms of its growth rate, blood flow supply and steroidogenic capacity in cows[J]. *Animal Reproduction Science*, 2014, 145(34): 114-122.
- [23] LAMAZOU F, FUCHS F, GRYNBERG M, et al. Cancellation of IVF-ET cycles: poor prognosis, poor responder, or variability of the response to controlled ovarian hyper stimulation? An analysis of 142 cancellations[J]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 2012, 41(1): 41-47.
- [24] KUANG Y, HONG Q, CHEN Q, et al. Luteal-phase ovarian stimulation is feasible for producing competent oocytes in women undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment, with optimal pregnancy outcomes in frozen-thawed embryo transfer cycles[J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(1): 105-111.
- [25] CEDRIN I, DURNERIN K, ERB R, et al. Effects of recombinant LH treatment on folliculogenesis and responsiveness to FSH stimulation[J]. *Hum Reprod*, 2008, 23(2): 421-426.
- [26] MAMAN E, MEIROW D, BRENGAUZ M, et al. Luteal phase oocyte retrieval and in vitro maturation is an optional procedure for urgent fertility preservation[J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(1): 64-67.
- [27] RAKESH S, ASHOK A, VIKRAM K R, et al. Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2015, 13(1): 1-20.

(李科 编辑)