

·临床研究·

小儿腹腔镜在青春期及青春期前重型地中海贫血患儿生育力保存中的应用及可行性分析

陈攀宇¹, 李满超¹, 孙 鹏¹, 李晶洁¹, 颜禄斌², 方 丛¹, 王德娟³, 梁晓燕¹

(1. 中山大学附属第六医院生殖医学研究中心, 广东 广州 510655; 2. 中山大学附属第六医院小儿外科, 广东 广州 510655; 3. 中山大学附属第六医院泌尿外科, 广东 广州 510655)

摘要:【目的】分析青春期及青春期前重度 β -地中海贫血(TM)患儿生育力保存行小儿腹腔镜的术中及术后情况,进一步探讨小儿腹腔镜在生育力保存手术中的应用前景。【方法】对13例青春期及青春期前拟行造血干细胞移植的TM患者通过小儿腹腔镜获取卵巢组织行卵巢组织冷冻(OTC)合并卵子体外成熟(IVM)行生育力保存的病例进行分析,探索小儿腹腔镜在生育力保存手术中的安全性及可行性。【结果】13名患儿的手术方式均为腹腔镜下单侧卵巢切除,平均手术时长(58.31±20.25) min,术中平均出血(2.46±1.13) mL,13例手术术后均无并发症,平均住院日为(3.62±1.33) d。13例患儿均成功获得卵巢组织可供冷冻,平均冷冻卵巢组织7.77±2.31片;其中11名患儿同时获得成熟卵母细胞可供冷冻,平均冷冻卵母细胞4.92±4.27枚。【结论】小儿腹腔镜获取卵巢组织是安全有效的生育力保存术式,可在青春期及青春期前血液疾病患者中大力推广。

关键词: 小儿腹腔镜; 重型地中海贫血; 生育力保存; 卵巢组织

中图分类号: R726.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2022)05-0764-08

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2022.0510

Feasibility Analysis and Application of Pediatric Laparoscopy in the Fertility Preservation in Pubertal and Prepubertal Patients with Thalassemia Major

CHEN Pan-yu¹, LI Man-chao¹, SUN Peng¹, LI Jing-jie¹, YAN Lu-bin², FANG Cong¹,
WANG De-juan³, LIANG Xiao-yan¹

(1. Reproductive Medicine Center, The Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China; 2. Department of Pediatric Surgery, The Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China; 3. Department of Urinary Surgery, The Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China)

Correspondence to: LIANG Xiao-yan, E-mail: liangxy2@mail.sysu.edu.cn; WANG De-juan, E-mail: wangdej@mail.sysu.edu.cn

Abstract:【Objective】The purpose of this study is to analyze the intraoperative and postoperative conditions of pediatric laparoscopy in fertility preservation in pubertal and prepubertal patients with β -thalassemia major (TM) and to further explore the prospects of pediatric laparoscopy in fertility preservation surgery.【Methods】Totally 13 pubertal and prepubertal patients with β -TM who underwent ovarian tissue cryopreservation (OTC) combined with in vitro maturation (IVM) for fertility preservation through pediatric laparoscopic acquisition of ovarian tissue before hematopoietic stem cell transplantation were analyzed.【Results】All 13 children underwent laparoscopic unilateral oophorectomy, with an average operative time of (58.31±20.25) minutes and an average intraoperative bleeding of (2.46±1.13) mL. All 13 children had no

收稿日期: 2022-05-18

基金项目: 国家自然科学基金(82071713)

作者简介: 陈攀宇, 硕士, 医师, 研究方向: 生殖医学, E-mail: chenpy35@mail.sysu.edu.cn; 李满超, 共同第一作者, 博士, 副主任医师, 研究方向: 生殖医学, E-mail: limch3@mail.sysu.edu.cn; 梁晓燕, 通信作者, 教授, 主任医师, 研究方向: 生殖医学, E-mail: liangxy2@mail.sysu.edu.cn; 王德娟, 通信作者, 主任医师, 研究方向: 泌尿外科, E-mail: wangdej@mail.sysu.edu.cn

postoperative complications and an average hospital stay of (3.62±1.33) days. All children had ovarian tissue available for cryopreservation; the average pieces of ovarian tissue frozen was 7.77±2.31. Eleven of them also had mature oocytes available for cryopreservation; the average number of oocytes frozen was 4.92±4.27.【Conclusion】 Pediatric laparoscopic is a safe and effective fertility-preserving procedure that can be strongly promoted in pubertal and prepubertal patients with β -TM.

Key words: pediatric laparoscopy; thalassemia major; fertility preservation; ovarian tissue

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2022, 43(5): 764-771]

全球每年约有 68 000 名儿童出生时患有各种地中海贫血症。其中, β -地中海贫血症的发病率尤其高。据报道全世界有 8 000 万至 9 000 万人是携带者, 占全球人口的 1.5%^[1]。 β -地中海贫血在中国的发病率为 2.21%。目前, β -地中海贫血的主要治疗方法包括定期输血, 脾切除及造血干细胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)。儿童时期的 HSCT 是治愈重型 β -地中海贫血 (thalassemia major, TM) 的唯一方法^[1]。无风险因素的患儿, 行 HSCT 的无病生存率超过 90%。而且, 患儿年龄越小, 如小于 5 岁, 行 HSCT 的无病生存率越高^[2]。然而, HSCT 前的放、化疗等预处理方案会对生育力造成严重破坏, 有研究显示, 65%~84% 的患者在 HSCT 后会发​​生卵巢功能衰竭^[3-4]。行 HSCT 的患者, 在术后会长期关注自己的生育力^[5]。这就凸显了生育力保存在此类患儿中的必要性和重要性。目前, 生育力保存的主要方法有胚胎、卵母细胞及卵巢组织冷冻 (ovarian tissue cryopreservation, OTC)^[6]。以上多种的生育力保存方案适用人群不同。青春期后或育龄期女性可选择卵母细胞/胚胎冷冻或 OTC^[7]; 青春期前的女性, 因下丘脑垂体卵巢轴功能暂不成熟, 无法施行超促排卵, 也不可能行胚胎冻存^[8], 故根据目前指南建议, 只能选择 OTC^[6]。卵巢组织可通过开腹或腹腔镜的方式获取, 已有文献报道, 针对青春期及青春前期患者, 小儿腹腔镜是安全可行的手术方式, 它具有微创手术的优势: 切口小, 镇痛要求低, 术后恢复快。Mario Lima 的研究中, 2002~2013 年的 10 年间共为 54 名儿童及青春期女性行小儿腹腔镜获取卵巢组织, 仅 1 例发生术中出血, 所有患者均在 48 小时内出院, 证实了小儿腹腔镜技术的安全性^[9]。本研究旨在总结本中心经验, 进一步探讨小儿腹腔镜在 TM 患儿生育力保存中的应用前景。

1 材料与方法

1.1 研究对象

回顾性分析 2021 年 9 月至 2022 年 4 月于中山大学附属第六医院生殖医学研究中心及小儿外科行小儿腹腔镜获取卵巢组织的患儿。纳入本研究的患者均因病情需要行 HSCT, 均具有生育力保存指征。本研究已经通过中山大学附属第六医院伦理委员会审批, 所有患者及其一级亲属均签署书面知情同意。

1.2 术前准备

本研究中的患儿均经多学科专家会诊, 综合血液科、生殖中心、小儿外科治疗方案及患者的一般情况、患者及家属的生育力保存意愿, 最终确定生育力保存方式及方案。所有患者均在术前完善基础性激素, 抗缪勒管激素 (anti-Müllerian hormone, AMH) 及妇科彩超检查。

1.3 卵巢组织获取

所有患者在排除手术禁忌症后, 均在气管插管全身麻醉下接受腹腔镜手术。手术过程如下: 患者取仰卧位, 常规消毒铺巾, 取脐上约 5 mm 切口, 气腹针穿刺建立气腹, 置入 5 mm 穿刺器, 于左右侧腹各进 1 个 3 mm 戳卡, 仔细探查腹腔, 选择体积较大, 术前超声提示卵泡更多的一侧卵巢, 用刀头直径为 5 mm 的超声刀 (美国强生公司), 设定为 3 档, 行单侧卵巢切除, 切除后从戳卡处完整取出卵巢组织, 结束手术。

1.4 卵巢组织转运及冷冻及卵子体外成熟

卵巢组织在 4 °C, 肝素钠盐水中转运至胚胎实验室, 室温下连接 20 mL 注射器针头与 10 mL 注射器, 针口斜面向下在卵巢组织表面行穿刺及卵母细胞卵丘颗粒细胞复合体 (cumulus-oocyte complexes, COCs) 抽吸。将收集到的 COCs 进一步置入取

卵冲洗液中充分清洗,再移入 pre-卵子体外成熟(in vitro maturation, IVM)培养皿培养4~6 h后移入IVM培养皿。在IVM液中培养,每隔12 h观察卵母细胞成熟情况,最长观察至72 h。获得的成熟M II卵母细胞进行冷冻,余未成熟卵予以废弃。卵泡抽取结束后,用生理盐水冲洗切除的卵巢组织,擦干卵巢组织表面的生理盐水。用切割器剥离卵巢皮质组织,厚度为1~2 mm。用手术刀将卵巢皮质切割成长宽厚10 mm × 10 mm × 1 mm的组织块,获得的卵巢皮质片中的其中1片用于病理检查,其余卵巢皮质片置于恢复至室温的平衡液[成分及体积分数为65%羟乙基哌嗪乙硫磺酸(N-2-hydroxyethyl-piperazine-N-ethane-sulphonic acid, HEPES) + 7.5%乙二醇 + 7.5%二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO) + 20%血清蛋白替代品(serum protein substitute, SPS)]中平衡25 min,用无菌纱布吸干卵巢组织表面多余的平衡液。将卵巢皮片放置于恢复至室温的冷冻液表面[成分及含量:0.57 mol/L蔗糖 + 23%乙二醇 + 23%SPS + 23%DMSO + 31%HEPES]平衡15 min,待卵巢组织降至冷冻液底部后,用无菌镊子将卵巢组织髓质侧紧贴冷冻载体,用无菌纱布吸除多余的冷冻液,快速置于液氮中。观察卵巢组织片出现玻璃化后,在液氮中套外管并旋紧,最终放入液氮罐中进行保存。

1.5 统计学方法

采用R软件(版本1.4.1717)对患者的基本资料及相关结局指标进行分析。由于病例数相对较少,在分析前均对患者的相关基线指标进行正态性检验,所有连续型变量指标均提供均数±标准差及中位数和四分位数间距。

2 结果

2021年9月至2022年4月间,我院总共为13名需行骨髓移植的TM患儿行生育力保存手术。这13名患儿,年龄从4~15岁不等,其中2名患儿已有月经初潮,余11名患儿未有月经初潮。对所有指标的正态性检验显示:身高,基础LH, E2,术中出血量,住院天数及穿刺卵泡数这7项指标不符合正态分布。AMH平均值为(3.05±1.21) ng/mL,中位数和四分位数间距为2.62 (2.25~3.73) ng/mL;FSH平均值为(3.80±2.45) U/L,中位数和四分位数间距为3.26 (2.11~6.61) U/L;双侧窦卵泡数平均值为

10.40±4.40 ng/mL,中位数和四分位数间距为9.50 (8.25~12.00)个;平均获卵(16.08±10.18)枚,中位数和四分位数间距为14.00 (11.00~17.00)枚;IVM后平均的成熟卵母细胞数为(4.92±4.27)枚,中位数和四分位数间距为5.00 (2.00~7.00)枚,平均卵母细胞成熟率为29.40%,平均冷冻卵巢组织(7.77±2.31)片,中位数和四分位数间距为8.00 (6.00~9.00)片(表1-2)。

13名患儿的手术情况可见表3。术式均为小儿腹腔镜下获取卵巢组织,平均手术时长(58.31±20.25) min,中位数和四分位数间距为55.00 (50.00~74.00) min,术中平均出血(2.46±1.13) mL,中位数和四分位数间距为2.00 (2.00~2.00) mL,13例手术术后均无并发症,平均住院日为(3.62±1.33) d,中位数和四分位数间距为3.00 (3.00~4.00) d。3例患儿卵巢切除前后详见图1。

3 讨论

地中海贫血在东南亚及地中海等地区多见,是全球范围内的重大健康问题。20世纪80年代对我国20省市自治区60万人口的地中海贫血流行病学调查工作结果显示:该病分布于我国多达11个省,其中广东和广西两省尤为高发。按平均3%的β地中海贫血基因携带率估算,广东省每年出生TM新生儿约500例^[10],给家庭和社会带来了沉重的经济和精神负担。TM患儿常有特殊面容,合并免疫功能低下、生长发育迟缓及多器官功能受损,症状体征随年龄增长而日益明显。目前β地中海贫血的主要治疗方式是规范性终身输血及祛铁,但该治疗方法仅可维持患儿血红蛋白浓度接近正常水平,无法治愈疾病。造血干细胞移植是目前TM临床治愈的唯一方法。且年龄越小,移植效果越好。指南明确指出,有条件的患儿,应在(2~7)岁接受造血干细胞移植^[11]。移植前需要进行清髓治疗,经典的清髓方案为白消安及环磷酰胺。这两种烷化剂,由于其主要杀伤生长活动旺盛的细胞,所以对颗粒细胞、生长发育中的卵泡和卵母细胞的损害尤其明显。使用烷化剂的儿童肿瘤患者,发生卵巢早衰的风险升高2~5倍^[12]。一项针对138名在儿童时期行造血干细胞移植的女性患者的研究显示,其中83%的患者在移植后,卵巢功能均受到损害^[13]。以上种种证据表明,我们有必要对拟行造血干细胞移植的TM

表1 患者基线资料
Table 1 Patients' baseline characteristics

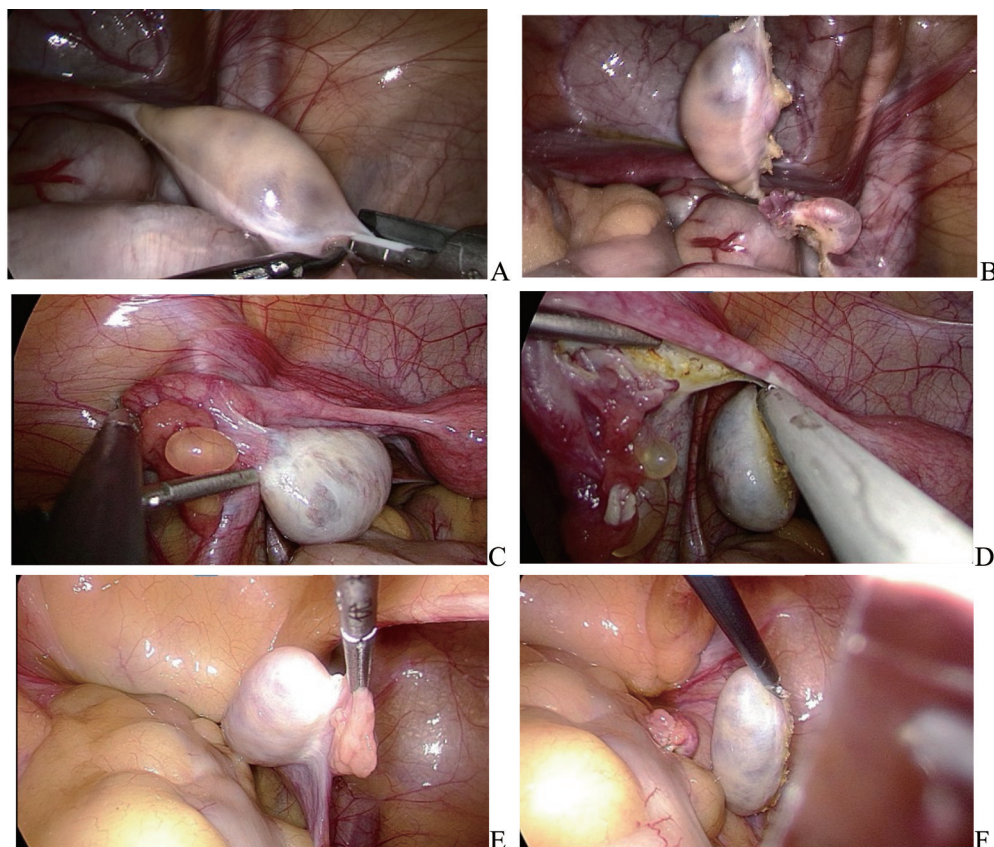
Items	$\bar{x} \pm s$	$M (P_{25} \sim P_{75})$
Age/years	11.00±3.11	11.00(9.00~13.00)
Height/m	1.39±0.14	1.42 (1.33~1.49)
Weight/kg	32.71±8.08	32.00 (29.00~38.00)
BMI	16.67±1.80	15.90 (15.72~17.75)
AMH/(ng/mL)	3.05±1.21	2.62 (2.25~3.73)
FSH/(U/L)	3.80±2.45	3.26 (2.11~6.61)
LH/(U/L)	2.35±2.47	1.42 (0.10~3.98)
E ₂ /(pg/mL)	28.05±28.24	5.00 (5.00~52.60)
Menarche/(Y/N)	/	
Right ovary/mm ²	/	
AFC in right ovary	5.4	4.50 (4.00~6.50)
Left ovary/mm ²	/	
AFC in left ovary	5	5.00 (4.00~5.75)

BMI: body mass index; AMH: anti-müllerian hormone; FSH: follicle-stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; AFC: antral follicle count.

表2 卵巢组织及卵母细胞冷冻结局
Table 2 Ovarian tissue and oocyte cryopreservation outcome

Case	No. of COCs/ <i>n</i>	No. of mature Oocyte/ <i>n</i>	Oocyte maturation rate /%	No. of ovarian tissue/ <i>n</i>
1	13	5	38.50	6
2	14	1	7.10	7
3	17	7	41.20	10
4	24	9	37.50	11
5	11	8	72.70	8
6	14	6	42.90	6
7	40	15	37.50	8
8	15	6	40.00	11
9	6	2	33.33	8
10	31	2	6.50	9
11	9	0	0	4
12	3	0	0	4
13	12	3	25.00	9
$\bar{x} \pm s$	16.08±10.18	4.92±4.27	29.40	7.77±2.31
$M (P_{25} \sim P_{75})$	14.00 (11.00~17.00)	5.00 (2.00~7.00)	/	8.00 (6.00~9.00)

COCS: cumulus-oocyte complexes.



A, B: Case 13, 14 years old, no menarche, right ovary oophorectomy, A: before oophorectomy; B: after oophorectomy. C, D: Case 8, 13 years old, with menarche, left ovary ovariectomy, C: before oophorectomy; D: after oophorectomy. E, F: Case 7, 14 years old, no menarche, right ovary oophorectomy, E: before oophorectomy; F: after oophorectomy.

图1 卵巢切除前后

Fig. 1 Before and after ovary oophorectomy

患者行生育力保存,而且,生育力保存的时机一定是在患儿接受造血干细胞移植之前,这样可以避免清髓治疗对卵巢功能的毁灭性打击,让更多的卵泡得以保存^[14]。

OTC是目前青春期前女性生育力保存的唯一方案,而OTC联合IVM则是青春期或青春期月经初潮前女性最佳生育力保存方案^[15]。以上两种方案均需要通过手术获取卵巢组织。早在1998~2006年间,以色列的中心就已为23名癌症患儿开展小儿腹腔镜下获取卵巢组织生育力保存手术。术前由外科医生、小儿肿瘤学家和生殖中心医生根据患儿卵巢的大小和肿瘤治疗的情况,个体化决定行完全或部分卵巢切除术。他们的研究证实,小儿腹腔镜用于获取儿童和青少年癌症患者的卵巢组织的手术是安全的,没有增加并发症,也没有延缓癌症的治疗^[16]。在过去的20年间,世界各地的多

家医院都开展了腹腔镜下获取卵巢组织的生育力保存手术,证实了腹腔镜在生育力保存手术中的安全性和有效性^[17]。

文献报道了多种获取卵巢组织方案,包括:单侧卵巢切除,单侧部分卵巢切除,单侧或双侧卵巢活组织检查^[18-21]。单侧卵巢切除与部分卵巢切除相比,优势在于术中创面小,明显减少术中或术后出血风险,也减少了术后盆腔局部手术部位形成严重粘连可能,为日后卵巢组织移植创造相对较好的盆腔环境;同时还减少术中止血时间,缩短手术用时,降低了术后并发症的可能性。Lima等^[9]曾报道1例行腹腔镜下单侧卵巢部分切除的患儿,因术中出血多而需行输血治疗。青春期前卵巢体积相对较小,行卵巢活组织检查手术操作难度大,而且可能导致可供冷冻的卵巢组织数量不够。目前,据报道,卵巢皮质组织片移植后的平均存活时间为2~5

表3 患者手术情况
Table 3 Patients' surgery situation

Case	Duration of surgery/min	Intraoperative bleed- ing/mL	Postoperative an- tibiotic use/(Y/ N)	Postoperative complications/(Y/ N)	Hospital day/d
1	78	2	Yes	No	4
2	74	5	Yes	No	6
3	100	2	No	No	3
4	56	2	Yes	No	4
5	80	2	Yes	No	3
6	50	2	Yes	No	2
7	57	2	Yes	No	3
8	55	2	No	No	5
9	35	2	Yes	No	6
10	24	2	Yes	No	2
11	52	2	Yes	No	3
12	44	2	Yes	No	3
13	53	5	Yes	No	3
$\bar{x} \pm s$	58.31±20.25	2.46±1.13	/	/	3.62±1.33
$M (P_{25} \sim P_{75})$	55.00 (50.00~74.00)	2.00 (2.00~2.00)			3.00 (3.00~4.00)

年^[22-23],很显然单侧卵巢切除术为生育力保存提供了最大数量的皮质组织,与部分卵巢切除或卵巢活组织检查相比,提供了大量的皮质组织供病人未来使用。有研究曾证实,切除单侧卵巢会使患者的AMH下降50%^[24],理论上可能对患儿短期内的生长发育有一定负面影响。但是,本研究中的患儿都在生育力保存术后很快地接受了骨髓移植,卵巢功能下降是一个不可避免的事实。及时切除并冻存的卵巢组织,为日后患儿的卵巢组织移植和生殖内分泌功能的恢复做好了充分的准备,最大限度地保存了生育力。所以,本中心为所有需行生育力保存的患儿采用了单侧卵巢切除的手术方案,以期最大获益。

卵巢切除需要离断骨盆漏斗韧带,卵巢系膜及卵巢固有韧带。既往研究中,离断骨盆漏斗韧带及卵巢固有韧带的器械不尽相同:包括双极^[25]、超声刀、ligasure、直线切割闭合器及Endoloop套扎^[16]。既往研究未针对不同器械的手术效果进行对比。本院均采用超声刀完成卵巢切除。超声刀能将电能转换成机械能,通过金属刀头机械振动致使组织内胶原蛋白结构破坏,闭合血管管腔,同时达到组

织切割和凝血的作用,缩短了手术时间。本报道中,13名患儿的手术平均时间为(58.31±20.25) min。超声刀刀头温度低,对周围组织的热损伤小,超声刀刀头尖锐,更利于小儿手术中的精细解剖。在更高效的手术器械出现之前,超声刀应是腹腔镜下获取卵巢组织的最佳器械。

在手术路径的选择上,研究者们也在不断地进行探索。2015年西班牙的一家中心采用单孔腹腔镜进行卵巢切除获取卵巢组织,结果显示,单孔腹腔镜术式的术中出血量,手术时间,术后疼痛等指标与传统腹腔镜相比并无显著优势。传统腹腔镜与单孔腹腔镜相比,在取出卵巢标本上提供了更大的灵活性和可操作性。6岁以前,卵巢的平均体积小于1 cm²。青春期后,卵巢的平均体积为8 cm³,但根据月经周期的不同,可从2.5 cm²到20 cm²不等^[26]。若使用传统腹腔镜,术者可根据患儿卵巢大小灵活选择合适的穿刺器,以利于标本取出。本报道中,所有患儿的卵巢组织均顺利从脐上5 mm穿刺器中完整取出。

稍显可惜的是,本研究中13名患儿的平均IVM成熟率只有29.40%,与既往文献报道的成熟

率相近。Fasano的研究中,青春期前女孩的卵母细胞IVM成熟率仅有10.3%,远低于同研究中成人女性的IVM成熟率^[27];Revel和Abir的研究数据则相对可观。前者的研究中,5到10岁女孩的IVM成熟率约为33.3%^[28];后者的研究中,42名小兒女性癌症患者接受生育力保存手术,共获卵395枚,最终体外成熟的卵母细胞共121枚,IVM成熟率约31%^[29],均远远低于文献报道的成人的61.7%的IVM成熟率^[30]。2014年Anderson的研究^[31]得出结论,青春期前女性的卵巢内异常形态的非发育卵泡比例较成年女性显著升高,且她们的卵泡的体外发育能力明显降低,推测可能与卵巢组织局部环境和卵泡间微环境有关。这可能是青春期前女性卵子IVM成熟率低的原因之一。另外,小兒在行生育力保存手术时,我们不确定卵巢卵子的发育处于什么时期,因此儿童期卵巢离体后穿刺获得卵子所处的阶段不同,这也可能导致成熟率参差不齐,我们使用的体外成熟液未必能精确符合所获取卵子的所处发育阶段,这可能是本研究中病例11和12未培

养出成熟卵子的原因。具体机制还有待进一步的研究和探讨。

行生育力保存的患儿通常为需行骨髓移植的重型 β 地中海贫血,基因型主要为($\beta^0\beta^0$)纯合子,所以,这些患儿所获取的卵巢组织及卵母细胞都会携带 β^0 基因。这些患者在未来婚配时,应与配偶一起进行遗传咨询。医生应根据双方基因型做出合适的婚配建议。目前,胚胎植入前遗传学检测和介入性产前诊断已是相对成熟的阻断 β 地中海贫血遗传的方法。对这些患者,我们应有良好的跟踪随访机制,及时做出合理的医学建议,从源头上避免下一代患儿的出生。

本研究中所有13例患儿均采用小兒腹腔镜方式获取卵巢组织,平均住院日约3d左右,无一例发生术后并发症,均顺利出院。我们的研究结果与既往研究结果一致,即青春期前及青春期TM患儿行小兒腹腔镜获取卵巢组织的生育力保存是安全的,术中和术后风险都很小。未来,小兒腹腔镜术式可在需行生育力保存的患儿中大力推广。

参考文献

- [1] Introini V, Marin-Menendez A, Nettesheim G, et al. The erythrocyte membrane properties of beta thalassaemia heterozygotes and their consequences for Plasmodium falciparum invasion [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 8934.
- [2] Faulkner L. Setting up low-risk bone marrow transplantation for children with thalassemia may facilitate pediatric cancer care [J]. South Asian J Cancer, 2013, 2(3): 109.
- [3] Tashiro Y, Kanda J, Iemura T, et al. Feasibility of ovarian stimulation for fertility preservation during and after blinatumomab treatment for Ph-negative B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Int J Hematol, 2022, doi: 10.1007/s12185-022-03323-x.
- [4] Calvo C, Ronceray L, Dhedin N, et al. Haematopoietic stem cell transplantation in adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukaemia: special considerations and challenges [J]. Front Pediatr, 2021, 9: 796426.
- [5] Hammond C, Abrams JR, Syrjala KL. Fertility and risk factors for elevated infertility concern in 10-year hematopoietic cell transplant survivors and case-matched controls [J]. J Clin Oncol, 2007, 25(23): 3511-3517.
- [6] Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion [J]. Fertil Steril, 2019, 112(6): 1022-1033.
- [7] Reichman DE, Davis OK, Zaninovic N, et al. Fertility preservation using controlled ovarian hyperstimulation and oocyte cryopreservation in a premenarcheal female with myelodysplastic syndrome [J]. Fertil Steril, 2012, 98(5): 1225-1228.
- [8] Choi YJ, Hong YH, Kim S, et al. The experience of fertility preservation in a single tertiary center in Korea [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 845051.
- [9] Lima M, Gargano T, Fabbri R, et al. Ovarian tissue collection for cryopreservation in pediatric age: laparoscopic technical tips [J]. J Pediatr Adol Gynec, 2014, 27(2): 95-97.
- [10] 王燕燕, 李晓辉, 徐西华. 地中海贫血诊治进展与我国现状 [J]. 中国实用儿科杂志, 2013, 28(6): 473-476.
Wang YY, Li XH, Xu XH. Progress in the diagnosis and treatment of thalassemia and the current situation

- in China [J]. *Chin J Pract Pediatr*, 2013, 28 (6): 473-476.
- [11] 方建培, 许吕宏. 重型 β 地中海贫血的诊断和治疗指南(2017年版)[J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56 (10): 724-729.
Fang JP, Xu LH. Guidelines for the diagnosis and treatment of beta-thalassemia major (2017 version) [J]. *Chin J Pediatr*, 2018, 56(10): 724-729.
- [12] Sklar CA, Mertens AC, Mitby P, et al. Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98(13): 890-896.
- [13] Mulas O, Mola B, Caocci G, et al. Conditioning regimens in patients with beta-thalassemia who underwent hematopoietic stem cell transplantation: a scoping review [J]. *J Clin Med*, 2022, 11(4): 907.
- [14] Chambon F, Brugnion F, Greze V, et al. Cryopreservation of ovarian tissue in pediatric patients undergoing sterilizing chemotherapy [J]. *Hum Fertil (Camb)*, 2016, 19(1): 23-31.
- [15] Arian SE, Flyckt RL, Herman R, et al. Fertility preservation in pediatric female cancer patients [J]. *Fertil Steril*, 2018, 109(5): 941.
- [16] Feigin E, Abir R, Fisch B, et al. Laparoscopic ovarian tissue preservation in young patients at risk for ovarian failure as a result of chemotherapy/irradiation for primary malignancy [J]. *J Pediatr Surg*, 2007, 42 (5): 862-864.
- [17] Nunez VM, Padilla IP, Higuera GG, et al. Single site laparoscopy for fertility preservation: a cohort study [J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2015, 22 (2): 291-296.
- [18] Rowell EE, Corkum KS, Lautz TB, et al. Laparoscopic unilateral oophorectomy for ovarian tissue cryopreservation in children [J]. *J Pediatr Surg*, 2019, 54 (3): 543-549.
- [19] Biasin E, Salvagno F, Berger M, et al. Ovarian tissue cryopreservation in girls undergoing haematopoietic stem cell transplant: experience of a single centre [J]. *Bone Marrow Transpl*, 2015, 50(9): 1206-1211.
- [20] Martel RA, Blakemore JK, Fino ME. The use of oocyte cryopreservation for fertility preservation in patients with sex chromosome disorders: a case series describing outcomes [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2022, 39(5): 1143-1153.
- [21] Jadoul P, Dolmans MM, Donnez J. Fertility preservation in girls during childhood: is it feasible, efficient and safe and to whom should it be proposed? [J]. *Hum Reprod Update*, 2010, 16(6): 617-630.
- [22] Donnez J, Dolmans MM. Fertility preservation in women [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(17): 1657-1665.
- [23] Pacheco F, Oktay K. Current success and efficiency of autologous ovarian transplantation: a meta-analysis [J]. *Reprod Sci*, 2017, 24(8): 1111-1120.
- [24] Vannuccini S, Clemenza S, Rossi M, et al. Hormonal treatments for endometriosis: the endocrine background [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2022, 23(3): 333-355.
- [25] Martin JR, Kodaman P, Oktay K, et al. Ovarian cryopreservation with transposition of a contralateral ovary: a combined approach for fertility preservation in women receiving pelvic radiation [J]. *Fertil Steril*, 2007, 87(1): 185-189.
- [26] Asavaoie C, Fufezan O, Cosarca M. Ovarian and uterine ultrasonography in pediatric patients. Pictorial essay [J]. *Med Ultrason*, 2014, 16(2): 160-167.
- [27] Fasano G, Dechène J, Antonacci R, et al. Outcomes of immature oocytes collected from ovarian tissue for cryopreservation in adult and prepubertal patients [J]. *Reprod BioMed Online*, 2017, 34(6): 575-582.
- [28] Revel A, Revel-Vilk S, Aizenman E, et al. At what age can human oocytes be obtained? [J]. *Fertil Steril*, 2009, 92(2): 458-463.
- [29] Abir R, Ben-Aharon I, Garor R, et al. Cryopreservation of in vitro matured oocytes in addition to ovarian tissue freezing for fertility preservation in paediatric female cancer patients before and after cancer therapy [J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(4): 750-762.
- [30] Ben-Haroush A, Sapir O, Fisch B. Aspiration of immature oocytes during cesarean section for fertility preservation and future surrogacy [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2010, 203(1): e12-e14.
- [31] Anderson RA, McLaughlin M, Wallace WH, et al. The immature human ovary shows loss of abnormal follicles and increasing follicle developmental competence through childhood and adolescence [J]. *Hum Reprod*, 2014, 29(1): 97-106.