

鲜胚移植与冻胚移植单胎妊娠孕妇妊娠结局和妊娠并发症比较

王辉田, 朱洁茹, 李 涛

中山大学附属第三医院生殖医学中心, 广东 广州 510630

[摘要] **目的:** 对鲜胚移植与冻胚移植后单胎妊娠孕妇的妊娠结局及妊娠并发症进行比较, 探讨不同胚胎移植方式的安全性和有效性。**方法:** 回顾性队列研究分析2015年10月至2021年5月在中山大学附属第三医院生殖医学中心首次接受体外受精-胚胎移植且单胎妊娠的3161名孕妇的资料, 其中鲜胚移植1009名(鲜胚移植组)、冻胚移植2152名(冻胚移植组)。比较两组的基线特征, 并采用logistic回归分析两种移植方案对妊娠结局及妊娠并发症的影响。**结果:** 与鲜胚移植组比较, 冻胚移植组分娩孕周增加($P<0.01$), 新生儿出生体重增加($P<0.01$), 剖宫产率(65.1%与50.7%, $AOR=1.791$, 95% CI : 1.421~2.256, $P<0.01$)、大于胎龄儿(12.7%与9.4%, $AOR=1.487$, 95% CI : 1.072~2.064, $P<0.05$)和巨大儿(5.4%与3.2%, $AOR=2.126$, 95% CI : 1.262~3.582, $P<0.01$)的风险也有所增加。在妊娠并发症方面, 冻胚移植组早期流产率(18.5%与16.2%, $AOR=1.377$, 95% CI : 1.099~1.725, $P<0.01$)、妊娠高血压(3.1%与1.9%, $AOR=1.862$, 95% CI : 1.055~3.285, $P<0.05$)的发生率高于鲜胚移植组。按照卵裂期和囊胚期进行分层分析, 结果显示行囊胚移植时, 冻胚移植较鲜胚移植后分娩孕周增加, 新生儿出生体重增加, 剖宫产风险显著增高; 行卵裂期胚胎移植时, 冻胚移植与较高的剖宫产、巨大儿、流产、早期流产风险相关, 新生儿出生体重也显著增加。**结论:** 与鲜胚移植比较, 冻胚移植与较高的流产率、早期流产、大于胎龄儿、巨大儿、剖宫产及妊娠高血压风险相关, 冻胚移植后新生儿的出生体重也显著增加。



[关键词] 鲜胚移植; 冻胚移植; 妊娠结局; 妊娠并发症

[中图分类号] R71 **[文献标志码]** A

Comparison of perinatal outcomes and pregnancy complications between fresh embryo transfer and frozen

收稿日期(Received): 2022-09-01 接受日期(Accepted): 2022-10-30 网络预发表日期(Online): 2023-01-17

基金项目: 国家自然科学基金(82060176)

第一作者: 王辉田, 助理实验师, 主要从事体外受精实验室技术及风险控制研究; E-mail: wanght26@mail.sysu.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0003-1879-3937>

通信作者: 李 涛, 副研究员, 主要从事辅助生殖技术实验室质量控制与风险管理研究; E-mail: ltiao@mail.sysu.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0001-5416-0331>

embryo transfer in singleton pregnant women

WANG Huitian, ZHU Jieru, LI Tao (Center for Reproductive Medicine, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Corresponding author: LI Tao, E-mail: ltiao@mail.sysu.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0001-5416-0331>

[Abstract] **Objective:** To compare perinatal outcomes and the incidence of pregnancy complications between fresh embryo transfer and frozen embryo transfer in singleton pregnant women. **Methods:** The clinical data of 3161 *in vitro* fertilization-embryo transfer cycles conducted in Center for Reproductive Medicine of the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University from October 2015 to May 2021 were retrospectively analyzed, among which 1009 cases were fresh embryo transfer (fresh embryo group) and 2152 cases were frozen embryo transfer (frozen embryo group). The baseline characteristics were compared between two groups, and logistic regression was used to analyze the effect of fresh embryo transfer and frozen embryo transfer on pregnancy outcome and complications. **Results:** Compared with the fresh embryo group, the frozen embryo group had an increased gestational age ($P<0.01$), increased birth weight ($P<0.01$), higher cesarean section rate (65.1% vs. 50.7%, $AOR=1.791$, 95% CI : 1.421–2.256, $P<0.01$), higher risk of large for gestational age infant (12.7% vs. 9.4%, $AOR=1.487$, 95% CI : 1.072–2.064, $P<0.05$) and macrosomia (5.4% vs. 3.2%, $AOR=2.126$, 95% CI : 1.262–3.582, $P<0.01$). The incidences of early abortion (18.5% vs. 16.2%, $AOR=1.377$, 95% CI : 1.099–1.725, $P<0.01$) and gestational hypertension (3.1% vs. 1.9%, $AOR=1.862$, 95% CI : 1.055–3.285, $P<0.05$) in the frozen embryo group were significantly higher than those in the fresh embryo group. Stratified analyses by stage of embryo transfer showed that during blastocyst transfer, the gestational weeks of delivery, birth weight and risk of cesarean section in frozen embryo group were significantly higher than those in fresh embryo group. During cleavage stage embryo transfer, frozen embryo transfer was associated with a higher risk of cesarean section, macrosomia, miscarriage and early miscarriage, and the birth weight of newborns was also significantly increased. **Conclusions:** Compared with fresh embryo transfer, frozen embryo transfer is associated with a higher risk of abortion, early abortion, large for gestational age infant, macrosomia, cesarean section, and pregnancy induced hypertension. The birth weight of newborns after frozen embryo transfer is also significantly increased.

[Key words] Fresh embryo transfer; Frozen embryo transfer; Perinatal outcomes; Complications of pregnancy

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2023, 52(01): 24-32.]

[缩略语] 卵胞浆内单精子注射 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI); 人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, hCG); 体质指数 (body mass index, BMI); 比值比 (odd ratio, OR); 校正后比值比 (adjusted odd ratio, AOR); 置信区间 (confidence interval, CI)

随着体外受精-胚胎移植及其衍生技术的广泛开展和胚胎冷冻技术的不断提高,冻胚移植的应用不断增加。中华医学会生殖医学分会的数据上报系统显示,2019年常规体外受精周期全胚冷冻率为50.68%,ICSI周期全胚冷冻率为54.09%^[1]。有研究认为,与鲜胚移植比较,冻胚移植单胎新生儿出生体重增加,剖宫产、巨大儿、子痫前期等不良妊娠结局的风险增加^[2]。然而,也有研究结果显示,在排卵正常的不孕症患者中,冻胚移植与鲜胚移植的妊娠结局、产科和新生儿并发症无显著差异^[3]。迄今关于鲜胚移植与冻胚移植对妊娠并发症及围产儿结局的影响仍存在争议。本研究通过回顾性分析三千多名接受体外受精或ICSI治疗孕妇的资料,比较鲜胚移植与冻胚移植后单胎妊娠患者的妊娠并发症及妊娠结局,为临床医生及患者选择合适的胚胎移植策略提供参考。

1 对象与方法

1.1 对象

收集2015年10月至2021年5月在中山大学附属第三医院生殖医学中心首次接受体外受精或ICSI治疗后单胎临床妊娠的3161名孕妇的临床资料,其中鲜胚移植1009名、冻胚移植2152名。纳入标准:①孕妇年龄20~46岁;②胚胎移植术后4~5周超声检查确认宫内单孕囊单胚芽妊娠。排除标准:①宫内外同时妊娠;②孕妇子宫形态或功能异常;③夫妻一方或双方染色体异常;④孕妇有其他不利于妊娠或可致不良妊娠的内外科疾病;⑤临床资料不完整。本研究方案通过中山大学附属第三医院伦理委员会审查(2022-02-151-01),豁免患者知情同意。

1.2 试剂与药品

hCG为珠海丽珠制药厂产品;重组人绒毛促性腺素注射液为美国Merck Millipore公司产品;促性腺激素释放激素拮抗剂为法国博福益普生制药有限公司或德国辉凌制药有限公司产品;胚胎冷冻液/解冻液套装试剂盒为日本BioPharma公司产品;戊酸雌二醇片为法国拜耳医药保健有限公司产品;黄体酮针剂(20 mg/支)为浙江仙琚制药股份有限公司产品;黄体酮软胶囊(0.2 g/粒)为西班牙Besins Healthcare Benelux公司产品;黄体酮阴道缓释凝胶(90 mg/支)为美国默克雪兰诺有限

公司产品;地屈孕酮片(10 mg/片)为荷兰Abbott Biologicals B.V.公司产品。

1.3 控制性促排卵和卵母细胞回收

依据患者年龄、BMI、基础性激素水平、抗米勒管激素、窦卵泡数、病史等情况个体化选择合适的促排卵方案及促性腺激素的启动剂量:当有2个及以上优势卵泡直径在18 mm及以上或3个及以上卵泡直径在17 mm及以上时,给予肌肉注射hCG 5000~10 000 U,或皮下注射重组hCG注射液250 µg,或皮下注射促性腺激素释放激素拮抗剂0.1~0.2 mg,36~38 h后在超声引导下经阴道穿刺取卵,并立即在显微镜下将卵子转移到含培养液的培养皿中,置于37 °C培养箱中培养。取卵后根据患者是否有卵巢过度刺激综合征风险、孕酮水平、宫腔和内膜情况等决定进行鲜胚移植或全部胚胎冷冻。

1.4 体外受精、胚胎质量评估

取出的卵母细胞体外培养2~6 h后根据男方精液情况选择体外受精或ICSI。受精后16~18 h观察原核的数量和大小、核仁的数量和分布,以及胞浆分布等情况,并进行原核评分。受精后67~68 h进行第3天卵裂期评分,评估的参数包括卵裂球数、卵裂球均匀度、胚胎碎片数及分布^[4]。参照Istanbul共识^[5]评分方法进行囊胚的质量评估。

1.5 胚胎的玻璃化冷冻及解冻

采用商品化的胚胎冷冻液套装试剂盒进行冷冻,即室温下将胚胎/囊胚放置于冷冻平衡液10 min后,转进冷冻玻璃化液中45~60 s,然后将胚胎/囊胚放置在冷冻载杆上,迅速投入液氮进行冷冻保存。胚胎/囊胚解冻采用商品化的胚胎解冻液套装试剂盒,将冷冻胚胎/囊胚迅速放置在37 °C解冻液1中1 min,室温下放置在解冻稀释液2中3 min,然后室温下放置在解冻洗涤液3和洗涤液4中各3 min,最后将胚胎/囊胚移入囊胚培养液中等待移植。

1.6 冻胚胎移植子宫内膜准备方案

月经周期正常、排卵规律的患者采用自然周期方案,在月经周期第10天开始超声监测卵泡发育及内膜厚度,于排卵日开始给予孕激素转化内膜,转化内膜第3天移植卵裂期胚胎,第5天移植囊胚。

月经周期不正常、排卵无规律的患者采用激

素替代治疗方案,在月经来潮或药物撤退性出血的第2天检查,若血清性激素水平处于基础状态,盆腔超声检查无异常,则开始口服戊酸雌二醇片,前5 d每次2 mg、每天2次,后5 d每次3 mg、每天3次;阿司匹林每次100 mg、每天1次。10 d后阴道超声检测子宫内膜厚度。监测外周血雌二醇水平,酌情调整戊酸雌二醇的剂量。若子宫内膜厚度在8 mm及以上,戊酸雌二醇剂量维持,同时给予孕激素转化内膜,转化内膜第4天移植卵裂期胚胎,第6天移植囊胚。

1.7 黄体期支持方案

鲜胚移植于取卵日开始黄体期支持,冻胚移植于子宫内膜转化日开始黄体期支持。根据患者情况采用肌肉注射黄体酮针剂,每次40 mg、每天1次;或阴道给予黄体酮软胶囊,每次0.2 g、每天2次;或阴道给予黄体酮阴道缓释凝胶,每次90 mg、每天1次。所有患者均口服地屈孕酮片,每次10 mg、每天2次。持续原剂量服用雌激素及黄体支持至移植后14 d。通过晨尿hCG或血清 β -hCG水平判断是否妊娠,如未妊娠则停止黄体期支持;妊娠则须继续黄体期支持至孕10周停药。

1.8 观察指标及结局的判定

主要观察患者的妊娠并发症及妊娠结局,包括:①流产,指妊娠不足28周、胎儿体重不足1000 g而妊娠终止者,其中妊娠不足12周的流产为早期流产,12周至不足28周的流产为晚期流产;②早产,指妊娠满28周但不足37周时分娩;③活产,指妊娠满28周及以上分娩的新生儿且7 d内有生命迹象;④围产期死亡,指活产婴儿出生后7 d内死亡,以及妊娠28周后的宫内胎儿死亡和死产;⑤低出生体重儿,指新生儿的出生体重不足2500 g;⑥巨大儿,指新生儿的出生体重超过4000 g;⑦小于胎龄儿,指出生体重小于同胎龄、同性别子代平均体重的第10百分位数,或小于同胎龄平均体重2个标准差的新生儿;⑧大于胎龄儿,指出生体重在同性别、同胎龄平均体重第90百分位数以上的新生儿。

1.9 统计学方法

使用SPSS 27.0软件进行统计分析。服从正态分布且方差齐性的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验,不满足方差齐性则采用连续矫正;不服从正态分布的计

量资料采用中位数(上下四分位数)[$M(Q_1, Q_3)$]表示,组间比较采用秩和检验。计数资料以例数(百分比)[$n(\%)$]表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用logistic回归分析调整获卵数、移植胚胎数、不孕类型、移植胚胎阶段后比较两种胚胎移植方法的妊娠结局及孕产并发症,计算OR和AOR以及95%CI。检测水准为双侧 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般情况及周期临床特征

鲜胚移植组和冻胚移植组年龄、不孕时间、BMI、基础卵泡刺激素、基础黄体生成素、首要不孕原因及受精方式差异无统计学意义(均 $P>0.05$),但两组不孕类型、获卵数、胚胎移植阶段及移植胚胎数差异有统计学意义(均 $P<0.01$),见表1。

2.2 鲜胚移植组与冻胚移植组妊娠结局比较

与鲜胚移植组比较,冻胚移植组分娩孕周增加,剖宫产率增加,新生儿体重增加、大于胎龄儿和巨大儿的风险也有所增加(均 $P<0.05$),但两组间新生儿性别和活产、早产、低出生体重、小于胎龄儿、先天性异常和围产儿死亡发生率差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),见表2。结果提示,冻胚移植可能会增加剖宫产率,以及大于胎龄儿、巨大儿等新生儿不良妊娠结局的风险。

2.3 鲜胚移植组与冻胚移植组妊娠并发症比较

校正协变量后,冻胚移植组早期流产率、妊娠高血压的发生率高于鲜胚移植组(均 $P<0.05$),见表3。结果提示,冻胚移植会增加流产,特别是早期流产以及妊娠高血压的风险。

2.4 不同阶段鲜胚移植组和冻胚移植组妊娠结局及妊娠并发症比较

按照卵裂期和囊胚期进行分层分析结果显示,行囊胚移植时,冷冻周期较新鲜周期移植后患者分娩孕周增加,新生儿出生体重增加,剖宫产风险显著增加(均 $P<0.05$),见表4。移植卵裂期胚胎时,与鲜胚移植组比较,冻胚移植组剖宫产、巨大儿、流产、早期流产风险较大,新生儿出生体重也显著增加(均 $P<0.05$),见表4。结果提示,无论是卵裂期移植还是囊胚期移植,冻胚移植组新生儿出生体重均较鲜胚移植组增加,剖宫产风险增加;同时卵裂期胚胎移植时,冻胚移植后巨大儿、流产和早期流产的风险也显著增加。

表1 鲜胚移植组与冻胚移植组一般情况及临床特征比较

Table 1 Comparison of basic conditions and clinical characteristics between fresh embryo transfer group and frozen embryo transfer group

[$\bar{x} \pm s$ 或 $M(Q_1, Q_3)$ 或 $n(\%)$]								
组别	n	年龄(岁)	不孕时间(年)	首要不孕原因				
				输卵管因素	排卵障碍	双方因素	男方因素	原因不明
鲜胚移植组	1009	32.5±4.8	3.0(2.0, 4.0)	517(51.2)	147(14.6)	65(6.4)	230(22.8)	50(5.0)
冻胚移植组	2152	32.5±4.7	3.0(2.0, 4.0)	1059(49.2)	345(16.0)	138(6.4)	518(24.1)	92(4.3)
$Z/t\chi^2$ 值	—	-0.11	-0.68			2.69		
P 值	—	>0.05	>0.05			>0.05		
组别	n	BMI(kg/m ²)	基础卵泡刺激素(U/L)	基础黄体生成素(U/L)	不孕类型		获卵数	
					原发	继发		
鲜胚移植组	1009	21.7±2.7	6.9±1.9	5.2±2.4	434(43.0)	575(57.0)	10.0(7.0, 13.0)	
冻胚移植组	2152	21.7±2.8	6.8±1.7	5.3±2.0	1072(49.8)	1080(50.2)	14.0(9.0, 19.0)	
$Z/t\chi^2$ 值	—	0.15	1.38	-1.22		12.74		-17.12
P 值	—	>0.05	>0.05	>0.05		<0.01		<0.01
组别	n	受精方式		胚胎移植阶段		移植胚胎数		
		体外受精	ICSI	卵裂胚	囊胚	1	2	3
鲜胚移植组	1009	827(82.0)	182(18.0)	685(67.9)	324(32.1)	374(37.1)	619(61.3)	16(1.6)
冻胚移植组	2152	1725(80.2)	427(19.8)	499(23.2)	1653(76.8)	1324(61.5)	788(36.6)	40(1.9)
$Z/t\chi^2$ 值	—		1.44		585.92		171.17	
P 值	—		>0.05		<0.01		<0.01	

—:无相关数据. BMI:体质指数;ICSI:卵胞浆内单精子注射.

表2 鲜胚移植组与冻胚移植组妊娠结局比较

Table 2 Perinatal outcomes of fresh embryo transfer group and frozen embryo transfer group

[$\bar{x} \pm s$ 或 n 或 $\%(n)$]						
组别	分娩孕周	新生儿体重(g)	新生儿性别(男/女)	活产	剖宫产	早产
鲜胚移植组	38.5±1.6	3231±439	428/389	81.0 (817/1009)	50.7 (414/817)	9.6 (78/817)
冻胚移植组	38.8±1.6	3318±451	876/828	79.2 (1704/2152)	65.1 (1109/1704)	8.1 (138/1704)
OR(95%CI)	—	—	0.957 (0.810~1.131)	0.965 (0.803~1.159)	1.814 (1.531~2.149)**	0.835 (0.624~1.117)
AOR(95%CI) [#]	—	—	0.871 (0.714~1.062)	0.886 (0.711~1.104)	1.791 (1.421~2.256)**	0.789 (0.560~1.113)
组别	低出生体重	小于胎龄儿	大于胎龄儿	巨大儿	先天性异常	围产儿死亡
鲜胚移植组	4.7 (38/817)	9.2 (75/817)	9.4 (77/817)	3.2 (26/817)	0.98 (8/817)	0.29 (3/1027)
冻胚移植组	5.5 (93/1704)	9.6 (164/1704)	12.7 (217/1704)	5.4 (92/1704)	0.59 (10/1704)	0.23 (5/2158)
OR(95%CI)	1.183 (0.804~1.743)	1.054 (0.791~1.404)	1.402 (1.066~1.846)*	1.736 (1.114~2.706)*	0.597 (0.235~1.518)	0.792 (0.189~3.320)
AOR(95%CI) [#]	1.311 (0.837~2.054)	1.134 (0.811~1.585)	1.487 (1.072~2.064)*	2.126 (1.262~3.582)**	0.590 (0.191~1.824)	0.550 (0.097~3.125)

—:无相关数据.* $P<0.05$,** $P<0.01$.[#]校正了获卵数、移植胚胎数、不孕类型、移植胚胎阶段等因素. OR:比值比;AOR:校正后比值比;CI:置信区间.

3 讨论

随着辅助生殖技术的发展,冻胚移植越来越

普遍。但冻胚移植与鲜胚移植单胎在妊娠并发症及妊娠结局上是否存在差异,目前临床上尚未形成一致的认识。本研究通过回顾性分析首次

表 3 鲜胚移植组与冻胚移植组妊娠并发症比较

Table 3 Pregnancy complications between fresh embryo transfer group and frozen embryo transfer group (%)

组 别	n	流 产 ^c		妊娠糖尿病	妊娠高血压	前置胎盘	胎膜早破
		早期流产	晚期流产				
鲜胚移植组	1009	16.2	2.7	8.2	1.9	0.2	0.4
冻胚移植组	2152	18.5	2.2	9.2	3.1	0.2	0.4
OR(95%CI)	—	1.173 (0.961~1.432)	0.812 (0.503~1.311)	1.137 (0.870~1.486)	1.649 (0.984~2.761)	1.173 (0.227~6.054)	1.055 (0.324~3.435)
AOR(95%CI) [#]	—	1.377 (1.099~1.725)**	0.764 (0.445~1.313)	1.255 (0.930~1.693)	1.862 (1.055~3.285)*	1.071 (0.185~6.201)	1.094 (0.290~4.129)

—:无相关数据.* $P<0.05$,** $P<0.01$.[#]校正了获卵数、移植胚胎数、不孕类型、移植胚胎阶段等因素. OR:比值比;AOR:校正后比值比;CI:置信区间.

表 4 不同阶段鲜胚移植组和冻胚移植组妊娠结局及妊娠并发症比较

Table 4 Perinatal outcomes and pregnancy complications after cleavage-stage or blastocyst embryo transfer between fresh embryo transfer group and frozen embryo transfer group [$\bar{x}\pm s$ 或%(n)]

组 别	分娩孕周		新生儿体重		剖宫产	
	卵裂期	囊 胚	卵裂期	囊 胚	卵裂期	囊 胚
鲜胚移植组	38.5 $\pm$ 1.6	38.4 $\pm$ 1.6	3164 $\pm$ 459	3172 $\pm$ 438	49.5 (273/551)	53.0 (141/266)
冻胚移植组	38.7 $\pm$ 1.4	38.7 $\pm$ 1.7 ^{△△}	3238 $\pm$ 469 [△]	3252 $\pm$ 469 ^{△△}	65.2 (242/371)	65.0 (867/1333)
OR(95%CI)	—	—	—	—	1.910 (1.457~2.505)**	1.649 (1.264~2.152)**
AOR(95%CI) [#]	—	—	—	—	1.941 (1.477~2.551)**	1.640 (1.247~2.158)**

组 别	大于胎龄儿		巨大儿		流 产 ^c	
	卵裂期	囊 胚	卵裂期	囊 胚	卵裂期	囊 胚
鲜胚移植组	8.9 (49/551)	10.5 (28/266)	3.3 (18/551)	3.0 (8/266)	19.6 (134/685)	17.6 (57/324)
冻胚移植组	11.3 (42/371)	13.2 (175/1333)	6.5 (25/371)	5.0 (67/1333)	25.9 (129/499)	19.2 (317/1653)
OR(95%CI)	1.193 (0.777~1.832)	1.252 (0.824~1.901)	1.954 (1.054~3.623)*	1.699 (0.794~3.508)	1.434 (1.089~1.888)*	1.111 (0.814~1.517)
AOR(95%CI) [#]	1.177 (0.764~1.815)	1.256 (0.819~1.929)	1.916 (1.029~3.569)*	1.716 (0.805~3.658)	1.482 (1.119~1.961)**	1.030 (0.746~1.420)

组 别	早期流产		妊娠高血压	
	卵裂期	囊 胚	卵裂期	囊 胚
鲜胚移植组	17.1(117/685)	14.5(47/324)	2.2(15/685)	1.2(4/324)
冻胚移植组	24.0(120/499)	16.9(279/1653)	3.6(18/499)	2.9(48/1653)
OR(95%CI)	1.537(1.155~2.046)**	1.197(0.856~1.673)	1.672(0.834~3.350)	2.393(0.857~6.682)
AOR(95%CI) [#]	1.580(1.180~2.114)**	1.098(0.766~1.553)	1.649(0.819~3.322)	2.402(0.847~6.810)

—:无相关数据.* $P<0.05$,** $P<0.01$.[#]校正了获卵数、移植胚胎数、不孕类型、移植胚胎阶段等因素.对鲜胚移植组比较(t 检验),[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$. OR:比值比;AOR:校正后比值比;CI:置信区间.

接受体外受精或 ICSI 治疗后单胎临床妊娠的 3161 名孕妇的临床资料,对鲜胚移植和冻胚移植在妊娠结局和妊娠并发症方面的差异进行比较,发现冻胚移植可能会增加早期流产、妊娠高血压

等妊娠并发症,以及剖宫产、大于胎龄儿、巨大儿等不良妊娠结局的风险。

近年来,与辅助生殖技术治疗相关的并发症受到越来越多的关注。流产是常见的妊娠并发

症,Shuai等^[6]研究结果显示,冻胚移植后早期自然流产率为6.43%,高于鲜胚移植的流产率4.93%。本文资料同样显示,冻胚移植的早期流产率明显高于鲜胚移植。有研究发现,早期流产主要是胚胎染色体异常所致^[7]。本文资料冻胚移植周期中移植囊胚的比例高于鲜胚移植周期,囊胚较卵裂期胚胎具有更高的发育潜能及胚胎整倍体率,却显示出流产率增加这一异常现象,其潜在原因可能是胚胎在冷冻过程中受到潜在的冷冻损伤,冻融过程可能造成胚胎基因的不稳定、胚胎DNA碎片增加、线粒体突变增加,导致胚胎的发育潜能下降;同时胚胎在冻融过程中还可能导致表观遗传学的变化,对胚胎发育产生不良影响,从而导致流产率增加^[8]。Shi等^[3]研究发现,在排卵正常的不孕症患者中冻胚移植与鲜胚移植的流产率差异无统计学意义。这种差异可能归因于研究对象选择偏差,该研究纳入的患者为20~35岁且月经周期正常,所有患者均使用拮抗剂方案进行卵巢刺激,91%以上的患者是第3天胚胎移植且91%以上是移植两枚胚胎。因此,冻胚移植可能会在一定程度上增加流产特别是早期流产的风险,但其中机制还需通过进一步研究来明确。

冻胚移植与妊娠高血压风险之间的相关性目前研究结果并不一致。有文献报道,与鲜胚移植者比较,冻胚移植者的妊娠高血压风险更高^[9-10],但也有数据表明冻胚移植并不会增加妊娠高血压发生的风险^[3,11]。本文资料显示,冻胚移植者发生妊娠高血压的风险增加,分析原因可能是冻胚移植在使用激素替代治疗方案准备内膜时缺乏黄体,导致血管活性黄体产物松弛素缺失。松弛素可通过一氧化氮介导血管平滑肌扩张,调节血管血流动力学变化,松弛素缺乏会导致血管内皮细胞数和功能下降,表现为静动脉-股动脉脉搏波速度衰减和脉搏波传导速度增加,从而导致患者心血管受损及妊娠高血压的发生风险增加^[12]。有研究发现,冻胚移植会造成子宫内膜蜕膜化受损,导致胎盘功能异常,相关胎盘因子释放。释放的胎盘因子进入母体血液中,导致血管内皮细胞受损,妊娠高血压发生风险增加^[13]。

文献报道,冻胚移植者的剖宫产率高于鲜胚移植者^[14-15],本研究分析结果与其一致。可能的原因是冻胚移植中巨大儿和大于胎龄儿比例较大,新生儿出生体重大于鲜胚移植,因而增加了

剖宫产的概率。但也有研究发现,鲜胚移植者与冻胚移植者的剖宫产率接近^[13]。由于临床上是否行剖宫产存在较多混杂因素,因此,鲜胚移植与冻胚移植是否会导致剖宫产率的差异还需要进一步研究证实。

有研究结果显示,冻胚移植会导致新生儿出生体重增加^[16-17]。本研究为了避免多胎妊娠对新生儿出生体重的影响,选择胚胎移植后孕早期超声检查为单胎妊娠的患者进行分析,结果显示冻胚移植新生儿出生体重较鲜胚移植显著增加;分层分析结果也显示,无论是卵裂期还是囊胚阶段,冻胚移植新生儿出生体重均高于鲜胚移植。分析原因可能是鲜胚移植周期中控制性卵巢刺激使体内处于高水平雌激素、孕激素环境,造成子宫内膜分子生物机制紊乱,改变子宫内膜基因表达,影响子宫内膜血管生成、胚胎发育和胎盘形成;而冻胚移植周期中更自然的子宫内膜环境有利于胎盘和胚胎生长^[18]。此外,有研究表明鲜胚移植中胎盘印记基因 *PEG10* 的表达量明显高于冻胚移植,胎盘表观遗传学改变会影响胎盘发育,进而影响胎儿发育^[19],从而导致鲜胚移植的新生儿出生体重低于冻胚移植。

有研究表明,冻胚移植新生儿发生大于胎龄儿和巨大儿的风险较高^[20-21]。本文资料显示,冻胚移植新生儿大于胎龄儿的发生风险是鲜胚移植的1.487倍,巨大儿的发生风险是鲜胚移植的2.126倍。大于胎龄儿的增加有可能缘于本文资料冻胚移植中囊胚移植的比例较高,有研究显示延长胚胎培养时间可能诱导胚胎表观遗传学改变,促进胎儿生长,增加大于胎龄儿的发生^[22]。然而,由于胎儿生长是母体、胎盘和胎儿相互作用的复杂过程^[23],不同研究中不能完全排除各种混杂因素(如种族、母亲BMI、妊娠期营养、婴儿性别)的影响。Pinborg等^[24]通过研究不同胚胎移植方法对275对同胞子代出生结局的影响,发现第二胎冻胚移植新生儿的大于胎龄儿和巨大儿发生风险较第一胎鲜胚移植明显增加,认为即使排除父母遗传、不孕因素及家庭条件因素后,冻胚移植仍能增加子代发生巨大儿及大于胎龄儿风险,这可能是由于冷冻过程对胚胎产生了潜在的影响。大于胎龄儿和巨大儿会增加难产、死产、胎儿缺氧和呼吸窘迫等不良围产风险,因此,在临床决策时应重视这些风险的发生及对孕妇健康的影响。

本研究的优点在于,纳入患者均为胚胎移植术后孕早期超声检查确定为宫内单胎妊娠者,可以去除多胎妊娠对妊娠并发症及妊娠结局不良的影响;通过logistic回归分析对鲜胚移植者与冻胚移植者之间可能混杂的差异进行控制,在一定程度上减少了选择偏倚对妊娠结局的影响。但本研究也存在一定的局限性:①本研究为单中心的回顾性研究,研究对象部分基线特征存在差异;②妊娠结局数据多为电话随访,与医院的原始记录可能存在差异;③研究中围产儿死亡、前置胎盘及胎破的阳性样本量较少,因此结果可能不够稳健,但考虑到该类患者较为少见,且结果具有一定可解释性,仍对其进行展示。

综上所述,与鲜胚移植新生儿比较,冻胚移植新生儿平均出生体重增加,大于胎龄儿、巨大儿、剖宫产和妊娠高血压的发生风险增加。亚组分析中,行囊胚移植时,冻胚移植较鲜胚移植后分娩孕周增加,新生儿出生体重增加,剖宫产风险显著增高;行卵裂期胚胎移植时,冻胚移植与较高的剖宫产、巨大儿、流产、早期流产风险相关,新生儿出生体重也显著增加。但上述风险和差异与胚胎冻融操作相关程度仍有待确定。

致谢 研究得到国家自然科学基金(82060176)支持

Acknowledgments This work was supported by National Natural Science Foundation of China (82060176)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

参考文献

- [1] 张孝东,孙海翔,黄国宁,等.中华医学会生殖医学分会:2019年辅助生殖技术数据报告[J]. *生殖医学杂志*, 2022, 31(8): 1015-1021.
ZHANG Xiaodong, SUN Haixiang, HUANG Guoning, et al. Annual report on assisted reproductive technology of Chinese Society of Reproductive Medicine in 2019 [J]. *Journal of Reproductive Medicine*, 2022, 31(8): 1015-1021. (in Chinese)
- [2] LUKE B, BROWN M B, WANTMAN E, et al. The risk of birth defects with conception by ART[J]. *Hum Reprod*, 2021, 36(1): 116-129.
- [3] SHI Y, SUN Y, HAO C, et al. Transfer of fresh versus frozen embryos in ovulatory women[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2): 126-136.
- [4] 中国医师协会生殖医学专业委员会. 人类卵裂期胚胎及囊胚形态学评价中国专家共识[J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2022, 42(12): 1218-1225.
Chinese Association of Reproductive Medicine. Expert consensus on human embryo morphological assessment: cleavage-stage embryos and blastocysts grading criteria[J]. *Chinese Journal of Reproduction and Contraception*, 2022, 42(12): 1218-1225. (in Chinese)
- [5] BALABAN B, BRISON D, CALDERON G, et al. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting[J]. *Hum Reprod*, 2011, 26(6): 1270-1283.
- [6] SHUAI J, CHEN Q L, CHEN W H, et al. Early spontaneous abortion in fresh- and frozen-embryo transfers: an analysis of over 35,000 transfer cycles[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 875798.
- [7] BLYTH U, CRACIUNAS L, HUDSON G, et al. Maternal germline factors associated with aneuploid pregnancy loss: a systematic review[J]. *Hum Reprod Update*, 2021, 27(5): 866-884.
- [8] WONG K M, VAN WELY M, VERHOEVE H R, et al. Transfer of fresh or frozen embryos: a randomised controlled trial[J]. *Hum Reprod*, 2021, 36(4): 998-1006.
- [9] MAHESHWARI A, PANDEY S, AMALRAJ RAJA E, et al. Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? [J]. *Hum Reprod Update*, 2018, 24(1): 35-58.
- [10] GU F, WU Y, TAN M, et al. Programmed frozen embryo transfer cycle increased risk of hypertensive disorders of pregnancy: a multicenter cohort study in ovulatory women[J]. *Am J Obstet Gynecol MFM*, 2023, 5(1): 100752.
- [11] VUONG L N, DANG V Q, HO T M, et al. IVF transfer of fresh or frozen embryos in women without polycystic ovaries[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2): 137-147.
- [12] BORTOLETTO P, PRABHU M, BAKER V L. Association between programmed frozen embryo transfer and hypertensive disorders of pregnancy[J]. *Fertil Steril*, 2022, 118(5): 839-848.
- [13] SACHA C R, HARRIS A L, JAMES K, et al. Placental pathology in live births conceived with *in vitro* fertilization after fresh and frozen embryo transfer [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2020, 222(4): 360.e1-360.e16.
- [14] LAVAL M, GARLANTÉZEC R, GUIVARC'H-LEVÊQUE A. Birthweight difference of singletons conceived through *in vitro* fertilization with frozen versus fresh embryo transfer: an analysis of 5406 embryo transfers in a retrospective study 2013—2018 [J]. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 2020, 49(1): 101644.
- [15] BETA J, KHAN N, KHALIL A, et al. Maternal and neonatal complications of fetal macrosomia: systematic

- review and meta-analysis[J]. **Ultrasound Obstet Gynecol**, 2019, 54(3): 308-318.
- [16] PONTESILLI M, HOF M H, RAVELLI A, et al. Effect of parental and ART treatment characteristics on perinatal outcomes[J]. **Hum Reprod**, 2021, 36(6): 1640-1665.
- [17] VOLODARSKY-PEREL A, TON NU T N, BUCKETT W, et al. Effect of embryo stage at transfer on placental histopathology features in singleton live births resulting from fresh embryo transfers[J]. **Fertil Steril**, 2021, 115(3): 673-682.
- [18] TERHO A M, PELKONEN S, OPDAHL S, et al. High birth weight and large-for-gestational-age in singletons born after frozen compared to fresh embryo transfer, by gestational week: a Nordic register study from the CoNARTaS group[J]. **Hum Reprod**, 2021, 36(4): 1083-1092.
- [19] YANG L, LI Z, LIU Y, et al. Influences of fresh and frozen embryo transfer on neonatal birthweight and the expression of imprinted genes PEG10/L3MBTL1 in placenta[J]. **Reprod Biol**, 2022, 22(3): 100665.
- [20] ZAAT T, ZAGERS M, MOL F, et al. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction[J]. **Cochrane Database Syst Rev**, 2021, 2(2): CD011184.
- [21] ROQUE M, HAAHR T, GEBER S, et al. Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes[J]. **Hum Reprod Update**, 2019, 25(1): 2-14.
- [22] MARCONI N, ALLEN C P, BHATTACHARYA S, et al. Obstetric and perinatal outcomes of singleton pregnancies after blastocyst-stage embryo transfer compared with those after cleavage-stage embryo transfer: a systematic review and cumulative meta-analysis[J]. **Hum Reprod Update**, 2022, 28(2): 255-281.
- [23] ZHU Q, ZHU J, WANG Y, et al. Live birth rate and neonatal outcome following cleavage-stage embryo transfer versus blastocyst transfer using the freeze-all strategy[J]. **Reprod Biomed Online**, 2019, 38(6): 892-900.
- [24] PINBORG A, HENNINGSSEN A A, LOFT A, et al. Large baby syndrome in singletons born after frozen embryo transfer (FET): is it due to maternal factors or the cryotechnique? [J]. **Hum Reprod**, 2014, 29(3): 618-627.

[本文编辑 余方 刘丽娜]