

·临床研究·

## 高龄女性新鲜与冷冻胚胎移植后妊娠及围产结局

王辉田, 张小霞, 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】本研究旨在分析高龄女性自体新鲜胚胎移植与冷冻胚胎移植后的妊娠和围产结局, 探讨行辅助生殖技术助孕的高龄女性鲜胚移植与冻胚移植方案有效性和安全性。【方法】回顾性队列研究分析2015年9月至2020年5月期间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/卵胞浆内单精子注射治疗且进行首次胚胎移植 $\geq 35$ 岁的女性患者, 共纳入1 622例患者的1 622个胚胎移植周期, 其中新鲜胚胎移植903例患者(新鲜胚胎移植组), 冷冻胚胎移植719例患者(冷冻胚胎移植组), 比较两组患者的基线特征、妊娠结局、妊娠期并发症发生率和围产结局。通过logistic回归分析调整混杂因素后, 分析两组胚胎移植方案的妊娠结局及并发症的发生率。【结果】高龄女性患者新鲜胚胎移植临床妊娠率为40.2%, 冷冻胚胎移植的临床妊娠率为36.6%, 两组相比差异有统计学意义[OR 95%CI为1.66 (1.323, 2.078),  $P < 0.001$ ]; 两组患者的流产率[25.1% vs. 33.5%, OR 95%CI为0.53 (0.356, 0.794),  $P = 0.002$ ]、活产率[29.7% vs. 23.8%, OR 95%CI为1.93 (1.505, 2.484),  $P < 0.001$ ]、剖宫产率[70.5% vs. 76.6%, OR 95%CI为0.60 (0.362, 0.987),  $P = 0.044$ ]、多胎妊娠率[25.1% vs. 12.2%, OR 95%CI为1.89 (1.114, 3.190),  $P = 0.018$ ]、妊娠期高血压[2.2% vs. 4.6%, OR 95%CI为0.35 (0.128, 0.947),  $P = 0.039$ ]差异有统计学意义。两组患者胚胎移植后异位妊娠率、早产率、妊娠期糖尿病和胎膜早破差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。冷冻胚胎移植新生儿平均出生体质量为3 133 (S=612) g, 高于新鲜胚胎移植新生儿平均出生体质量2 977 (S=609) g, 差异有统计学意义( $P = 0.006$ )。进一步年龄分层分析, 35-37岁患者新鲜移植临床妊娠率显著高于冷冻胚胎移植[47.8% vs. 45.4%, OR 95%CI为1.68 (1.176, 2.391),  $P = 0.004$ ]差异有统计学意义。35-37岁及38-39岁患者的新鲜胚胎移植活产率高于冷冻胚胎移植[39.3% vs. 32.9%, OR 95%CI为1.79 (1.239, 2.581),  $P = 0.002$ ]、[35.5% vs. 30.4%, OR 95%CI为1.70 (1.023, 2.809),  $P = 0.040$ ]差异具有统计学意义。【结论】高龄女性患者新鲜胚胎移植可以获得较好的妊娠及新生儿结局, 建议高龄患者在自身条件许可的情况下优先新鲜胚胎移植, 鲜胚移植也可减少胚胎移植的等待时间及改善高龄女性随着时间推移导致的不良结局。

**关键词:** 高龄女性; 胚胎移植; 妊娠结局; 围产结局; 妊娠并发症

中图分类号: R71 文献标志码: A 文章编号: 1672-3554(2022)05-0795-12

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2022.0514

### Pregnancy and Perinatal Outcomes After Fresh Versus Frozen Embryo Transfer Cycles in Women of Advanced Age

WANG Hui-tian, ZHANG Xiao-xia, ZHU Jie-ru, LI Tao

(Center for Reproductive Medicine, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Correspondence to: LI Tao; E-mail: ltiao@mail.sysu.edu.cn

**Abstract:** 【Objective】 The objective of the present study was to compare the pregnancy and perinatal outcomes in women of advanced age between autologous fresh ET and FET cycles. 【Methods】 A retrospective cohort study was conducted,

收稿日期: 2022-07-06

基金项目: 国家自然科学基金(82060176)

作者简介: 王辉田, 硕士, 助理实验师, 研究方向: 辅助生殖实验室技术, E-mail: wanght26@mail.sysu.edu.cn; 李涛, 通信作者, 副研究员, E-mail: ltiao@mail.sysu.edu.cn

which included 1 622 transfer cycles of 1 622 patients with  $\geq 35$  years of age. Patients who received their first embryo transfer cycle (IVF/ICSI treatment) between October 2015 and May 2020 in the center of reproductive medicine of the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University were included. Among them, 903 patients had 903 fresh ET cycles, and 719 freeze-all patients received 719 FET cycles. The baseline characteristics, pregnancy outcomes, complication rates, and perinatal outcomes were compared between the two groups. Logistic regression was performed to adjusted for confounding factors. 【Results】 Women with advanced age and fresh embryo transfer had significantly higher clinical pregnancy rate [40.2% vs. 36.6%, OR 95%CI: 1.66 (1.323, 2.078),  $P < 0.001$ ], live birth rate [29.7% vs. 23.8%, OR 95%CI: 1.93 (1.505, 2.484),  $P < 0.001$ ], and multiple pregnancy rate [25.1% vs. 12.2%, OR 95%CI: 1.89 (1.114, 3.190),  $P = 0.018$ ] than those with FET cycles. Fresh embryo transfer had significantly decreased miscarriage rate [25.1% vs. 33.5%, OR 95%CI: 0.53 (0.356, 0.794),  $P = 0.002$ ], Caesarean delivery rate [70.5% vs. 76.6%, OR 95%CI: 0.60 (0.362, 0.987),  $P = 0.044$ ], and hypertensive disorders of pregnancy [2.2% vs. 4.6%, OR 95%CI: 0.35 (0.128, 0.947),  $P = 0.039$ ] than those of FET group. There were no significant differences in the rate of ectopic pregnancy, preterm delivery rate, gestational diabetes mellitus, and preterm premature rupture between the two groups ( $P > 0.05$ ). FET group had significantly higher mean new born birth weight [(3 133  $\pm$  612) g vs. (2 977  $\pm$  609) g,  $P = 0.006$ ]. Further age-stratified analysis showed that the clinical pregnancy rate of fresh transfer was significantly higher than that of frozen embryo transfer in patients aged 35-37 years [47.8% vs. 45.4%, OR 95%CI: 1.68 (1.176, 2.391),  $P = 0.004$ ]. The live birth rate of fresh embryo transfer in patients aged 35-37 years and 38-39 years was higher than that of frozen embryo transfer [39.3% vs. 32.9%, OR 95%CI: 1.79 (1.239, 2.581),  $P = 0.002$ ], [35.5% vs. 30.4%, OR 95%CI: 1.70 (1.023, 2.809),  $P = 0.040$ ]. 【Conclusions】 Patients with advanced age obtain better pregnancy and neonatal outcomes by fresh embryo transfer than by frozen embryo transfer. Patients without contraindications should preferentially choose fresh embryo transfer to improve their pregnancy outcome, reduce the waiting time for embryo transfer, and to avoid the adverse outcomes which increase over time with advanced age.

**Key words:** advanced age; embryo transfer; pregnancy outcome; perinatal outcomes; pregnancy complication

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2022, 43 (5): 795-806]

近年来,女性生育年龄推迟已经成为备受关注的话题,由于晚婚、晚育人群的不断增多及国家“三孩生育”政策开放,高龄生育的女性明显增多。随着年龄增加,不孕症发生率逐渐升高,已有文献<sup>[1]</sup>报道34~39岁女性不孕症发生率为30%,39~44岁升至64%,辅助生殖技术(assisted reproductive technologies, ART)在高龄女性助孕中的应用逐渐增加。然而,由于高龄女性卵巢储备功能减退,卵子质量下降,高龄女性ART的治疗仍是一大挑战,其临床妊娠率及活产率远低于年轻女性<sup>[2]</sup>。高龄产妇还面临妊娠高血压、妊娠期糖尿病、早产等产科并发症增加的风险<sup>[3]</sup>。近年来胚胎全冻方案(freeze-all strategy)在临床广泛应用,对于高龄女性新鲜胚胎移植与冻融胚胎移植的争议逐渐增加,一方面生育力的急速下降需要尽快开始不孕症的治疗,新鲜胚胎移植可以减少患者等待移植的时间、焦虑情绪以及移植费用。另一方面高龄女性每取卵周期获得可移植胚胎数目相对较少,较多生殖

中心建议冻胚移植,为胚胎着床提供更接近自然状态的子宫内膜环境<sup>[4]</sup>。目前有关高龄女性新鲜胚胎移植与冷冻胚胎移植方案的安全性和有效性证据有限,因此本研究旨在比较高龄女性这一特殊群体接受新鲜胚胎移植及冷冻胚胎移植后的妊娠及围产期结局,探讨鲜胚移植与冻胚移植对高龄患者助孕的安全性及妊娠结局影响,为高龄女性患者选择更合适的胚胎移植方案提供临床证据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 研究对象与分组

回顾性分析2015年9月至2020年5月期间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(in vitro fertilization, IVF)/卵胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)治疗的高龄女性患者,纳入标准:女方取卵时年龄 $\geq 35$ 岁,新鲜胚胎移植组为首次取卵患者的新鲜胚胎移植

周期;冷冻胚胎移植组为首次取卵后胚胎全冻患者的首次冻胚移植周期。排除标准:子宫形态或功能异常;夫妇一方或双方染色体检查结果异常者;其他不利于妊娠的或可致不良妊娠的内外科疾病;既往有取卵或胚胎移植史患者。本研究共纳入1 622例患者,其中新鲜胚胎移植903例(新鲜胚胎移植组),冷冻胚胎移植719例(冷冻胚胎移植组)。本研究经中山大学附属第三医院伦理委员会批准(2022-02-151-01),患者对此研究知情同意。

## 1.2 控制性促排卵方案及新鲜胚胎移植黄体支持

控制性促排卵方案依据患者年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、基础性激素水平、卵巢储备情况、病史等情况,个体化选择促排卵方案和促性腺激素(gonadotropins, Gn)启动剂量,当有2个及以上卵泡直径 $\geq 18$  mm的优势卵泡或3个及以上直径 $\geq 17$  mm的卵泡时,给予人绒毛膜促性腺激素(HCG,珠海丽珠,中国,2 000 U/支)5 000~10 000 U肌肉注射或重组人绒毛膜促性腺激素(艾泽,美国默克雪兰诺公司,250  $\mu$ g/支)250  $\mu$ g皮下注射或GnRH-a(达菲林,益普生,法国;或达必佳,辉凌,德国)0.1~0.2 mg皮下注射,注射36~38 h后取卵,取卵后根据患者是否有OHSS风险、孕酮水平、宫腔和内膜情况等决定是否进行新鲜胚胎移植或全部胚胎冷冻。若计划进行新鲜胚胎移植,在取卵当天给予黄体酮阴道缓释凝胶(雪诺同,美国默克雪兰诺有限公司,90 mg/支)90 mg,每天1次或安琪坦(黄体酮软胶囊,0.2 g/粒,西班牙Besins Healthcare Benelux公司)阴道给药0.2g,每天2次或黄体酮针剂(浙江仙居仙明制药有限公司,20 mg/支)40 mg,每天1次,肌肉注射;同时口服地屈孕酮片(达芙通,10 mg/片,美国雅培制药公司)10 mg/次,每天2次,进行黄体支持;至移植14 d。所有研究对象黄体支持药物均持续使用至验孕日,若正常临床妊娠则持续用药至妊娠第10周。

## 1.3 体外受精、胚胎质量评估

取卵后体外培养2~6 h后根据男方精液情况选择常规体外受精(in vitro fertilization, IVF)或卵胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)方式受精,常规体外受精的受精浓度为1 mL培养液内加20万~30万条前向运动精子。受精后16~18 h检查受精情况,根据原核的数量和大小、核

仁前体的数量和分布情况、及胞浆分布等情况进行原核评分。受精68 h后进行第3日卵裂期胚胎质量评估,根据胚胎卵裂球数目、卵裂球的均一性和碎片比例和分布等指标进行胚胎评级。囊胚的评估参照Istanbul共识<sup>[5]</sup>评分方法进行质量评分。

## 1.4 胚胎的玻璃化冷冻及复苏

全胚冷冻或新鲜胚胎移植后剩余可用胚胎均采用玻璃化冷冻技术进行胚胎冷冻,采用商品化的冷冻液套装试剂盒(Kitazato, BioPharma Co., 日本),按照我们先前报道Crytop方法步骤进行操作<sup>[6]</sup>。采用商品化的胚胎解冻液套装试剂盒(Kitazato, BioPharma Co., 日本)进行胚胎复苏,胚胎复苏成功的标准是:单个胚胎中至少一半卵裂球存活。复苏后培养1~3 h后进行移植。

## 1.5 冷冻胚胎移植子宫内膜的准备方案

1.5.1 自然周期方案 月经周期规律且排卵正常的患者采用自然周期方案,于月经周期第10天开始经阴道超声监测卵泡发育及内膜情况,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。

1.5.2 人工周期方案 患者从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(补佳乐,1 mg/片,德国拜尔公司),前5天2 mg/次,每天2次,后5天3 mg/次,每天2次,阿司匹林100 mg/次,每天1次,10 d后阴道超声监测子宫内膜厚度及 $E_2$ 水平,酌情调整戊酸雌二醇的剂量。若子宫内膜厚度 $\geq 8$  mm,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。

## 1.6 黄体支持方案

新鲜胚胎移植周期于取卵日开始黄体支持,冷冻胚胎移植周期于子宫内膜转化日进行黄体支持,均使用口服地屈孕酮片(达芙通,10 mg/片,美国雅培制药公司)10 mg/次,每天2次。根据患者情况采用肌肉注射黄体酮针剂(浙江仙居仙明制药有限公司,20 mg/支)40 mg/次,每天1次或阴道给予黄体酮软胶囊(安琪坦,0.2 g/粒,西班牙Besins Healthcare Benelux公司)0.2 g/次,每天2次或阴道给予黄体酮缓释凝胶(雪诺同,90 mg/支,美国默克雪兰诺公司)90 mg,每天1次入阴道。胚胎移植后维持

雌、孕激素剂量不变,直到胚胎移植后14 d晨尿检查hCG或测血清 $\beta$ -hCG水平判断是否妊娠,阴性患者停止黄体支持,并告知患者复诊时间;阳性患者继续黄体支持,孕8周开始逐渐减量至孕10周停药。

### 1.7 观察指标及结局的判定

主要观察患者的妊娠、围产结局及并发症。①临床妊娠:胚胎移植28~32 d经阴道超声检查,超声下见宫内妊娠囊或宫外见妊娠囊;②流产:妊娠28周以下妊娠终止为流产;③早产:指妊娠满28周至不足37周之间的分娩;④低出生体质量儿:新生儿的出生体质量不足2 500 g;⑤巨大儿:新生儿的出生体质量 $>4\ 000$  g;⑥活产:妊娠满28周或之后分娩的新生儿且7 d内有生命迹象;⑦围产期死亡:活产婴儿出生后7 d内的死亡、妊娠28周后的宫内胎儿死亡和死产。

### 1.8 统计方法

使用SPSS 27.0软件进行统计学分析,服从正态分布且方差齐的计量资料以均数 $\pm$ 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(第25位百分位数,第75位百分位数) $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验。计数资料以构成比或率(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验。采用logistic回归分析调整混杂因素后比较两种胚胎移植方案的妊娠结局及并发症发生率,并计算比值比(odds ratio, OR)以及95%可信区间(95% confidence interval, 95% CI)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者基线特征

本研究共纳入1 622例患者的1 622个移植周期,其中903例新鲜胚胎移植周期,719例冷冻胚胎移植周期,鲜胚移植周期组以卵裂期胚胎移植为主,卵裂期胚胎移植比例高于FET组(83.2% vs. 51.7%);而FET组囊胚移植比例显著高于鲜胚移植组(48.3% vs. 16.8%),差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。鲜胚移植平均移植胚胎数目高于FET组( $1.8 \pm 0.5$  vs.  $1.6 \pm 0.6$ ),差异有统计学意义( $P <$

$0.001$ )。两组患者的女方年龄、女方BMI、AMH、基础FSH、获卵数、移植优胚率、不孕类型、受精方式及不孕原因相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ ;表1)。

### 2.2 高龄女性患者新鲜胚胎移植与冷冻胚胎移植妊娠及并发症发生率比较

采用logistic回归分析,校正移植胚胎数、移植胚胎阶段和不孕年限因素后,高龄女性患者新鲜胚胎移植临床妊娠率高于冻胚移植组,鲜胚移植临床妊娠率为40.2%,FET组为36.6%,差异有统计学意义[OR 95%CI为1.66 (1.323, 2.078),  $P < 0.001$ ]。高龄女性患者鲜胚移植的流产率也显著低于FET组[25.1% vs. 33.5%, OR 95%CI为0.53 (0.356, 0.794),  $P = 0.002$ ];此外,鲜胚移植的活产率高于FET组[29.7% vs. 23.8%, OR 95%CI为1.93 (1.505, 2.484),  $P < 0.001$ ];鲜胚移植的剖宫产率低于FET组[70.5% vs. 76.6%, OR 95%CI为0.60 (0.362, 0.987),  $P = 0.044$ ];妊娠期高血压的发生率也低于FET组[2.2% vs. 4.6%, OR 95%CI为0.35 (0.128, 0.947),  $P = 0.039$ ];然而,鲜胚移植多胎妊娠率显著高于FET组[25.1% vs. 12.2%, OR 95%CI为1.89 (1.114, 3.190),  $P = 0.018$ ],差异有统计学意义。两组患者胚胎移植后异位妊娠率、早产、妊娠期糖尿病和胎膜早破差异无统计学意义( $P > 0.05$ ;表2)。

### 2.3 高龄女性患者新鲜胚胎移植与冷冻胚胎移植新生儿结局比较

高龄女性新鲜胚胎移植后共有268位患者活产,其中单胎分娩225位,双胎分娩43位,共分娩活产婴儿311例;冷冻胚胎移植后共有171位患者活产,其中单胎分娩158位,双胎分娩13位,共分娩活产婴儿184例。冷冻胚胎移植新生儿平均出生体质量为3 133 ( $S=612$ ) g,高于新鲜胚胎移植新生儿平均出生体质量2 977 ( $S=609$ ) g,差异有统计学意义( $P=0.006$ )。两组患者新生儿平均胎龄[(266 $\pm$ 13) d vs. (266 $\pm$ 14) d]、新生儿身长[(48.8 $\pm$ 2.8) cm vs. (49.1 $\pm$ 2.7) cm]、性别比(1.27:1 vs. 1.27:1)相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。采用logistic回归分析,校正移植胚胎数、移植胚胎阶段和不孕年限因素后,高龄女性患者新鲜胚胎移植与冷冻胚胎移植单胎分娩婴儿[24.9% vs. 22.0%, OR

表1 两组患者一般情况比较

Table 1 Comparison of baseline characteristics between the two groups of patients

Items	Fresh ET (n=903)	FET (n=719)	[M (P <sub>25</sub> ~ P <sub>75</sub> ), ( $\bar{x} \pm s$ )]	
			t/Z/ $\chi^2$	P
Maternal age/years	38.0 (36.0~ 41.0)	38.0 (36.0~ 41.0)	0.856	0.392
Maternal BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	22.2 ± 2.4	22.1 ± 2.5	0.400	0.689
Infertility period/years	3.0 (2.0~ 6.0)	3.0 (2.0~ 6.0)	2.062	0.039
AMH/(ng/mL)	2.1 (1.2~ 3.2)	2.4 (1.0~ 4.0)	1.680	0.093
Basal FSH/(U/L)	7.5 ± 2.0	7.6 ± 2.8	1.246	0.213
No. of oocytes collected/n	8.0 (5.0~ 12.0)	8.0 (4.0~ 14.0)	1.186	0.236
No. of embryos transferred			56.201	<0.001
One embryo/%	26.5 (240/903)	44.1 (317/719)		
Two embryos/%	67.6 (610/903)	50.1 (360/719)		
Three embryos/%	5.9 (53/903)	5.8(42/719)		
Mean	1.8 ± 0.5	1.6 ± 0.6		
Good-quality embryos/%	71.3 (1155/1619)	72.7 (846/1163)	0.659	0.417
Type of infertility			0.779	0.377
Primary infertility/%	20.0 (181/903)	21.8 (157/719)		
Secondary infertility/%	80.0 (722/903)	78.2 (562/719)		
Insemination method			1.561	0.212
IVF/%	87.3 (788/903)	85.1 (612/719)		
ICSI/%	12.7 (115/903)	14.9 (107/719)		
Embryo transfer stage			185.63	<0.001
Cleavage embryo/%	83.2 (751/903)	51.7 (372/719)		
Blastocyst/%	16.8 (152/903)	48.3 (347/719)		
Cause of infertility			3.585	0.611
Tubal disorder/%	52.7 (476/903)	50.9 (366/719)		
Ovulatory disorder/%	5.3 (48/903)	7.2 (52/719)		
Male factor/%	19.4 (175/903)	17.9 (129/719)		
Endometriosis/%	5.2 (47/903)	6.0 (43/719)		
Unexplained/%	5.4 (49/903)	5.6 (40/719)		
Combined factors/%	12.0 (108/903)	12.4 (89/719)		
Endometrial preparation				
Natural/%	/	40.8 (293/719)		
HRT/%	/	59.2 (426/719)		

FET: frozen embryo transfer; BMI: body mass index; AMH: anti-mullerian hormone; FSH: follicle stimulating hormone; ICSI: intracytoplasmic sperm injection; IVF: in vitro fertilization; HRT: hormone replacement therapy.

95%CI为1.13 (0.871, 1.463),  $P=0.358$ ]、低出生体质量[16.1% vs. 12.0, OR 95%CI为1.18 (0.597, 2.340),  $P=0.631$ ]、巨大儿[4.5% vs. 3.3%, OR 95% CI为1.18 (0.397, 3.527),  $P=0.763$ ]相比差

异无统计学意义。高龄女性新鲜胚胎移植后双胎分娩婴儿高于冷冻胚胎移植[4.8% vs. 1.8%, OR 95%CI为3.26 (1.518, 6.990),  $P=0.002$ ] , 差异有统计学意义(表3)。

表2 高龄女性患者鲜胚移植与冻胚移植妊娠结局及并发症比较

Table 2 Comparison of pregnancy outcomes and maternal complications between fresh ET cycles and FET cycles

Outcomes	Fresh ET (n=903)	FET (n=719)	Variable	<i>b</i>	<i>S<sub>b</sub></i>	Wald $\chi^2$	<i>P</i>	$\widehat{OR}$	OR 95% CI
CPR/%	40.2 (363/903)	36.6 (263/719)	ETM	0.506	0.115	19.242	<0.001	1.66	(1.323, 2.078)
			Constant	-0.450	0.185	5.925	0.015	—	—
Miscarriage/%	25.1 (91/363)	33.5 (88/263)	ETM	-0.627	0.204	9.472	0.002	0.53	(0.356, 0.794)
			Constant	-1.247	0.345	13.047	<0.001	—	—
LBR/%	29.7 (268/903)	23.8 (171/719)	ETM	0.659	0.128	26.566	<0.001	1.93	(1.505, 2.484)
			Constant	-0.933	0.202	21.300	<0.001	—	—
Ectopic pregnancy/%	0.8 (3/363)	1.5 (4/263)	ETM	-0.714	0.845	0.715	0.398	0.49	(0.093, 2.565)
			Constant	-3.950	1.406	7.889	0.005	—	—
Preterm birth/%	14.9 (40/268)	13.5 (23/171)	ETM	0.138	0.321	0.186	0.667	1.15	(0.612, 2.156)
			Constant	-2.288	0.531	18.543	<0.001	—	—
Caesarean delivery/%	70.5 (189/268)	76.6 (131/171)	ETM	-0.514	0.256	4.049	0.044	0.60	(0.362, 0.987)
			Constant	0.588	0.418	1.977	0.160	—	—
Multiple pregnancy/%	25.1 (91/363)	12.2 (32/263)	ETM	0.634	0.268	5.577	0.018	1.89	(1.114, 3.190)
			Constant	-5.072	0.548	85.624	<0.001	—	—
HDP/%	2.2 (8/363)	4.6 (12/263)	ETM	-1.056	0.511	4.273	0.039	0.35	(0.128, 0.947)
			Constant	-4.012	0.900	19.858	<0.001	—	—
GDM/%	9.6 (35/363)	8.0 (21/263)	ETM	0.129	0.325	0.159	0.690	1.14	(0.602, 2.150)
			Constant	-2.548	0.552	21.308	<0.001	—	—
PPROM/%	0.8 (3/363)	1.1 (3/263)	ETM	-0.160	0.937	0.029	0.865	0.85	(0.136, 5.349)
			Constant	-5.182	1.574	10.833	<0.001	—	—

FET: frozen embryo transfer; CPR: clinical pregnancy rate; ETM: embryo transfer method; LBR: live birth rate; LBW: low birth weight; HDP: hypertensive disorder of pregnancy; GDM: gestational diabetes mellitus; PPROM: preterm premature rupture of membrane.

#### 2.4 不同年龄段高龄女性患者新鲜胚胎移植与冷冻胚胎移植妊娠结局比较

进一步按患者年龄分层分析结果显示, 35~37岁患者新鲜胚胎移植的临床妊娠率高于冷冻胚胎移植[47.8% vs. 45.4%, OR 95%CI为1.68(1.176, 2.391),  $P=0.004$ ], 差异有统计学意义; 其他年龄段临床妊娠率两组相比差异无统计学意义。35~37岁患者新鲜胚胎移植的流产率低于冷冻胚胎移植[17.7% vs. 25.4%, OR 95%CI为0.41(0.200, 0.835),  $P=0.014$ ], 差异有统计学意义。35~37岁及38~39岁患者新鲜胚胎移植的活产率高于FET

组, 两组分别为[39.3% vs. 32.9%, OR 95%CI为1.79(1.239, 2.581),  $P=0.002$ ]、[35.5% vs. 30.4%, OR 95%CI为1.70(1.023, 2.809),  $P=0.040$ ], 差异具有统计学意义; 其他年龄段新鲜胚胎移植与冷冻胚胎移植活产率相比差异无统计学意义。同时结果还显示, 随着年龄的增长, 患者胚胎移植后的临床妊娠率和活产率逐渐下降; 而流产率逐渐增加; 尤其是患者年龄大于40岁, 其临床妊娠率和活产率显著下降,  $\geq 46$ 岁患者临床妊娠率仅为4.76%, 且没有1例活产(表4)。

表3 高龄女性患者新鲜胚胎移植与冷冻胚胎移植周期新生儿结局比较

Table 3 Comparison of neonatal outcomes for women of advanced age after the fresh ET cycles and FET cycles

Outcomes	Fresh ET (n=903)	FET (n=719)	Variable	<i>b</i>	<i>S<sub>b</sub></i>	Wald $\chi^2$	<i>P</i>	$\widehat{OR}$	OR 95% CI
Live birth/%	29.7 (268/903)	23.8 (171/719)	ETM	0.659	0.128	26.566	<0.001	1.93	(1.505, 2.484)
			Constant	-0.933	0.202	21.300	<0.001	—	—
Singleton/%	24.9 (225/903)	22.0 (158/719)	ETM	0.122	0.132	0.845	0.358	1.13	(0.871, 1.463)
			Constant	-1.441	0.410	12.387	<0.001	—	—
Twin/%	4.8 (43/903)	1.8 (13/719)	ETM	1.181	0.390	9.188	0.002	3.26	(1.518, 6.990)
			Constant	-5.785	1.020	32.147	<0.001	—	—
LBW/%	16.1 (50/311)	12.0 (22/184)	ETM	0.167	0.348	0.230	0.631	1.18	(0.597, 2.340)
			Constant	-3.960	0.802	24.375	<0.001	—	—
Macrosomia/%	4.5 (14/311)	3.3 (6/184)	ETM	0.168	0.557	0.091	0.763	1.18	(0.397, 3.527)
			Constant	-2.903	0.894	10.542	0.001	—	—
Fetal anomaly/%	2.3 (7/311)	1.1 (2/184)	ETM	1.209	0.846	2.042	0.153	3.35	(0.638, 7.576)
			Constant	-5.831	1.287	20.538	<0.001	—	—
Perinatal mortality/‰	6.4 (2/311)	5.4 (1/184)	ETM	1.043	1.272	0.672	0.412	2.84	(0.234, 4.343)
			Constant	-5.814	2.176	7.142	0.008	—	—
Gestational age/d	266 ± 13	266 ± 14	—	—	—	—	0.842	—	—
Birth weight/g	2977 ± 609	3133 ± 612	—	—	—	—	0.006	—	—
Singleton/g	3177 ± 547	3241 ± 541	—	—	—	—	0.255	—	—
Twin/g	2453 ± 424	2471 ± 608	—	—	—	—	0.859	—	—
Neonatal height/cm	48.8 ± 2.8	49.1 ± 2.7	—	—	—	—	0.373	—	—
Sex ratio	1.27:1 (174/137)	1.27:1 (103/81)	—	—	—	—	0.995	—	—

LBW: low birth weight; FET: frozen embryo transfer; ETM: embryo transfer method.

表4 按年龄分层分析新鲜胚胎移植与冷冻胚胎移植妊娠结局

Table 4 Comparison of pregnancy outcomes between fresh ET cycles and FET cycles stratified by the age of patients at oocyte retrieval

Outcomes	Age stratified (years)	Fresh ET (n=903)	FET (n=719)	Variable	<i>b</i>	<i>S<sub>b</sub></i>	Wald $\chi^2$	<i>P</i>	$\widehat{OR}$	OR 95% CI
Pregnancy rate/%	35-37	47.8 (186/389)	45.4 (134/295)	ETM	0.517	0.181	8.168	0.004	1.68	(1.176, 2.391)
				Constant	-0.606	0.295	4.227	0.040	—	—
	38-39	46.3 (94/203)	44.3 (70/158)	ETM	0.235	0.240	0.956	0.328	1.27	(0.790, 2.025)
				Constant	-0.344	0.376	0.835	0.361	—	—
	40-41	35.2 (51/145)	34.6 (36/104)	ETM	0.246	0.288	0.728	0.394	1.28	(0.727, 2.247)
				Constant	-0.356	0.487	0.536	0.464	—	—
	42-43	21.5 (20/93)	20.0 (16/80)	ETM	0.084	0.383	0.048	0.827	1.09	(0.513, 2.306)
				Constant	-1.395	0.718	3.779	0.052	—	—
	44-45	17.5 (10/57)	12.5 (7/56)	ETM	0.874	0.632	1.915	0.166	2.40	(0.695, 8.273)
				Constant	0.308	1.020	0.091	0.763	—	—

续表

Outcomes	Age stratified (years)	Fresh ET (n=903)	FET (n=719)	Variable	<i>b</i>	<i>S<sub>b</sub></i>	Wald $\chi^2$	<i>P</i>	$\widehat{OR}$	OR 95% CI
Miscarriage ate/%	≥46	12.5 (2/16)	0.0 (0/26)	ETM	—	—	—	0.139	—	—
				Constant	—	—	—	—	—	—
	35-37	17.7 (33/186)	25.4 (34/134)	ETM	-0.894	0.364	6.035	0.014	0.41	(0.200, 0.835)
				Constant	-2.445	0.480	25.912	<0.001	—	—
	38-39	20.2 (19/94)	31.4 (22/70)	ETM	-0.649	0.380	2.916	0.088	0.52	(0.248, 1.101)
				Constant	-2.813	0.599	22.078	<0.001	—	—
	40-41	39.2 (20/51)	44.4 (16/36)	ETM	-0.013	0.380	0.001	0.973	0.99	(0.468, 2.081)
				Constant	-1.749	0.649	7.270	0.007	—	—
	42-43	55.0 (11/20)	68.8 (11/16)	ETM	-0.186	0.464	0.161	0.688	0.83	(0.334, 2.061)
				Constant	-2.327	0.864	7.259	0.007	—	—
	44-45	60.0 (6/10)	71.4 (5/7)	ETM	-0.367	0.674	0.297	0.586	0.69	(0.185, 2.595)
				Constant	-1.095	1.207	0.823	0.364	—	—
Live birth rate/%	≥46	100.0 (2/2)	/	ETM	—	—	—	—	—	—
				Constant	—	—	—	—	—	—
	35-37	39.3 (153/389)	32.9 (97/295)	ETM	0.581	0.187	9.637	0.002	1.79	(1.239, 2.581)
				Constant	-1.017	0.304	11.162	<0.001	—	—
	38-39	35.5 (72/203)	30.4 (48/158)	ETM	0.528	0.258	4.203	0.040	1.70	(1.023, 2.809)
				Constant	-0.520	0.396	1.730	0.188	—	—
	40-41	20.7 (30/145)	19.2 (20/104)	ETM	0.288	0.343	0.704	0.402	1.33	(0.681, 2.611)
				Constant	-1.105	0.570	3.754	0.053	—	—
	42-43	9.7(9/93)	5.0 (4/80)	ETM	0.669	0.632	1.119	0.290	1.95	(0.565, 6.738)
				Constant	-2.688	1.341	4.017	0.045	—	—
	44-45	7.0 (4/57)	3.4 (2/56)	ETM	1.812	1.283	1.966	0.158	6.12	(0.496, 5.625)
				Constant	-0.123	1.612	0.006	0.939	—	—
≥46	0.0(0/16)	0.0 (0/26)	ETM	—	—	—	—	—	—	
			Constant	—	—	—	—	—	—	

FET: frozen embryo transfer; ETM: embryo transfer method.

### 3 讨论

Maheshwari 等<sup>[7]</sup>研究结果显示新鲜胚胎移植妊娠率和活产率与全胚冷冻后首次移植相比无明显差异。2018年陈子江团队等在《新英格兰医学杂志》发表一项多中心随机对照临床研究,结果显示在排卵正常的不孕症患者中冷冻胚胎移植组与新鲜胚胎移植组的临床妊娠率、活产率、总妊娠丢失率、持续妊娠率、产科和新生儿并发症方面无显著差异<sup>[8]</sup>,该研究纳入的是首次体外受精周期治疗、且年龄为20~35岁的年轻女性患者。本研究纳入

的是≥35岁,接受首次IVF/ICSI治疗且首次行胚胎移植的患者,研究结果显示新鲜胚胎移植的临床妊娠率、活产率显著高于冷冻胚胎移植;同时也观察到两种胚胎移植方式的异位妊娠率、早产、围产儿死亡、性别比、胎儿畸形方面无明显差异。对于本研究中高龄女性首次冷冻胚胎移植获益不如新鲜胚胎移植的可能原因之一是胚胎的冷冻损伤。有研究结果显示,胚胎冻融过程可造成胚胎基因的不稳定性、胚胎DNA碎片增加、线粒体突变增加等<sup>[9]</sup>,导致胚胎的发育潜能及种植能力下降;同时胚胎在冷冻复苏过程中还可能导致表观遗传学的变化,对

胚胎种植及后续发育产生不良影响<sup>[10]</sup>。不仅如此,与年轻女性的胚胎相比,高龄女性的胚胎自我修复能力下降,对冻融损伤可能更加敏感。虽然先前的研究发现鲜胚移植会使胚胎处于高雌激素的环境,超生理激素环境可能会改变子宫内膜血管生成及子宫内膜的容受性,影响胚胎着床,对妊娠结局产生不良影响<sup>[9]</sup>,但是本研究纳入的是高龄女性患者,其卵巢反应显著低于高反应人群,体内激素水平可能未达到对胚胎产生不利影响的水平。Liu等<sup>[11]</sup>研究结果显示对于40岁以上的卵巢反应较差(poor ovarian response, POR)的患者,冷冻胚胎移植不能提高临床妊娠结局。

随着年龄的增长,女性卵巢的储备功能、卵子质量及子宫内膜的容受性逐渐下降,为了最大限度地增加高龄女性患者妊娠的机会,临床工作中往往会增加单次胚胎移植的数量。然而,这也会增加多胎妊娠风险。有研究结果显示在40岁及以上的女性中,相对于单囊胚移植,移植两个囊胚并不能提高每移植周期的临床妊娠率和活产率,但双胎妊娠率明显增加<sup>[12]</sup>。高龄人群本就具有发生妊娠和分娩期间并发症的高风险,双胎妊娠将进一步增加这些风险的发生<sup>[13]</sup>。本研究中高龄人群的总体双胎率较低,新鲜胚胎移植为4.8%,冷冻胚胎移植仅1.8%(表3),但新鲜胚胎移植周期的双胎妊娠率明显高于FET周期的双胎妊娠率,其主要原因是新鲜胚胎移植周期以卵裂期胚胎移植为主,单个胚胎移植的比例仅有26.5%,而FET周期单囊胚移植的比例增加,因此总体单胚胎移植的比例高于鲜胚移植组(44.1%)。高龄女性ART治疗后双胎妊娠带来的母胎围产风险更高,如妊娠期高血压、肝内胆汁淤积症、胎盘早剥、早产、贫血及剖宫产率等妊娠并发症风险,以及胎儿宫内发育迟缓、低出生体质量儿、胎儿畸形及围产儿死亡率的风险均显著增加<sup>[14]</sup>。如何对高龄患者实施有效的胚胎移植方案,既不影响妊娠结局,又可降低多胎率是目前急需解决的问题之一。高龄患者养囊的效率明显低于年轻患者,目前临床上多以卵裂期胚胎移植为主,较难实行单卵裂胚或单囊胚移植策略。为降低高龄女性鲜胚移植双胎妊娠相对较高的情况,本中心调整了高龄女性患者的鲜胚移植策略,即结合患者年龄和第3天卵裂期胚胎及第五囊胚质量情况,尽量

选择移植一枚新鲜优质胚胎/囊胚,或搭配一枚非优质胚胎一起移植,严格控制每次移植胚胎的数目。

年龄的增加伴随着机体各项生理机能的衰退,代谢水平降低,血管弹性变差,高龄患者妊娠期高血压的发生率明显增加。有研究结果显示与新鲜胚胎移植相比,FET后发生妊娠期高血压的风险和严重程度明显增加<sup>[15]</sup>。Zhang等<sup>[16]</sup>研究结果显示在高龄女性中,FET后妊娠期高血压发生风险较新鲜胚胎移植后显著增加。与上述研究结果相似,本研究中高龄女性新鲜胚胎移植后妊娠期高血压的发生率明显低于FET组[2.2% vs. 4.6%, OR 95%CI为0.35 (0.128, 0.947)]。有研究认为FET导致妊娠期高血压风险增加与胚胎玻璃化冷冻和复苏过程有关,胚胎冻融可能影响了滋养细胞的发育,导致胎盘异常<sup>[17]</sup>。另外,有研究提示与新鲜胚胎移植相比,胚胎低温保存可能导致胚胎表观遗传变化和胎盘异常<sup>[18]</sup>,另外FET后脐带边缘插入、副叶胎盘、绒毛膜下血栓及脐带异常所致的胎儿血流灌注不足的发生率更高,也被认为是FET后妊娠高血压高风险的原因<sup>[19]</sup>。然而,也有研究结果提示FET与新鲜胚胎移植相比并不增加妊娠期高血压的发生风险<sup>[8]</sup>。另有研究认为FET后妊娠期高血压风险的增加可能是由于母体特征或不孕本身造成<sup>[20]</sup>。然而Opdahl等<sup>[21]</sup>研究发现即使是来自同胞的卵母细胞,其冷冻胚胎移植后妊娠期高血压的风险仍然显著高于新鲜胚胎移植。尽管上述研究的结论不尽一致,但新鲜胚胎移植和FET之间在不孕原因、宫腔内环境、激素水平等方面存在差异,而这些差异可能是导致妊娠高血压发生率不同的重要原因。未来需要进一步研究FET与新鲜胚胎移植后妊娠期高血压发生的原因和潜在的发病机制。

Zhang等<sup>[22]</sup>最近进行的一项多中心研究结果显示,2015–2016年中国孕产妇的总体剖宫产率为38.9%,本研究中高龄女性患者的剖宫产率均显著高于总体人群(表2),这与高龄女性子宫机能下降,不孕患者内在原因,高龄女性多数有过剖宫产史等有关。Laval等<sup>[23]</sup>研究结果显示与鲜胚移植相比,FET后的剖宫产率更高,本研究中新鲜胚胎移植后的剖宫产率为70.5%,FET组的剖宫产率为76.6%,FET组患者剖宫产率增加可能与其巨大儿

的比例及新生儿平均出生体质量高于新鲜胚胎移植、子宫内膜准备等因素有关。然而,也有研究结果提示新鲜胚胎移植与FET的剖宫产率无显著差异<sup>[19]</sup>,FET是否会导致剖宫产率升高需要更多的临床数据的支持,以及进一步的基础和临床研究分析潜在原因及可能机制。

高龄女性出生婴儿的健康是关注的焦点,既往研究报道总人群中FET周期出生的婴儿平均体质量高于新鲜胚胎移植周期<sup>[23-24]</sup>,Zhang等<sup>[16]</sup>对高龄孕妇FET与新鲜胚胎移植后围产结局的研究显示,FET后新生儿出生体质量也明显高于新鲜胚胎移植(3 388.78 g vs. 3 316.19)。我们的结果与先前的研究结果一致,即高龄女性FET新生儿出生体质量明显高于新鲜胚胎移植。FET周期增加新生儿出生体质量的原因较复杂,可能与FET周期中接近自然状态的子宫内膜环境有利于胎盘和胚胎生长有关,而在新鲜胚胎移植周期,控制性超排卵影响子宫内膜环境,体内相对较高水平雌、孕激素环境可能改变子宫内膜基因表达<sup>[25]</sup>,影响胎儿发育和胎盘形成,即较高的雌二醇水平可能与较低的新生儿出生体质量有关<sup>[26]</sup>。在胚胎发育方面,有文章报道胚胎冷冻影响胎儿和胎盘印记基因表达和DNA甲基化,这些表观遗传学改变影响胚胎发育过程和胎儿宫内生长潜力<sup>[16]</sup>,另一方面,也有研究报道新鲜胚胎移植可能影响胎盘PEG10印迹基因的表达,不利于胎盘发育,导致低出生体质量和小于胎龄儿的发生率增加<sup>[27]</sup>。总之,父母身体状态和ART治疗特征均可能影响胚胎移植后的围产结局,与新鲜胚胎移植相比,FET是对出生重影响最大的ART治疗特征<sup>[28]</sup>。

目前已有较多研究结果显示,35岁以上女性的胚胎整倍体率随着年龄的增长明显下降,这是高龄女性妊娠率和活产率降低的主要原因<sup>[29]</sup>。Yang等<sup>[30]</sup>研究结果显示,与35岁以下的女性相比,35~40岁女性早期流产的风险明显增加(OR=1.49,95% CI: 1.22-1.83)。本研究结果显示,随着年龄的增长,高龄女性自然流产率显著增高,与之相对应的是患者胚胎移植后的活产率明显下降,尤其是40岁以上的女性患者,本研究中当女方年龄为42-43岁时,活产率仅为7.51%,流产率高达61.11%;≥46岁患者无1例活产(表4)。既往研究发现随着女

性年龄增加卵母细胞氧化应激损伤增加、DNA损伤修复基因功能下降、端粒缩短、糖化终产物积聚以及线粒体功能下降,这些变化均会导致卵母细胞质量下降、胚胎异常以及子宫和胎盘功能障碍,造成高龄女性流产率增加及后代出生缺陷<sup>[31]</sup>。另一方面,Reig等<sup>[32]</sup>研究结果显示即使移植了整倍体的胚胎,女性年龄的增加也与胚胎种植率的降低有关,38岁及以上女性的种植率明显低于35岁以下女性。因此,即使排除胚胎非整倍体的因素,随着年龄增长,胚胎的植入潜能仍然降低,高龄女性不孕患者需尽早接受ART助孕治疗。

本研究的优点在于关注高龄女性,比较新鲜胚胎移植和FET对高龄女性妊娠和围产期结局的影响,这是目前国内样本量较大的回顾性研究。本研究结果可为高龄女性不孕症治疗提供咨询和建议参考。本研究也有一定的局限性:作为真实世界的临床研究,本研究未严格筛选入组人群,分配到研究组中的患者基本特征可能存在组间差异。为尽量减少多种因素的干扰,我们仅纳入了接受首次IVF治疗的首次胚胎移植周期,即首次IVF周期的新鲜胚胎移植与首次IVF且全冻病人的首次FET周期,并进行了多因素logistic回归分析,但是仍然存在回顾性研究的内在局限性;同时本研究中部分妊娠并发症中阳性样本量较少,并不满足EPV(event per variable)的要求,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。该结果的可靠性尚需未来更多研究的验证。

综上所述,我们的结果显示高龄女性新鲜胚胎移植的临床妊娠率、活产率高于解冻胚胎移植,同时也伴随相对较低的流产率、剖宫产率和妊娠期高血压发生风险,有助于改善高龄女性的临床结局和母婴安全。这些发现在多大程度上与胚胎冻融以及其他ART治疗或不孕症本身相关尚有待确定,高龄女性的胚胎是否对冻融操作更加敏感,是否需要慎重选择胚胎全冻移植策略,尚需大样本、多中心的研究,进一步分析冷冻胚胎移植对高龄患者妊娠、围产结局和并发症的影响。对于高龄患者而言提高临床妊娠率并不是最终目标,健康安全的分娩应该受到广泛重视。

## 参考文献

- [1] 乔杰, 杨蕊. 高龄辅助生殖技术临床结局[J]. 中国实用妇产科杂志, 2017, 33(1): 64-67.  
Jie Q, Rui Y. Clinical outcome of assisted reproductive technology in women at advanced maternal age[J]. *China J Pract Gynecol Obstet*, 2017, 33(1): 64-67.
- [2] 中华医学会生殖医学分会. 中国高龄不孕女性辅助生殖临床实践指南[J]. 中国询证医学杂志, 2019, 19(3): 253-270.  
Chinese Society of Reproductive Medicine. Chinese practice guideline on the assisted reproductive technology (ART) strategies for women with advanced age[J]. *China J Evid Based Med*, 2019, 19(3): 253-270.
- [3] Jie Q, Yuanyuan W, Xiaohong L, et al. A Lancet Commission on 70 years of women's reproductive, maternal, newborn, child, and adolescent health in China [J]. *Lancet*, 2021, 397(10293): 2497-2536.
- [4] Mizrachi Y, Horowitz E, Farhi J, et al. Ovarian stimulation for freeze-all IVF cycles: a systematic review [J]. *Hum Reprod Update*, 2020, 26(1): 118-135.
- [5] Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting [J]. *Hum Reprod*, 2011, 26(6): 1270-1283.
- [6] Wang HT, Hong PP, Li HY, et al. Use of a new set of key performance indicators for evaluating the performance of an in vitro fertilization laboratory in which blastocyst culture and the freeze-all strategy are the primary treatment in patients with in vitro fertilization [J]. *J Int Med Res*, 2021, 49(9): 1-12.
- [7] Maheshwari A, Bell JL, Bhide P, et al. Elective freezing of embryos versus fresh embryo transfer in IVF: a multicentre randomized controlled trial in the UK (E-Freeze) [J]. *Hum Reprod*, 2022, 37(3): 476-487.
- [8] Shi YH, Sun Y, Chen ZJ. Transfer of fresh versus frozen embryos in ovulatory women [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2): 126-136.
- [9] Zaat T, Zagers M, Mol F, et al. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2021, 2(2): 1-84.
- [10] Ben Rafael Z. Should we still offer elective freezing of all embryos in all IVF cycles? [J]. *Hum Reprod*, 2020, 35(10): 2179-2184.
- [11] Liu C, Li Y, Jiang H, et al. The clinical outcomes of fresh versus frozen embryos transfer in women  $\geq 40$  years with poor ovarian response [J]. *Obstet Gynecol Sci*, 2021, 64(3): 284-292.
- [12] Arab S, Badegiesh A, Aldhaheeri S, et al. What are the live birth and multiple pregnancy rates when 1 versus 2 low-quality blastocysts are transferred in a cryopreserved cycle? a retrospective cohort study, stratified for age, embryo quality, and oocyte donor cycles [J]. *Reprod Sci*, 2021, 28(5): 1403-1411.
- [13] Wang Z, Zhu H, Tong X, et al. Clinical outcomes after elective double-embryo transfer in frozen cycles for women of advanced maternal age: A retrospective cohort study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2022, 101(9): 1-6.
- [14] Practice Committee of the Society for Reproductive Endocrinology and Infertility. Multiple gestation associated with infertility therapy: a committee opinion [J]. *Fertil Steril*, 2022, 117(3): 498-511.
- [15] Sha T, Yin X, Cheng W, et al. Pregnancy-related complications and perinatal outcomes resulting from transfer of cryopreserved versus fresh embryos in vitro fertilization: a meta-analysis [J]. *Fertil Steril*, 2018, 109(2): 330-342.
- [16] Zhang X, Bai L, Ren H, et al. Perinatal and maternal outcomes after frozen versus fresh embryo transfer cycles in women of advanced maternal age [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2021, 257(2): 133-137.
- [17] Shavit T, Oron G, Weon-Young S, et al. Vitrified-warmed single-embryo transfers may be associated with increased maternal complications compared with fresh single-embryo transfers [J]. *Reprod Biomed Online*, 2017, 35(1): 94-102.
- [18] Ozmen A, Kipmen-Korgun D, Isenlik BS, et al. Does fresh or frozen embryo transfer affect imprinted gene expressions in human term placenta? [J]. *Acta Histochem*, 2021, 123(3): 1-9.
- [19] Sacha CR, Harris AL, 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): 360-316.
- [20] Severino AI, Pova AM. Frozen embryo transfer and preeclampsia risk [J]. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*,

- 2021, 50(9): 1–5.
- [21] Opdahl S, Henningsen AA, Tiitinen A, et al. Risk of hypertensive disorders in pregnancies following assisted reproductive technology: a cohort study from the CoNARTaS group [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(7): 1724–1731.
- [22] Zhang Y, Betran AP, Li X, et al. What is an appropriate caesarean delivery rate for China: a multicentre survey [J]. *BJOG*, 2022, 129(1): 138–147.
- [23] Laval M, Garlantezec R, Guivarc’h-Leveque 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): 1–7.
- [24] Cavoretto PI, Farina A, Gaeta G, et al. Uterine artery Doppler in singleton pregnancies conceived after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection with fresh vs frozen blastocyst transfer: longitudinal cohort study [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2020, 56(4): 603–610.
- [25] Volodarsky-Perel A, Ton Nu TN, 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.
- [26] Tarlatzi T, Venetis C, Sassi A, et al. Higher estradiol levels are associated with lower neonatal birthweight after fresh and frozen embryo transfers. a cohort study of 3631 singleton IVF pregnancies [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2021, 37(7): 618–623.
- [27] 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): 1–7.
- [28] Pontesilli M, Hof MH, Ravelli ACJ, et al. Effect of parental and ART treatment characteristics on perinatal outcomes [J]. *Hum Reprod*, 2021, 36(6): 1640–1665.
- [29] Demko ZP, Simon AL, Mccoy RC, et al. Effects of maternal age on euploidy rates in a large cohort of embryos analyzed with 24–chromosome single-nucleotide polymorphism-based preimplantation genetic screening [J]. *Fertil Steril*, 2016, 105(5): 1307–1313.
- [30] Yang AM, Xu X, Han Y, et al. Risk factors for different types of pregnancy losses: analysis of 15, 210 pregnancies after embryo transfer [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12(6): 1–13.
- [31] Secomandi L, Borghesan M, Velarde M, et al. The role of cellular senescence in female reproductive aging and the potential for senotherapeutic interventions [J]. *Hum Reprod Update*, 2022, 28(2): 172–189.
- [32] Reig A, Franasiak J, Scott RT, et al. The impact of age beyond ploidy: outcome data from 8175 euploid single embryo transfers [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2020, 37(3): 595–602.

(编辑 孙慧兰)