

综述

冻融胚胎移植对子代的近、远期影响

秦宁馨^{1,2}, 赵文龙^{1,2}, 周志阳^{1,2}, 施炜慧^{1,2}, 吴琰婷^{1,2,3}, 黄荷凤^{1,2,3}

1. 上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院胚胎源性疾病研究所, 上海 200030; 2. 上海市胚胎源性疾病重点实验室, 上海 200030; 3. 复旦大学生殖与发育研究院, 上海 200032

[摘要] 冻融胚胎移植 (frozen-thawed embryo transfer, FET) 是常用辅助生殖技术之一。由于FET具有累积妊娠率高、卵巢过度刺激综合征发生率低等优势, 通过该项技术出生的子代数量逐年增加。多项研究提示FET子代发生围产期早产、低出生体质量、小于胎龄儿等的风险低于新鲜胚胎移植周期出生的子代, 也有证据显示FET子代出现巨大儿、大于胎龄儿等的风险较高; 同时, 亦有研究针对FET子代在儿童期及成人期的长期健康状况进行报道。该文就FET对子代的近、远期影响及其原因进行综述。

[关键词] 辅助生殖技术; 冻融胚胎移植; 子代; 近期影响; 远期影响

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.05.016 **[中图分类号]** R711.6 **[文献标志码]** A

Short- and long-term effects of frozen-thawed embryo transfer on offspring

QIN Ning-xin^{1,2}, ZHAO Wen-long^{1,2}, ZHOU Zhi-yang^{1,2}, SHI Wei-hui^{1,2}, WU Yan-ting^{1,2,3}, HUANG He-feng^{1,2,3}

1. Institute of Embryo Original Diseases, the International Peace Maternity & Child Health Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200030, China; 2. Shanghai Key Laboratory of Embryo Original Diseases, Shanghai 200030, China; 3. Institute of Reproductive and Developmental Research, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] Frozen-thawed embryo transfer (FET) is one of the commonly used assisted reproductive technology. Because FET has the advantages of high cumulative pregnancy rate and low incidence of ovarian hyperstimulation syndrome, the number of offspring born through this technology is increasing year by year. Many studies have shown that the risks of preterm delivery, low birth weight and small for gestation age of FET offspring are lower than those of the offspring born in the fresh embryo transfer cycle. There is also evidence that the risks of macrosomia and large for gestational age of FET offspring are higher. At the same time, there are also reports on the long-term health status of FET offspring in childhood and adulthood. This paper reviews the short-term and long-term effects of FET on offspring and the causes.

[Key words] assisted reproductive technology (ART); frozen-thawed embryo transfer (FET); offspring; short-term effect; long-term effect

自辅助生殖技术 (assisted reproductive technology, ART) 诞生 40 年以来, 已累计有超过 800 万人通过这项技术出生^[1]。近年来, ART 出生人口占比已超过 5%^[2], ART 子代安全性问题不容忽视。既往研究^[3]提示, ART 子代在出生体质量、生长发育、代谢性疾病等多方面与自然妊娠子代存在一定差异, 这种情况可能与不孕症父母遗传背景复杂、促排卵药物使用以及 ART 操作等有关。目前, 临床上常用的 ART 包括夫精人工授精、体外受精胚胎移植术 (*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)、卵细胞质内单精子注射 (intra cytoplasmic sperm injection, ICSI) 以及植入前遗传学诊断 (preimplantation genetic diagnosis, PGD) 等。

1983 年, Trounson 等^[4]在 *Nature* 上报导了首例人类

冻融胚胎移植 (frozen-thawed embryo transfer, FET) 妊娠。由于玻璃化冷冻技术的不断优化, 胚胎冻融效率得到了较大提升, 为 FET 的广泛开展提供了可能^[5]。与新鲜胚胎移植周期 (简称新鲜周期) 相比, 由于女性接受 FET 周期时高雌激素状态可得到改善、胚胎内膜容受性较好, 因此接受 FET 周期的女性获得的活产率更高、卵巢过度刺激综合征 (ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS) 发生率更低^[6]; 同时, PGD 和 FET 联合应用, 也使得 FET 周期在 ART 总周期中的占比逐渐增加。2016 年, 中国大陆实施 FET 的总周期数超 36 万, 分娩婴儿数量超 16 万, 而同期实施 IVF-ET 的出生人口数有 8 万余, 仅为 FET 的一半。目前, 作为不孕症治疗的重要 ART 之一, 通过 FET 出生的子代人口数量和人口占比均不断增加。

[基金项目] 国家重点研发计划 (2017YFC1001300); 国家自然科学基金 (81661128010)。

[作者简介] 秦宁馨 (1991—), 女, 博士生; 电子信箱: qinningxin@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 黄荷凤, 电子信箱: huanghefg@sjtu.edu.cn。

[Funding Information] National Key R&D Program of China (2017YFC1001300); National Natural Science Foundation of China (81661128010)。

[Corresponding Author] HUANG He-feng, E-mail: huanghefg@sjtu.edu.cn。



因此,我们在关注妊娠结局的同时,也应对子代安全性问题进行关注。本文就FET对子代近、远期的影响及其原因进行回顾和总结。

1 近期影响

1.1 围产期结局

1.1.1 早产、低出生体质量及小于胎龄儿 早产、低出生体质量(low birth weight, LBW)是罹患新生儿疾病和导致围产儿死亡的重要原因,极易并发感染、窒息。早产儿和LBW患儿在出生后易出现追赶性生长^[7]。既往研究^[8]显示, LBW患儿在儿童期易出现认知功能障碍、精神行为异常,在成人期罹患高血压、糖尿病等心血管及代谢异常的风险较高。因此,早产和LBW不仅是威胁围产儿安全的重要因素,也会给社会带来沉重的医疗和经济负担^[9]。

以往研究^[10]发现,采用ART出生的子代的早产、LBW及小于胎龄儿(small for gestation age, SGA)发生率高于自然妊娠出生的子代。目前,越来越多的证据提示FET周期子代发生这些不良围产事件的风险明显低于新鲜周期。Smith等^[11]回顾性纳入英国2003—2013年接受ART治疗的人群,共计337 148个促排卵周期、399 896个新鲜及FET周期,其中接受全胚冷冻下FET的女性发生LBW和SGA的风险更低,风险比分别为0.71和0.64。Vidal等^[12]回顾性纳入加拿大2008—2012年行ART治疗且单胎分娩的患者,其自体卵周期中包含新鲜周期5 560例、FET周期1 158例,结果显示新鲜周期的SGA、早产发生率均高于FET周期。Maheshwari等^[13]对1984—2016年发表的26篇FET相关研究进行meta分析,结果显示FET新生儿出现早产、SGA、LBW、极低出生体质量(very low birth weight, VLBW)的概率比新鲜周期有明显降低,但在进入新生儿重症监护室风险、先天畸形风险、围产期死亡率等方面类似。同时,另有研究^[14]发现,单胎分娩的FET子代的围产期死亡率低于新鲜周期。综上,我们发现FET子代围产期发生早产、LBW、SGA的概率低于新鲜周期。

1.1.2 巨大儿及大于胎龄儿 巨大儿是指出生体质量>4 000 g的新生儿,常见并发症有肩难产、新生儿窒息以及剖宫产率增加等^[15]。大于胎龄儿(large for gestation age, LGA)指出生体质量大于相同胎龄平均体质量第90百分位数的新生儿。近年来有研究^[16-18]提示, LGA及巨大儿的儿童期和成年期肥胖、2型糖尿病、代谢综合征等的发生率显著增加。且越来越多的证据显

示,通过FET周期出生的子代发生巨大儿、LGA的概率较高^[19]。

Berntsen等^[20]对17篇相关研究进行meta分析,结果显示FET周期巨大儿的发生风险是新鲜周期的2.7倍、自然妊娠的2.4倍, LGA发生风险是新鲜周期的2.5倍、自然妊娠的2.3倍。Wei等^[21]的多中心随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)以卵巢功能正常行ART治疗的女性患者为研究对象,分为新鲜周期组和FET组,均行单囊胚移植;结果显示FET周期活产率高于新鲜周期,其中单胎分娩的FET周期新生儿平均出生体质量高于新鲜周期(3 407.9 g vs 3 293.1 g),同时FET周期的LGA发生率亦高于新鲜周期(18.6% vs 11.6%)。Spijkers等^[22]的配对研究报道显示,荷兰FET单胎子代平均出生体质量为3 443 g,高于自然妊娠子代(3 251 g)。Ginström Ernstad等^[19]回顾性纳入瑞典2005—2015年出生的单胎子代,其中FET组9 726例、新鲜周期组24 365例、自然妊娠组1 127 566例,结果显示3组的LGA发生率分别为6.5%、3.5%、4.5%。目前,尚未有证据显示双胎或多胎分娩的FET周期巨大儿及LGA发生率高于自然妊娠或新鲜周期。Pinborg等^[23]对同一对夫妻行ART并对其子代的出生结局行meta分析,以排除因父母遗传等导致FET周期较高的LGA和巨大儿发生率,纳入对象均为第一胎为新鲜周期出生、第二胎为FET周期出生,结果显示第二胎FET周期出生子代的LGA、巨大儿发生风险较第一胎明显增加。因此,研究人员认为排除父母遗传因素后,FET仍能增加子代发生LGA的风险,这可能是由于冷冻胚胎过程对胚胎产生了潜在的影响。

1.1.3 其他相关疾病 Vermeij等^[24]通过meta分析发现ART周期前置胎盘发生率明显高于非ART,但FET周期前置胎盘发生率和非ART没有差异。Sha等^[25]对31篇相关临床研究进行meta分析,结果显示FET周期发生前置胎盘、胎盘早剥的概率明显低于新鲜周期。

但同时又有证据显示,FET周期可能与妊娠期高血压疾病呈正相关。在Maheshwari等^[13]的meta分析中显示,FET周期比新鲜周期发生妊娠期高血压疾病的风险大大增加。同样Roque等^[26]纳入6篇研究进行meta分析探讨FET和新鲜周期的产科结局,结果显示FET周期子代的子痫前期发生风险较高。Wei等^[21]的多中心RCT显示,FET组子代的子痫前期发生率高于新鲜周期组(3.1% vs 1.0%, $P<0.05$)。临床证据提示,在妊娠期并发子痫前期的母亲,其子代在儿童期发生认知障碍和成年期罹患心血管疾病的风险将会增加^[27]。因此,目前尚不清楚FET是否通过增加妊娠期子痫前期的发生率来间接

增加子代认知障碍和心血管疾病的发生风险。

1.2 出生缺陷

目前关于FET是否增加子代出生缺陷的发生风险尚无定论。有些研究认为,FET不会额外增加子代出生缺陷的发生风险。Wikland等^[28]对103例玻璃化冷冻囊胚移植、199例新鲜囊胚移植及194例慢速冷冻囊胚移植出生的婴儿进行随访,结果显示3组出生缺陷的发生率分为1.0%、2.0%、4.1%,差异无统计学意义。Kato等^[29]回顾性纳入6 623例单胎出生的ART子代,结果发现玻璃化冷冻胚胎移植子代的出生缺陷发生率为2.4%,新鲜胚胎移植为1.9%,该2种移植方式间差异无统计学意义。Beltran Anzola等^[30]回顾性纳入ART出生新生儿2 750例,统计结果显示IVF子代出生缺陷的发生率为5.0%、ICSI发生率为5.2%、IVF-FET发生率为2.5%、ICSI-FET发生率为4.5%,且差异无统计学意义。Yin等^[31]在国内开展了一项回顾性临床研究,共纳入ART子代4 236例,其中IVF组2 543例、ICSI组908例、FET组785例,自子代出生随访至3岁,结果显示3组出生缺陷发生率分别为2.28%、2.86%和1.27%,其中ICSI子代出生缺陷的风险较高、FET组发生风险较低。

同时,也有学者获得了与上述研究相反的结论,即FET可增加子代出生缺陷的发生风险。Ooki^[32]纳入2007—2012年通过ART出生的子代,IVF/ICSI组单胎和双胎出生缺陷发生率分为1.37%和1.21%,FET组分别为1.3%和1.73%;对单胎而言,FET组出生缺陷发生率与IVF/ICSI相似,但其双胎出生缺陷发生率高于IVF/ICSI组。Belva等^[33]对937例ART出生的子代进行研究,发现在IVF单胎妊娠中FET和新鲜胚胎移植的出生缺陷发生率间无显著差异(4.1% vs 4.6%),但在ICSI单胎妊娠中,FET周期组出生缺陷率明显高于新鲜周期组(8.4% vs 4.2%)。因此,FET是否可增加子代的出生缺陷仍值得进一步研究。

2 远期影响

根据已有研究我们发现,ART对子代可产生一定的远期影响,包括心血管及代谢性疾病、癌症、呼吸及过敏性疾病(如哮喘等)、内分泌疾病、视力/听力障碍、生长发育及一般健康状态、青春期启动时间及睾丸功能、自闭及抑郁精神状态、嗜烟酒等方面^[34]。目前,有关远期影响的研究相对较少,但仍然需要研究者们继续关注。

2.1 生长发育

1996年,Olivennes等^[35]纳入89例经FET出生的1~9岁儿童,就FET对子代的远期影响进行研究,主要观测指标为妊娠期结局、围产期结局、身高、体质量等生长发育指数以及学龄期学习成绩;结果显示,1~3岁时期仅有3例早产且双胎出生的儿童的生长发育指标低于平均水平的第10百分位数,其余儿童均在正常范围内,且在学龄期FET子代的生长发育及学习成绩均没有异常表现。

Nakajo等^[36]在日本开展了一项回顾性研究,共纳入658个儿童(IVF组125例、ICSI组418例、FET组115例),通过对父母行问卷调查,研究从出生至2岁时期儿童身高、体质量及身心发育健康。结果显示,对于单胎而言,在3~4月龄、6~7月龄、9~10月龄、1岁、1岁6个月以及2岁时,3组儿童的身高、体质量与同期儿童平均水平的中位数相近;但对于双胎而言,其出生体质量、3~4月龄体质量均明显低于同期中位数,至6~7月龄时体质量追赶上第50百分位数。

Hann等^[37]回顾性纳入5 200例经ART(包含新鲜周期和FET周期)出生儿童及20 800例自然妊娠出生儿童,对其生长发育情况进行分析。结果显示,通过新鲜周期出生的新生儿平均体质量比自然妊娠组轻93.7 g,而FET周期出生的新生儿比自然妊娠组重57.5 g;自出生后6~8周,新鲜周期出生的婴儿每周增长的体质量明显高于自然妊娠组,但平均体质量仍低于自然妊娠组,呈现追赶性生长的趋势,而FET组婴儿的体质量在此期间的增长趋势较为缓慢;学龄前期(4~7岁),3组儿童的身高、体质量及BMI均达到相似水平。因此,无论是男孩还是女孩,FET组体质量的增长曲线与对照组最为接近,体质量变化趋势也较为类似。

周经委等^[38]通过IVF及FET小鼠模型发现,新鲜周期组和FET组小鼠出生体质量均大于经自然妊娠出生的对照组;自出生后1~12周,新鲜周期组和FET组小鼠体质量均大于对照组,且FET组体质量改变更为明显,而新鲜周期组体质量变化趋势与对照组更为相似。成年期时,FET组子代小鼠脂肪含量高于对照组和新鲜周期组,且其肌肉含量高于对照组。因此,该研究认为新鲜周期对子代体质量的干扰小于FET。

目前,尚没有充足的证据表明FET子代生长发育落后于自然妊娠子代。同时,由于新鲜周期出生子代LBW及SGA发生率较FET更高,更容易在儿童期出现追赶性生长,而FET子代生长发育比新鲜周期子代更为接近自然状态,因此这一结论仍需要更多的临床证据给予支持。

2.2 神经、精神发育及一般健康状态

在 Sutcliffe 等^[39]开展的 FET 子代随访研究中, 纳入 1~5 岁 FET 子代 91 例, 其中单胎出生 68 例、双胎出生 20 例、三胎出生 3 例, 纳入对照组(自然妊娠分娩)儿童 83 例, 其中单胎 81 例、双胎 2 例, 并对 2 组儿童的一般健康状态进行分析。结果显示, FET 组有 1 例被诊断为唐氏综合征、3 例斜视、4 例听力障碍, 同时对照组有 6 例斜视、9 例听力障碍。同时, 该研究采用格里菲斯心理发展量表对所有入组儿童进行运动、语言等方面测试, 在排除唐氏综合征患儿后, 2 组儿童在总评分、运动、社交、听力语言、眼手协调和一般表现之间差异均无统计学意义。因此, 研究者认为 FET 子代一般健康状态和自然妊娠出生儿童相类似。

Wennerholm 等^[40]开展了一项前瞻性研究, 纳入 762 例新生儿(FET 组 255 例、IVF 组 255 例、对照组 252 例), 追踪其出生至 18 月龄的一般健康状态, 结果显示 3 组新生儿在视力障碍、认知能力障碍、消化道疾病、呼吸道疾病、先天性心脏病等的发病率均无明显差异。继而认为, FET 出生子代的一般健康状况良好。

Pelkonen 等^[41]回顾性纳入 1995—2006 年 ART 出生的儿童 4 758 例(包含 FET 出生儿童 1 825 例、新鲜周期出生儿童 2 933 例)及自然妊娠出生儿童 311 137 例, 对其从出生至 3 岁时期进行随访, 结果显示在这段时期新鲜周期和 FET 出生儿童进入医院的就诊次数间差异无统计学意义, 且均高于自然妊娠出生的儿童, 同时 FET 组儿童耳炎、下呼吸道感染的发生率均高于新鲜周期组。

丹麦学者 Spangmose 等^[42]开展了一项队列研究, 以单胎出生的 ART 子代为研究对象(FET 组 423 例、新鲜周期组 6 072 例), 主要观测指标为 15~16 岁的学习成绩, 结果显示 2 组子代的丹麦语、数学、英语、物理/化学以及总体成绩间差异均无统计学意义。

综上所述, 在一般健康状态的相关研究中我们发现, 多数研究认为 FET 子代的神经、精神发育等没有明显异常, 但也有研究指出 FET 出生儿童的耳炎、下呼吸道感染发生率可能增加。

2.3 脂代谢异常

Green 等^[43]在新西兰开展了一项 ART 子代随访研究, 纳入单胎、足月分娩出生的 3.5~11 岁儿童, 包含对照组(自然妊娠出生)94 例、新鲜周期组 72 例、FET 组 43 例。结果显示, 新鲜周期组儿童的体质量轻于 FET 组但身高高于 FET 组, 且这种差异主要来源于女性儿童。血液分析显示, 新鲜周期组儿童的胰岛素样生长因子 1 水

平较对照组明显升高, FET 组儿童胰岛素样生长因子 2 水平较对照组亦明显升高, 而其胰岛素样生长因子结合蛋白 3 水平则明显降低; 在血脂方面, FET 组儿童血清高密度脂蛋白水平较对照组和新鲜周期组有所降低, 三酰甘油水平较新鲜周期组升高。研究者认为, 新鲜周期组生长发育的差异可能由于其新生儿时期 SGA 及 LBW 比例较高, 更易在儿童时期出现追赶性生长所致^[44]; 但 FET 组出现更明显的脂代谢异常却难以解释, 可能与样本量有限相关, 或与促排卵药物使用、亲代遗传背景有关, 但也可能提示冻融胚胎对子代脂代谢存在潜在影响。

2.4 肿瘤

2019 年 Hargreave 等^[45]回顾性研究丹麦 1996—2012 年出生的 1 220 万新生儿, 发现 FET 出生的儿童罹患癌症的概率明显增加, 即平均每 10 万人发生 44.4 例, 明显高于对照组(17.1 例/10 万人)和新鲜移植组(23.1 例/10 万人), 且主要表现为白血病和交感神经系统肿瘤。研究人员认为, FET 子代儿童期罹患肿瘤概率较高可能与冻融胚胎导致子代肿瘤易感性增强有关, 但该结论仍需更为直接的证据探究。

3 FET 对子代产生影响的原因

3.1 母体高雌激素状态的纠正

对于新鲜移植周期, 母体刚刚接受控制性卵巢超促排卵治疗, 体内雌二醇处于超生理状态水平。有临床证据^[46-48]显示, 早孕期间母体高雌激素暴露和子代发生 LBW、SGA 呈正相关。Zhang 等^[49]发现, 取卵周期中母体雌二醇峰值每升高 100 pg/mL, 其子代出生体质量会减轻约 5 g。同样, 在小鼠模型中孕期高雌激素小鼠的子代出生体质量比正常小鼠低约 0.1 g^[50]。妊娠早期高雌激素暴露是子代围产期不良结局的主要因素之一。FET 周期中内膜准备方案的多样化, 移植日雌二醇水平明显低于新鲜周期^[47], 可在一定程度上缓解母体不良环境的暴露、改善其内膜容受性^[51]。因此, FET 周期围产期结局部分优于新鲜周期, 可能与母体高雌激素状态的纠正相关。

3.2 胚胎冻融与遗传、表观遗传

临床上胚胎冻融发生于卵裂期或囊胚期, 也正是胚胎基因组激活、表观遗传学“擦除和重建”的重要时期, 因此胚胎的冻融操作可能会给其遗传和表观遗传带来改变^[52]。Zhao 等^[53]发现小鼠囊胚冻融后多能性基因 *Oct4* 和 *Nanog* 表达明显降低。类似地, Shaw 等^[54]对人的 8 细

胞胚胎冻融后发现 *Nanog* 表达明显降低。继而提示, 胚胎的冻融对转录组或可产生一定影响。

表观遗传是指DNA序列不发生变化但基因表达发生了可遗传的改变, 其具有不遵循孟德尔遗传定律、可受环境影响、可遗传性、可逆性4个特点, 可从DNA修饰、蛋白修饰和非编码RNA调控3个层面调控基因的表达。表观遗传学研究主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰、X染色体失活和基因印记等。有证据提示, 表观遗传学是ART对子代产生远期影响的可能的机制之一^[55]。目前, 关于种植前胚胎的冻融对表观遗传学的影响尚没有明确定论。Derakhshan-Horeh等^[56]对培养行玻璃化冷冻和未行玻璃化冷冻的胚胎的研究发现, 第3日阶段的玻璃化冷冻并不影响胚胎印记基因 *H19* 和印记基因 *Igf* 差异甲基化区的甲基化状态, 且行玻璃化冷冻后又解冻的胚胎仍能保持良好的生长发育状态, 可于第5日形成囊胚。Wang等^[57]在小鼠模型的研究中发现, IVF和FET子代小鼠的DNA甲基化均发生了明显改变, *H19/Igf2* 差异甲基化区域的甲基化水平明显降低且FET子代表现得更明显, 印记基因 *Igf2* 表达也有所降低且FET子代更低。继而提示, 早期胚胎冻融可能对DNA甲基化产生影响。此外, Maldonado等^[58]在牛的囊胚期对胚胎进行冻融后发现, 胚胎组蛋白修饰 *H3K4me3* (活化模式) 降低了20%左右, 而 *H3K27me3* (抑制模式) 有明显增加。因此, 针对冻融胚胎对遗传和表观遗传的改变仍需要更多的证据加以支持。

3.3 其他影响因素

Gu等^[59]纳入单胎活产FET周期新生儿3 199例, 包含慢速冷冻341例和玻璃化冷冻2 858例, 并对新生儿围产期结局进行研究。结果发现, 2组新生儿的出生体质量

及LGA、SGA等的发生率间差异无统计学意义, 且未发现2种胚胎冷冻方案对子代围产期结局有明显改变。Jing等^[60]回顾性纳入接受FET周期的女性11 036例, 根据内膜准备方案(自然排卵、激素替代)将其分为自然周期组和人工周期组。结果显示, 人工周期组妊娠期高血压发生率高于自然周期组(7.2% vs 4.2%); 2组单胎分娩新生儿出生体质量及早产、SGA、LGA等的发生率间无明显差异, 而双胎分娩周期新生儿中人工周期组的早产发生率高于自然周期组。综上, 胚胎冷冻方法、内膜准备方案是FET周期的两大重要因素, 目前有证据提示FET周期激素替代方案可能会给予子代围产期带来不良影响, 但仍需更多的临床证据进行探究。

4 总结与展望

综上所述, 目前的研究证据提示, 就围产期而言, FET子代LBW、SGA的发生风险低于新鲜周期, 更接近自然妊娠, 但同时出现的LGA、巨大儿高风险也需要引起重视。就出生缺陷而言, 目前尚没有定论。就远期效应而言, 新鲜周期子代更易出现追赶性生长, FET子代更接近自然妊娠子代的生长趋势, 但是研究中发现的脂代谢异常、肿瘤易感等问题同样不容忽视。

相比较于新鲜周期, FET周期对子代造成的影响既有利又有弊, 这种影响的产生可能由于母体环境的改善和冻融胚胎操作等多方面共同作用导致。在进行临床决策时, 既不能由于短期出现的良好效应对FET盲目乐观, 也不能无证据地进行技术滥用。因此, 临床医师需要更多的科学及临床研究证据以辅助临床治疗、优化ART, 保障母婴健康。

参·考·文·献

- [1] European IVF-Monitoring Consortium (EIM), European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), Kupka MS, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2011: results generated from European registers by ESHRE[J]. Hum Reprod, 2016, 31(2): 233-248.
- [2] Saito H, Jwa SC, Kuwahara A, et al. Assisted reproductive technology in Japan: a summary report for 2015 by The Ethics Committee of The Japan Society of Obstetrics and Gynecology[J]. Reprod Med Biol, 2018, 17(1): 20-28.
- [3] 贺木兰, 孙晓溪. 辅助生殖技术子代安全性及对策思考[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2019, 39(10): 838-843.
- [4] Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo[J]. Nature, 1983, 305(5936): 707-709.
- [5] Loutradi KE, Kolibianakis EM, Venetis CA, et al. Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis[J]. Fertil Steril, 2008, 90(1): 186-193.
- [6] Wong KM, van Wely M, Mol F, et al. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2017, 3: CD011184.
- [7] Jain V, Singhal A. Catch up growth in low birth weight infants: striking a healthy balance[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2012, 13(2): 141-147.
- [8] Franz AP, Bolat GU, Bolat H, et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder and very preterm/very low birth weight: a meta-analysis[J]. Pediatrics, 2018, 141(1): e20171645.
- [9] Petrou S, Sach T, Davidson L. The long-term costs of preterm birth and low birth weight: results of a systematic review[J]. Child Care Health Dev, 2001, 27(2): 97-115.
- [10] Turkgeldi E, Yagmur H, Seyhan A, et al. Short and long term outcomes of children conceived with assisted reproductive technology[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2016, 207: 129-136.
- [11] Smith ADAC, Tilling K, Lawlor DA, et al. Live birth rates and perinatal outcomes when all embryos are frozen compared with conventional fresh and frozen embryo transfer: a cohort study of 337, 148 *in vitro* fertilisation cycles[J]. BMC Med, 2019, 17(1): 202.
- [12] Vidal M, Vellvé K, González-Comadran M, et al. Perinatal outcomes in children born after fresh or frozen embryo transfer: a Catalan cohort study

- based on 14, 262 newborns[J]. *Fertil Steril*, 2017, 107(4): 940-947.
- [13] 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.
- [14] Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, et al. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed *versus* fresh embryos generated through *in vitro* fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis[J]. *Fertil Steril*, 2012, 98(2): 368-377. e1-9.
- [15] Araujo Júnior E, Peixoto AB, Zamarian AC, et al. Macrosomia[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2017, 38: 83-96.
- [16] Qiao YJ, Zhang T, Liu HY, et al. Joint association of birth weight and physical activity/sedentary behavior with obesity in children ages 9-11 years from 12 countries[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2017, 25(6): 1091-1097.
- [17] Kang M, Yoo JE, Kim K, et al. Associations between birth weight, obesity, fat mass and lean mass in Korean adolescents: the Fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey[J]. *BMJ Open*, 2018, 8(2): e018039.
- [18] Boney CM, Verma A, Tucker R, et al. Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus[J]. *Pediatrics*, 2005, 115(3): e290-e296.
- [19] Ginström Erstad E, Wennerholm UB, Khatibi A, et al. Neonatal and maternal outcome after frozen embryo transfer: increased risks in programmed cycles[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2019, 221(2): 126. e1-126. e18.
- [20] Berntsen S, Pinborg A. Large for gestational age and macrosomia in singletons born after frozen/thawed embryo transfer (FET) in assisted reproductive technology (ART)[J]. *Birth Defects Res*, 2018, 110(8): 630-643.
- [21] Wei DM, Liu JY, Sun Y, et al. Frozen *versus* fresh single blastocyst transfer in ovulatory women: a multicentre, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2019, 393(10178): 1310-1318.
- [22] Spijkers S, Lens JW, Schats R, et al. Fresh and frozen-thawed embryo transfer compared to natural conception: differences in perinatal outcome[J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2017, 82(6): 538-546.
- [23] Pinborg A, Henningsen AA, 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.
- [24] Verhey BG, Buchanan A, Chambers GM, et al. Are singleton pregnancies after assisted reproduction technology (ART) associated with a higher risk of placental anomalies compared with non-ART singleton pregnancies? A systematic review and meta-analysis[J]. *BJOG*, 2019, 126(2): 209-218.
- [25] Sha TT, Yin XQ, Cheng WW, 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. e9.
- [26] Roque M, Valle M, Sampaio M, et al. Obstetric outcomes after fresh *versus* frozen-thawed embryo transfers: a systematic review and meta-analysis[J]. *JBRA Assist Reprod*, 2018, 22(3): 253-260.
- [27] Goffin SM, Derriak JGB, Groom KM, et al. Maternal pre-eclampsia and long-term offspring health: is there a shadow cast?[J]. *Pregnancy Hypertens*, 2018, 12: 11-15.
- [28] Wikland M, Hardarson T, Hillensjö T, et al. Obstetric outcomes after transfer of vitrified blastocysts[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(7): 1699-1707.
- [29] Kato O, Kawasaki N, Bodri D, et al. Neonatal outcome and birth defects in 6 623 singletons born following minimal ovarian stimulation and vitrified *versus* fresh single embryo transfer[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2012, 161(1): 46-50.
- [30] Beltran Anzola A, Pauly V, Montjean D, et al. No difference in congenital anomalies prevalence irrespective of insemination methods and freezing procedure: cohort study over fourteen years of an ART population in the south of France[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2017, 34(7): 867-876.
- [31] Yin L, Hang F, Gu LJ, et al. Analysis of birth defects among children 3 years after conception through assisted reproductive technology in China[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2013, 97(11): 744-749.
- [32] Ooki S. Birth defects after assisted reproductive technology according to the method of treatment in Japan: nationwide data between 2004 and 2012[J]. *Environ Health Prev Med*, 2015, 20(6): 460-465.
- [33] Belva F, Henriët S, van den Abbeel E, et al. Neonatal outcome of 937 children born after transfer of cryopreserved embryos obtained by ICSI and IVF and comparison with outcome data of fresh ICSI and IVF cycles[J]. *Hum Reprod*, 2008, 23(10): 2227-2238.
- [34] Morin SJ, Seli E. Assisted reproductive technology and origins of disease: the clinical realities and implications[J]. *Semin Reprod Med*, 2018, 36(3/4): 195-203.
- [35] Olivennes F, Schneider Z, Remy V, et al. Perinatal outcome and follow-up of 82 children aged 1-9 years old conceived from cryopreserved embryos[J]. *Hum Reprod*, 1996, 11(7): 1565-1568.
- [36] Nakajo Y, Fukunaga N, Fuchinoue K, et al. Physical and mental development of children after *in vitro* fertilization and embryo transfer[J]. *Reprod Med Biol*, 2004, 3(2): 63-67.
- [37] Hann M, Roberts SA, D'Souza SW, et al. The growth of assisted reproductive treatment-conceived children from birth to 5 years: a national cohort study[J]. *BMC Med*, 2018, 16(1): 224.
- [38] 周经委, 吴蓉花, 郭里, 等. 玻璃化冷冻胚胎与新鲜胚胎移植对子代小鼠生长发育的影响[J]. *医学研究生学报*, 2015, 28(6): 569-573.
- [39] Sutcliffe AG, D'Souza SW, Cadman J, et al. Outcome in children from cryopreserved embryos[J]. *Arch Dis Child*, 1995, 72(4): 290-293.
- [40] Wennerholm UB, Albertsson-Wikland K, Bergh C, et al. Postnatal growth and health in children born after cryopreservation as embryos[J]. *Lancet*, 1998, 351(9109): 1085-1090.
- [41] Pelkonen S, Gissler M, Koivurova S, et al. Physical health of singleton children born after frozen embryo transfer using slow freezing: a 3-year follow-up study[J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(10): 2411-2418.
- [42] Spangmose AL, Malchau SS, Henningsen AA, et al. Academic performance in adolescents aged 15-16 years born after frozen embryo transfer compared with fresh embryo transfer: a nationwide registry-based cohort study[J]. *BJOG*, 2019, 126(2): 261-269.
- [43] Green MP, Mouat F, Miles HL, et al. Phenotypic differences in children conceived from fresh and thawed embryos in *in vitro* fertilization compared with naturally conceived children[J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(7): 1898-1904.
- [44] Ibáñez L, Lopez-Bermejo A, Diaz M, et al. Catch-up growth in girls born small for gestational age precedes childhood progression to high adiposity[J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(1): 220-223.
- [45] Hargreave M, Jensen A, Hansen MK, et al. Association between fertility treatment and cancer risk in children[J]. *JAMA*, 2019, 322(22): 2203-2210.
- [46] Hu XL, Feng C, Lin XH, et al. High maternal serum estradiol environment in the first trimester is associated with the increased risk of small-for-gestational-age birth[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(6): 2217-2224.
- [47] Liu SY, Kuang YP, Wu Y, et al. High oestradiol concentration after ovarian stimulation is associated with lower maternal serum β -HCG concentration and neonatal birth weight[J]. *Reprod Biomed Online*, 2017, 35(2): 189-196.
- [48] Cai J, Liu L, Xu Y, et al. Supraphysiological estradiol level in ovarian stimulation cycles affects the birthweight of neonates conceived through subsequent frozen-thawed cycles: a retrospective study[J]. *BJOG*, 2019, 126(6): 711-718.
- [49] Zhang WL, Ma YF, Xiong YJ, et al. Supraphysiological serum oestradiol negatively affects birthweight in cryopreserved embryo transfers: a retrospective cohort study[J]. *Reprod Biomed Online*, 2019, 39(2): 312-320.
- [50] Jin M, Lv PP, Yu TT, et al. IGFBP1 involved in the decreased birth weight due to fetal high estrogen exposure in mice[J]. *Biol Reprod*, 2016, 95(5): 96.
- [51] Evans J, Hannan NJ, Edgell TA, et al. Fresh *versus* frozen embryo transfer: backing clinical decisions with scientific and clinical evidence[J]. *Hum Reprod Update*, 2014, 20(6): 808-821.
- [52] Jiang Z, Wang Y, Lin J, et al. Genetic and epigenetic risks of assisted reproduction[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2017, 44: 90-104.
- [53] Zhao XM, Du WH, Hao HS, et al. Effect of vitrification on promoter methylation and the expression of pluripotency and differentiation genes in mouse blastocysts[J]. *Mol Reprod Dev*, 2012, 79(7): 445-450.
- [54] Shaw L, Sneddon SF, Brison DR, et al. Comparison of gene expression in fresh and frozen-thawed human preimplantation embryos[J]. *Reproduction*, 2012, 144(5): 569-582.
- [55] DeAngelis AM, Martini AE, Owen CM. Assisted reproductive technology and epigenetics[J]. *Semin Reproductive Med*, 2018, 36(3/4): 221-232.
- [56] Derakhshan-Horeh M, Abolhassani F, Jafarpour F, et al. Vitrification at Day3 stage appears not to affect the methylation status of H19/IGF2 differentially methylated region of *in vitro* produced human blastocysts[J]. *Cryobiology*, 2016, 73(2): 168-174.
- [57] Wang ZY, Xu L, He FF. Embryo vitrification affects the methylation of the H19/Igf2 differentially methylated domain and the expression of H19 and Igf2[J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(8): 2729-2733.
- [58] Maldonado MB, Penteado JC, Faccio BM, et al. Changes in tri-methylation profile of lysines 4 and 27 of histone H3 in bovine blastocysts after cryopreservation[J]. *Cryobiology*, 2015, 71(3): 481-485.
- [59] Gu F, Li SZ, Zheng LY, et al. Perinatal outcomes of singletons following vitrification *versus* slow-freezing of embryos: a multicenter cohort study using propensity score analysis[J]. *Hum Reprod*, 2019, 34(9): 1788-1798.
- [60] Jing S, Li XF, Zhang SP, et al. Increased pregnancy complications following frozen-thawed embryo transfer during an artificial cycle[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2019, 36(5): 925-933.

[收稿日期] 2020-04-09

[本文编辑] 邢宇洋

