

УДК 618.177-089:618.3-06:618.39-021

Е.П. Рябенко*, Д.А. Микитенко

Акушерские и перинатальные исходы беременностей, полученных после лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий после переноса криоконсервированного эмбриона

UDC 618.177-089:618.3-06:618.39-021

O.P. Ryabenko*, D.O. Mykytenko

Obstetric and Perinatal Outcomes of Pregnancies After Infertility Treatment Using Assisted Reproductive Technologies With Cryopreserved Embryo Transfer

Реферат: В работе представлен сравнительный анализ данных акушерских и перинатальных исходов беременностей, полученных после лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) при переносе одного селективного криоконсервированного эмбриона, и исходов спонтанных и индуцированных одноплодных беременностей. Проведен анализ клинико-anamnestических данных пациенток. Оценку течения беременности, родов и состояния новорожденного проводили на основании данных индивидуальной карты беременной и выписки из родильного дома. Акушерские и перинатальные исходы оценивали по следующим критериям: частота нормальных физиологических и преждевременных родов, метод родоразрешения и масса детей при рождении. Установлено, что в группе пациенток с переносом криоконсервированного эмбриона родоразрешения путем операции кесарева сечения проводятся чаще. Показатель массы тела новорожденных статистически значимо выше, чем в группах со спонтанной и индуцированной беременностью: $(3653,3 \pm 550,5)$, $(3420,2 \pm 547,1)$ и $(3087,1 \pm 704,7)$ г соответственно.

Ключевые слова: криоконсервирование, витрификация, акушерские и перинатальные исходы, вспомогательные репродуктивные технологии.

Реферат: У роботі представлено порівняльний аналіз даних акушерських та перинатальних результатів вагітностей, отриманих після лікування безпліддя методами допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) після перенесення одного селективного криоконсервованого ембріона, та результатів спонтанних та індукованих одноплідних вагітностей. Проведено аналіз клініко-анамнестичних даних пацієнток. Оцінку перебігу вагітності, пологів і стану новонародженого здійснювали на підставі даних індивідуальної карти вагітної та виписки із пологового будинку. Акушерські та перинатальні результати оцінювали за такими критеріями: частота нормальних фізіологічних та передчасних пологів, метод розродження та маса дітей одразу після народження. Встановлено, що в групі пацієнток із перенесенням криоконсервованого ембріона розродження шляхом операції кесаревого розтину проводяться частіше, показник маси тіла новонароджених статистично значущо вище, ніж у групах зі спонтанною та індукованою вагітністю: $(3653,3 \pm 550,5)$, $(3420,2 \pm 547,1)$ та $(3087,1 \pm 704,7)$ г відповідно.

Ключові слова: криоконсервування, вітрифікація, акушерські та перинатальні результати, допоміжні репродуктивні технології.

Abstract: The paper presents an analysis of the data on obstetric and perinatal outcomes of pregnancies after infertility treatment by the methods of assisted reproductive technologies (ART) using the transfer of one selected cryopreserved embryo, particularly the outcomes of spontaneous and induced singleton pregnancies. The clinical and anamnestic data of patients were analyzed. The course of pregnancy, childbirth and the state of the newborn were assessed using the data of individual medical record of the pregnant woman and discharge report from the maternity hospital. The criteria for assessing obstetric and perinatal outcomes included: the frequency of normal physiological and preterm delivery, the method of delivery and the weight of children at birth. Factors influencing the course of pregnancy and the condition of children born after natural conception and the use of ART have been determined. It was found that in a group of patients with transfer of a cryopreserved embryo of delivery by cesarean section are performed more often. The body mass index of newborns was statistically and significantly higher than in the groups with spontaneous and induced pregnancies: $(3,653.3 \pm 550.5)$, $(3,420.2 \pm 547.1)$ and $(3,087.1 \pm 704.7)$ g, respectively.

Key words: cryopreservation, vitrification, obstetric outcome, perinatal outcome, assisted reproductive technologies.

Криоконсервирование доимплантационных эмбрионов человека является частью биотехнологического процесса вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Данный метод позволяет увеличить кумулятивную частоту наступления беременности, снизить риск развития синдрома

Cryopreservation of preimplantation human embryos is a part of the biotechnological process of assisted reproductive technologies (ART). This method allowed to increase the cumulative incidence of pregnancy, reduce the risk of ovarian hyperstimulation syndrome; opened new opportunities for

Клініка репродуктивної медицини «Надія», м. Київ, Україна

Clinic of Reproductive Medicine Nadiya, Kyiv, Ukraine

*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. Максима Кривоноса, 19 А, м. Київ, Україна 03037;
тел.: (+38 04) 537-75-97
електронна пошта: o.ryabenko@ivf.com.ua

*To whom correspondence should be addressed:

19A, Maksym Kryvonis str., Kyiv, Ukraine 03037;
tel.: +380 44 537 7597
e-mail: o.ryabenko@ivf.com.ua

Надійшла 30.11.2017

Прийнята до друку 11.09.2018

Received November, 30, 2017

Accepted September, 11, 2018

© 2018 O.P. Ryabenko et al. Published by the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

гиперстимуляции яичников, открывает новые возможности для доимплантационной генетической диагностики эмбрионов и тем самым повышает эффективность и безопасность ВРТ [5, 6]. Стратегия переноса одного эмбриона во избежание многоплодной беременности, которая является осложнением ВРТ, предопределяет необходимость сохранения оставшихся эмбрионов [10]. В случае отсутствия беременности после лечения или необходимости отсроченного переноса эмбрионов в следующем благоприятном овуляторном цикле проводят перенос замороженно-отогретых эмбрионов. Количество лечебных протоколов с переносом криоконсервированных эмбрионов в Украине увеличилось с 2275 до 5868, т. е. в 2,57 раза [2]. Показано, что частота наступления беременности после переноса в полость матки криоконсервированных эмбрионов в естественном цикле выше, чем в стимулированном [14]. Этому способствует усовершенствование методик криоконсервирования, реабилитации клеток после замораживания-отогрева и оптимизации условий культивирования криоконсервированных эмбрионов *in vitro* [3, 7]. Учитывая возраст, соматический анамнез женщин, стаж бесплодного брака, а также влияние субоптимальных условий культивирования и агрессивных факторов криоконсервирования на доимплантационные эмбрионы, изучение особенностей течения беременностей и исходов родов приобретают важное научное и клиническое значение.

В мировой научной литературе представлены данные акушерских и перинатальных исходов спонтанных беременностей и после ВРТ, однако подобного анализа в Украине проведено не было [8, 12, 15].

В связи с вышеизложенным целью работы было сравнение акушерских и перинатальных исходов спонтанных индуцированных беременностей и беременности, полученной после переноса одного криоконсервированного эмбриона пациенткам, проходивших курс лечения бесплодия ВРТ.

Материалы и методы

В работе проведен ретроспективный анализ акушерских и перинатальных данных медицинских карт при информированном согласии пациенток, проходивших курс лечения бесплодия методами ВРТ в 2015–2016 гг. в клинике репродуктивной медицины «Надия» (г. Киев, Украина). Все манипуляции с гаметам и эмбрионами проводили согласно положений «Конвенции Совета Европы о защите прав и достоинства человека в связи с применением достижений биологии и медицины» (Овьедо, 1997), доклада Главного комитета

pre-implantation genetic diagnosis of embryos and thereby increased the efficiency and safety of ART [13,14]. The strategy of transferring a single embryo to avoid multiple pregnancy, which is a complication of ART, predetermines the need to preserve the remaining embryos [4]. In case of the absence of pregnancy after course of treatment or the need for a delayed embryo transfer in the next favorable ovulatory cycle, the frozen-thawed embryos is transferred. The number of therapeutic protocols with the transfer of cryopreserved embryos enhanced from 2,275 up to 5,868, *i. e.*, 2.57 times in Ukraine [17]. It has been shown that the frequency of pregnancy onset after transfer to the uterine cavity of cryopreserved embryos in the natural cycle is higher than in the stimulated embryo [10]. This is facilitated by the improvement of cryopreservation techniques, rehabilitation of cells after freezing-warming and optimization of the conditions for cultivation of cryopreserved embryos *in vitro* [5, 16]. Taking into account the age, somatic anamnesis of women, the duration of infertile marriage, as well as the influence of suboptimal conditions of cultivation and aggressive factors of cryopreservation on preimplantation embryos, the study of the features of the course of pregnancies and childbirth outcomes gains an important scientific and clinical significance.

The world scientific literature presents the data on obstetric and perinatal outcomes of spontaneous pregnancies and after ART, however, no such an analysis was conducted in Ukraine [1, 8, 11].

In connection with the foregoing, the goal of the study was to compare the obstetric and perinatal outcomes of spontaneous or induced pregnancies, and those obtained after the transfer of one cryopreserved embryo of patients undergoing infertility treatment with ART methods.

Materials and methods

The obstetric and perinatal data of medical records were retrospectively analyzed with the informed consent of patients, underwent an infertility treatment by ART methods in 2015–2016 years at the Clinic of Reproductive Medicine «Nadiya» (Kiev, Ukraine). All the manipulations with gametes and embryos were carried according to the Convention on Human Rights and Biomedicine of the Council of Europe and the report of the Steering Committee On Bioethics (Oviedo, 1997) on ‘The Protection of the human embryo *in vitro*’ (Strasbourg, 2003) with an informed patient consent as well as the decision of the Bioethics Committee of the ‘Nadiya’ clinic. The first group consisted of 35 patients who had one native (*i. e.* non-cryopreserved) embryo



по биоэтике «Защита эмбрионов человека *in vitro*» (Страсбург, 2003), а также решению Комитета по биоэтике клиники «Надия». Первую группу составили 35 пациенток, у которых в цикле лечения бесплодия переносили один нативный эмбрион в стимулированном цикле, вторую группу – 62 пациентки с переносом одного криоконсервированного эмбриона в подготовленном цикле. Для выявления факторов риска и определения особенностей течения беременности у пациенток после ВРТ была сформирована группа 3 ($n = 58$), у которых одноплодная беременность наступила спонтанно. При проведении анализа клинико-анамнестических данных учитывали средний возраст матери на момент рождения ребенка, стаж бесплодного брака, индекс массы тела (ИМТ) и экстрагенитальную патологию. Пациентки исключались из исследования по следующим критериям: возраст более 42 лет, ИМТ более 29 или менее 19 кг/м², участие в программе донации ооцитов.

Все этапы ВРТ проводили в соответствии со стандартными протоколами, одобренными ВОЗ и МОЗ Украины [9]. Результаты представленной работы являются ретроспективным анализом данных медицинских документов.

Эмбрионы криоконсервировали на стадии бластоцисты, для этого их на 10 мин помещали в криозащитную смесь 7,5%-го раствора этиленгликоля (ЭГ) и 7,5%-го раствора диметилсульфоксида (ДМСО), а затем на минуту переносили в криозащитную смесь 15% ЭГ и 15% ДМСО. Эмбрионы по одному помещали на поверхность полипропиленового открытого носителя «Cryotec» («Cryotech», Япония), который быстро погружали в жидкий азот [11]. Биоматериал хранили в низкотемпературном банке от одного месяца до 5 лет. Эмбрионы размораживали быстро, помещая носители в 1 М раствор сахарозы, предварительно нагретый до 37°C. Через минуту эмбрион переносили в среду, содержащую 0,5 М раствор сахарозы, через 3 мин – в культуральную среду («LifeGlobal», США), содержащуюся в предварительно подготовленных планшетах («Nunc», Дания). До переноса в полость матки эмбрион культивировали не менее 3 ч.

Пациентки с подтвержденной клинической беременностью проходили наблюдение в женской консультации клиники «Надия». Течение беременности, родов и состояние новорожденного оценивали по данным индивидуальной карты пациентки и выписки из родильного дома.

Акушерские и перинатальные исходы оценивали по следующим критериям: частота нормальных физиологических родов (после 37 недель беременности) и преждевременные родораз-

in the stimulated cycle in infertility treatment, the second group made 62 patients with a transfer of one cryopreserved embryo in the assisted cycle. To identify the risk factors and determine the features of the pregnancy course in the patients after ART, group 3 ($n = 58$) was composed, in which the singleton pregnancy occurred spontaneously. The analysis of clinical and anamnestic data included the average age of the mother at the time of childbirth, infertility duration, the body mass index (BMI) and extragenital pathology. Patients were excluded from the study according to the following criteria: age over 42 years, BMI more than 29 or less than 19 kg/m², participation in the oocyte donation program.

All stages of ART were performed in accordance with standard protocols approved by the WHO and the Ministry of Health of Ukraine [3]. The results of the presented work were obtained on the base of retrospective chart review.

Embryos were cryopreserved at the blastocyst stage, for this purpose they were placed into cryoprotective mixture of 7.5% ethylene glycol (EG) and 7.5% dimethylsulfoxide (DMSO) solutions for 10 minutes and then transferred to a cryoprotective mixture of 15% EG and 15% DMSO. The embryos were placed one by one on the surface of polypropylene open carrier Cryotec (Cryotec, Japan), which was rapidly immersed into liquid nitrogen [7]. The samples were stored at a low-temperature bank from one month to five years. The embryos were thawed rapidly, placing the carriers in to a 1 M sucrose solution pre-warmed up to 37°C. After a minute, the embryo was transferred to a medium containing 0.5 M sucrose solution, after 3 minutes it was moved to the culture medium (LifeGlobal, USA) in culture plates (Nunc, Denmark). Before the transfer to uterine cavity, the embryo was cultured for at least 3 h.

Patients with confirmed clinical pregnancy were observed in the women prenatal department of the Clinic Nadiya. The course of pregnancy, childbirth and the condition of the newborn was assessed according to the data of the individual medical record of the pregnant woman and discharge report from the maternity hospital.

Obstetric and perinatal outcomes were assessed according to the following criteria: the frequency of normal physiological delivery (after 37 weeks of gestation) and premature delivery (up to 37 weeks gestation); method of delivery; body weight of children at birth, perinatal losses, birth traumatism. The clinical condition of children at birth was analyzed using the Apgar scores on the first and fifth minutes of life. An evaluation of the newborn functional



решения (до 37 недель беременности); метод родоразрешения; масса тела детей при рождении; перинатальные потери; родовой травматизм. Клиническое состояние детей при рождении анализировали, используя оценку функциональных параметров по шкале Апгар на первой и пятой минутах жизни. Учитывали оценку функционального состояния новорожденного; основные параметры физического развития; степень зрелости; соматический и неврологический статус; наличие пороков развития.

При спонтанном зачатии сроком гестации (гестационный возраст плода) считали количество полных недель с момента первого дня последней менструации и до родов, а при зачатии, наступившем после ВРТ, – количество полных недель между днем переноса эмбрионов и исходом беременности плюс 3 недели.

Полученные результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения «StatSoft Statistica» («StatSoft», США). Для анализа описательных статистических данных определяли групповые показатели: арифметическое среднее (M); стандартная ошибка среднего (SE); стандартное отклонение (SD); характер распределения показателей в группе. Для оценки значимости различий данных между клиническими группами использовали параметрический F- и t-тест. Критерием статистической значимости считали $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Все женщины прошли общеклиническое и гинекологическое обследование. Пациентки исследуемых групп не различались по возрасту и ИМТ. У пациенток групп 1 и 2 срок бесплодия был больше, чем у женщин группы 3.

Анализ клинико-anamnestических данных пациенток показал, что в группе 1 средний возраст матери на момент рождения ребенка составил ($36,3 \pm 4,7$), в группе 2 – ($38,6 \pm 5,0$), в группе 3 – ($33,2 \pm 4,2$) лет (табл. 1). Длительность бесплодия в группе 1 составила ($6,6 \pm 2,7$), в группе 2 – ($5,9 \pm 4,8$) года, в группе 3 – беременность наступила в течение первых двух лет регулярной половой жизни.

Индекс массы тела пациенток в исследуемых группах был сопоставим и составил ($20,7 \pm 1,6$), ($22,6 \pm 2,8$) и ($20,9 \pm 2,9$) кг/м² соответственно.

Таким образом, пациентки экспериментальных и контрольной групп не различались по возрасту, ИМТ, но у женщин групп 1 и 2 отмечен длительный срок бесплодного брака в отличие от группы пациенток, у которых беременность наступила спонтанно.

state was taken into account; as well as basic parameters of physical development; degree of maturity; somatic and neurological status; presence of malformations.

The gestational age (gestational age of the fetus) was the number of full weeks that passed from the first day following the last menstruation and the birth, in case of spontaneous conception, or full weeks between the day of embryo transfer and the outcome of pregnancy plus 3 weeks in case of conception after ART.

The results were processed using software StatSoft Statistica (StatSoft, USA). Data group analysis was used to analyze descriptive statistics: the arithmetic mean (M), the standard error of the mean (SE), the standard deviation (SD), the distribution pattern. The parametric F- and t-test was used to assess the significance of the differences in the data between the clinical groups, and $p < 0.05$ was considered as a criterion of statistical significance.

Results and discussion

All women underwent general clinical and gynecological examinations. Patients of the studied groups did not differ in age and BMI. In patients of groups 1 and 2, the duration of infertility was longer than in women of group 3.

Analysis of clinical and anamnestic data of patients showed that in group 1 the average age of the mother at the time of child's birth was (36.3 ± 4.7) years, (38.6 ± 5.0) for group 2, (33.2 ± 4.2) for group 3 (Table 1). The duration of infertility in group 1 was (6.6 ± 2.7) years, in group 2 it made

Таблица 1. Клинико-anamnestические показатели пациенток исследуемых групп

Table 1. Clinical and anamnestic indices of patients of studied groups

Показатели Indices	Группы Groups		
	1	2	3
Возраст Age	$36,3 \pm 4,7^*$	$38,6 \pm 5,0^*$	$33,2 \pm 4,2$
Стаж бесплодия Infertility experience	$6,6 \pm 2,7^*$	$5,9 \pm 4,8^*$	0
ИМТ BMI	$20,7 \pm 1,6$	$22,6 \pm 2,8$	$20,9 \pm 2,9$
Женский фактор бесплодия Female infertility factor	$44,4 \pm 3,7^*$	$46,2 \pm 4,8^*$	0

Примечание: * – результаты статистически значимы по сравнению с показателями группы 3, $p < 0,05$.

Note: * – results are statistically significant if compared with group 3 indices, $p < 0.05$.



Частота выживания эмбрионов после криоконсервирования составила 96%, а частота наступления беременности у пациенток группы 2 – 49,3%.

Беременность пациенток группы 1 протекала на фоне заболеваний сердечно-сосудистой системы в 48% случаев, в группе 2 – 51,4% и в группе 3 – 46,55%. Большая частота заболеваний мочеполовой системы была отмечена в группе естественного зачатия (29, 17 и 51,7% беременных в группах 1–3 соответственно). Возможно это связано с тем, что пациентки перед циклом программируемого зачатия проходят обязательное клинико-лабораторное обследование. При выявлении признаков воспаления, инфекций мочеполового тракта женщины проходят лечение с обязательным лабораторным контролем, которое отсутствует в группе естественного зачатия.

Следует отметить, что во всех исследуемых группах выявлены различные соматические заболевания. Так, венозные осложнения были зарегистрированы у женщин группы 1 в 6,5% случаев, группы 2 – 11,4% и группы 3 – 8,6%. Заболевания щитовидной железы отмечались у беременных группы 1 в 19,3% случаев, группы 2 – 11,4% и группы 3 – 8,6%. Анемия была установлена в группах 1 и 2 в 25,7% случаев и группы 3 – 25,86%. Гестоз был выявлен у пациенток групп 1 и 2 в 4,8 и 5,7% случаев соответственно. В связи с истмико-цервикальной недостаточностью циркулярный шов был наложен у 3,2% пациенток в группе 1 и 5,7% в группе 2. Вследствие укорочения шейки матки пессарий был наложен у 9,7% женщин группы 1; 5,7% – группы 2 и 8,6% – группы 3. Процент преждевременных родов в группах 1–3 составил 6,45, 14,2 и 8,6 соответственно.

Частота родоразрешения путем операции кесарева сечения в группах 1–3 была 61,3, 34,2

(5.9 ± 4.8), in group 3 the pregnancy occurred during the first two years of regular sexual activity.

The body mass index of the patients in the studied groups was comparable (20.7 ± 1.6), (22.6 ± 2.8) and (20.9 ± 2.9) kg/m², respectively.

Thus, the patients under study and the control groups did not differ in age, BMI, but women of groups 1 and 2 had a long infertile marriage, in contrast to a group of patients whose pregnancy occurred spontaneously.

The survival rate of embryos after cryopreservation was 96%, and the frequency of pregnancy onset in patients of group 2 was 49.3%.

Pregnancy in Group 1 patients occurred against the background of diseases of the cardiovascular system in 48% of cases, in group 2 – 51.4% and in group 3 – 46.55%. A high incidence of diseases of the genitourinary system was noted in the natural conception group (29, 17 and 51.7% of pregnancies in groups 1–3, respectively). This is likely due to the fact that the patients before the cycle of programmed conception undergo mandatory clinical and laboratory examination. If there were the signs of inflammation, infections of urinary tract, women undergoing ART had treatment with mandatory laboratory control, which was absent in the natural conception group.

It should be noted that in all studied groups various physical illnesses were noted. In particular, venous complications were recorded in women of group 1 in 6.5% of cases, group 2 – 11.4% and group 3 – 8.6%. Thyroid gland diseases were found in group 1 pregnant women in 19.3% of cases, groups 2 – 11.4% and groups 3 – 8.6%. Anemia was revealed in groups 1 and 2 in 25.7% of cases and in group 3 in 25.86%. Gestosis was observed in patients of groups 1 and 2 in 4.8 and 5.7% of cases,

Таблица 2. Перинатальные исходы в исследуемых группах
Таблица 2. Perinatal outcomes in studied groups

Перинатальные исходы Perinatal outcomes	Группы Groups		
	1	2	3
Кесарево сечение, % Cesarean section, %	61,3*	34,2*	32,7
Срок гестации, недели Gestation term, weeks	37,6 ± 1,2	38,8 ± 1,8	39,3 ± 2,2
Средняя масса новорожденного, г Average weight of newborn, g	3420,2 ± 547,1	3653,3 ± 550,5*	3087,1 ± 704,7
Средний рост новорожденного, см Average height of newborn, cm	52,1 ± 3,0	53,6 ± 3,3	50,6 ± 5,0
Оценка новорожденного по шкале Апгар на 1-й / 5-й минуте Apgar score of newborn on minute 1/ minute 5	(7,3 ± 1,1)/(8,5 ± 1,5)	(7,5 ± 1,0)/(8,5 ± 1,0)	(7,1 ± 1,2)/(8,2 ± 1,2)

Примечание: * – результаты статистически значимы по сравнению с показателями группы 3, $p < 0,05$.

Note: * – results are statistically significant if compared with group 3 indices, $p < 0.05$.

и 32,7% соответственно. При этом у пациенток групп 1–3 средний срок гестации составил ($37,6 \pm 1,2$), ($38,8 \pm 2,2$) и ($39,3 \pm 2,1$) недель соответственно. Масса детей при рождении в указанных группах была ($3653,3 \pm 550,5$), ($3087 \pm 704,7$) и ($3420,2 \pm 547,1$) г, рост – ($53,6 \pm 3,3$), ($50,6 \pm 5,0$) и ($52,1 \pm 3,0$) г соответственно (табл. 2). Перинатальных потерь, родовых травм, пороков развития, генетических дефектов у детей женщин всех исследуемых групп выявлено не было.

Высокая частота оперативного родоразрешения путем кесарева сечения была отмечена в группах 1 и 2. Показаниями к проведению оперативного родоразрешения женщин этих групп были дистресс плода; аномалии родовой деятельности по данным партограммы, не поддающиеся медикаментозной коррекции; осложненные роды (клинически узкий таз, разгибательные вставления головки). При сравнении групп с применением ВРТ установлено, что у женщин с переносом криоконсервированного эмбриона частота оперативного родоразрешения была выше, чем после переноса эмбриона в стимулированном цикле.

Необходимо отметить, что различия в оценке новорожденных по шкале Апгар были статистически незначимыми ($p > 0,05$).

В литературе описаны акушерские и перинатальные исходы в циклах ВРТ после переноса криоконсервированных эмбрионов с применением медленных режимов охлаждения и невысоких концентраций криопротекторов, преимущественно 1,2-пропандиола [16]. В нашем исследовании все беременности в криоциклах были получены после криоконсервирования эмбрионов методом витрификации, предусматривающим применение высоких концентраций криопротекторов. Общеизвестным является факт цитотоксического, мутагенного и тератогенного эффекта высоких концентраций ДМСО, поэтому нам важно было оценить состояние здоровья детей, рожденных после переноса криоконсервированного эмбриона [10].

По массе новорожденного оценивают состояние его здоровья и воздействие различных факторов на акушерские и неонатальные исходы [13]. По данным нашего исследования средний гестационный возраст после переноса размороженных эмбрионов был меньше, чем при естественном и индуцированном зачатии с применением нативных эмбрионов. Перинатальные исходы описаны во многих исследованиях, авторами делается вывод о том, что криоконсервирование эмбрионов не влияет на срок родов [8, 10, 12, 14, 15]. Более того, после переноса нативных blastocyst риск преждевременных родов снижается на 14% [16].

respectively. In connection with ischemic-cervical insufficiency, a circular suture was applied in 3.2% of patients in group 1 and 5.7% in group 2. Because of shortening of the cervix, a pessary was applied to 9.7% of women in group 1; 5.7% of group 2 and 8.6% of group 3. The percentage of preterm delivery in groups 1 to 3 was 6.45, 14.2 and 8.6, respectively.

The rate of delivery by cesarean section in groups 1 to 3 was 61.3, 34.2 and 32.7%, respectively. In patients of groups 1–3, the mean gestation period corresponded (37.6 ± 1.2), (38.8 ± 2.2) and (39.3 ± 2.1) weeks, respectively. The weight of children at birth in these groups was ($3,653.3 \pm 550.5$), ($3,087 \pm 704.7$) and ($3,420.2 \pm 547.1$) g, height made (53.6 ± 3.3), (50.6 ± 5.0) and (52.1 ± 3.0) g, respectively (Table 2). Perinatal losses, birth injuries, malformations, genetic defects in children of women of all the studied groups were not revealed.

A high frequency of surgical delivery by cesarean section in groups 1 and 2 was noted. Indications for the surgery to women of these groups were fetal distress; abnormalities of labor activity according to partogram data, not amenable to drug correction; complicated delivery (clinically narrow pelvis, extensor insertions of the head). When comparing the groups with the use of ART, it was found that in the group with the cryopreserved embryo transfer, the frequency of surgical delivery was higher than after the embryo transfer in the stimulated cycle.

It should be noted that the differences in the evaluation of newborns according to the Apgar score were statistically insignificant ($p > 0.05$).

There are publications describing obstetric and perinatal outcomes in the ART cycles after the transfer of cryopreserved embryos with the use of slow cooling regimens and low concentrations of cryoprotectants, mainly 1,2-propanediol [12]. In our study, all pregnancies in cryocycles were obtained after cryopreservation of the embryos by vitrification, which involves the application of high concentrations of cryoprotectants. The fact of cytotoxic, mutagenic and teratogenic effect of high concentrations of DMSO is well known, therefore it was important for us to assess the state of health of children born after cryopreserved embryo transfer [4].

The weight of a new born used to assess his/her health and the impact of various factors on obstetric and neonatal outcomes [9]. According to our study, the average gestational age after the transfer of post-thaw embryos was less than in natural and inducible conception with the use of native embryos. Perinatal outcomes are described in many studies, wherein



Вопрос зависимости массы тела ребенка при рождении от применяемых технологий (культивирование *in vitro*, криоконсервирование) обсуждается во многих исследованиях [1, 8, 15, 16]. Так, после переноса криоконсервированных эмбрионов отмечается снижение количества преждевременных родов [16]. F. Belva и соавт. [8] не установили существенных различий в показателях массы тела при рождении детей, полученных после крио- и стимулированных циклов. Более высокий показатель массы тела детей, рожденных после переноса криоконсервированных эмбрионов, отмечен в работе S. Pelkonen и соавт. [15], что согласуется с нашими данными. В работе K. Takahashi и соавт. [17] акцентируется внимание на увеличении частоты преждевременных родов на 18,5% и низкой массе тела детей при рождении в группе с переносом криоконсервированного эмбриона. В нашем исследовании не было выявлено ни одного случая порока развития плода. Возможно, это связано с тем, что в группу исследования вошли пациентки с переносом одного выбранного селективного эмбриона. В литературе встречаются сообщения о таких перинатальных последствиях, как повышенная частота заболеваний и смертности, наряду с недоношенностью, незрелостью и недостаточной массой тела. На наш взгляд и по мнению других исследователей, это является следствием переноса нескольких эмбрионов [4]. Метод витрификации не повышает частоту врожденных пороков развития детей (1,18 – 1,42)% и не превышает показатели контрольной группы [13].

Таким образом, в нашей работе показано, что факторы криоконсервирования не увеличивают перинатальные риски и не оказывают негативного влияния на физическое здоровье детей. Однако считаем необходимым проведение крупного многоцентрового популяционного исследования перинатальных исходов и развития детей, рожденных после применения ВРТ в Украине. Полученные результаты позволят не только дополнить общемировые статистические данные относительно влияния факторов криоконсервирования на исходы родоразрешения и развития детей, но и определять возможность его использования в Украине, поскольку следует учитывать не только многофакторное влияние криоконсервирования, но и национальные и экологические особенности региона.

Выводы

В группе с переносом криоконсервированного эмбриона родоразрешение путем операции кесарево сечения проводятся чаще, показатель мас-

cryopreservation of embryos is concluded as not affecting the term of labor [1, 4, 8, 10, 11]. Moreover, after the transfer of native blastocysts, the risk of preterm labor is reduced by 14% [12].

The question of the dependence of the body weight of the child at birth on the technologies used (*in vitro* culturing, cryopreservation) is discussed in many studies [2, 1, 11, 12]. For example, after the transfer of cryopreserved embryos, there was a decrease in the number of preterm births [12]. F. Belva *et al.* [1] did not establish significant differences in the body weight at birth of children obtained after cryo- and stimulated cycles. A higher body mass index of children born after the transfer of cryopreserved embryos was noted by S. Pelkonen *et al.* [11], which agrees with our data. The report of K. Takahashi *et al.* [15] underlined increased the incidence of preterm birth by 18.5% and low birth weight in children after using cryopreservation of embryos. In our study, there was no case of malformation of the fetus. This is perhaps due to the fact that the study group included patients with the transfer of one selected embryo. There are the reports of such perinatal consequences as an increased incidence of diseases and mortality, along with prematurity, immaturity and underweight. In our opinion, and in the opinion of other researchers, this is a consequence of the transfer of several embryos [6]. The method of vitrification does not increase the frequency of congenital malformations of children (1.18–1.42)% and does not exceed the parameters of the control group [9].

Thus, the study shows that cryopreservation factors do not increase perinatal risks and do not adversely affect the physical health of children. However, we believe that it is necessary to conduct a large multicenter population study on perinatal outcomes and development of children born after the application of ART technology in Ukraine. The data obtained will allow not only supplement the global statistics on the impact of cryopreservation factors on outcomes of childbirth and child development, but will also to determine the possibility of its application in Ukraine, since not only multifactor effect of cryopreservation should be taken into account, but also national and ecological features of the region.

Conclusions

In the group with the transfer of the cryopreserved embryo, delivery by cesarean section is performed more often, the birth weight of the newborn is significantly higher than in the groups with spontaneous and induced pregnancies. Cryopreservation factors do not increase perinatal



сы тела новорожденных статистически значимо выше, чем в группах со спонтанной и индуцированной беременностями. Факторы криоконсервирования не увеличивают перинатальные риски и не оказывают негативного влияния на физическое здоровье детей.

Литература

1. Бойчук ОГ, Макачук ОМ. Проблема безплідності в Україні: роль допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) та переліг вагітності у жінок з тривало лікованим непліддям. Архів клінічної медицини. 2010; 1: 4–8.
2. Заболотько ВМ. Інформаційно-статистичний довідник про допоміжні репродуктивні технології в Україні. Київ: 2017: 28 с.
3. Грищенко ВИ, Геродес АГ, Петрушко МП., Пиняев ВИ. Использование фолликулярной жидкости человека на этапе культивирования гамет и эмбрионов в программе ЭКО. Проблемы репродукции. 1999; 5(6):34–7.
4. Грищенко ВИ, Петрушко МП, Пиняев ВИ. Результативность программы ЭКО в зависимости от количества и качества перенесенных эмбрионов. Проблемы репродукции. 2000; 6(1):44–7.
5. Петрушко МП. Сучасний стан проблеми криоконсервування репродуктивних клітин та ембріонів людини. Вісник НАН України. 2017; (7): 44–52.
6. Петрушко МП. Использование криоконсервированных эмбрионов человека во вспомогательных репродуктивных технологиях. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2000; 10(1):171–5.
7. Юрчук ТА, Петрушко МП., Пиняев ВИ. Эффективность криоконсервирования экспандированных бластоцист человека методом витрификации с использованием коллапсирования. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016; 26(2):167.
8. 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. Hum Reprod. 2008;23(10): 2227–38.
9. De los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, et al. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). ESHRE Guideline Group on Good Practice in IVF Labs. Hum Reprod. 2016; 31(4):685–686.
10. El-Toukhy T, Kamal A, Wharf E, et al. Reduction of the multiple pregnancy rate in a preimplantation genetic diagnosis programme after introduction of single blastocyst transfer and cryopreservation of blastocysts biopsied on day 3. Hum Reprod. 2009; 24(10):2642–8.
11. Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop Method. Theriogenology. 2007; 67(1):73–80.
12. Li Z, Wang YA, Ledger W, Edgar DH, et al. Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population-based cohort study. Hum Reprod. 2014; 29(12):2794–801.
13. Maas K, Galkina E, Thornton K. No change in live birthweight of IVF singleton deliveries over an 18-year period despite significant clinical and laboratory changes. Hum Reprod. 2016; 31(9):1987–96.
14. Morozov V, Ruman J, Kenigsberg D, et al. Natural cycle cryothaw transfer may improve pregnancy outcome. J Assist Reprod Genet. 2007; 24(3):119–23.
15. Pelkonen S, Koivunen R, Gissler M, et al. Perinatal outcome of children born after frozen and fresh embryo transfer: the Finnish cohort study 1995–2006. Hum Reprod. 2010; 25(4): 914–23.

risks and do not adversely affect the physical health of children.

References

1. 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. Hum Reprod. 2008;23(10): 2227–38.
2. Boychuk OG, Makarchuk OM. [The problem of infertility in Ukraine: the role of auxiliary reproductive technologies (ART) and the course of pregnancy in women with long-term infertility]. Arkhiv Klinichnoi Medytsyny. 2010; 1: 4–8. Ukrainian.
3. De los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, et al. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). ESHRE Guideline Group on Good Practice in IVF Labs. Hum Reprod. 2016; 31(4):685–6.
4. El-Toukhy T, Kamal A, Wharf E, et al. Reduction of the multiple pregnancy rate in a preimplantation genetic diagnosis programme after introduction of single blastocyst transfer and cryopreservation of blastocysts biopsied on day 3. Hum Reprod. 2009; 24(10):2642–8.
5. Grischenko VI, Gerodes AG, Petrushko MP, Pinyaev VI. [Use of human follicular fluid at the stage of cultivation of gametes and embryos in the IVF program]. Problemy Reproduktsii. 1999; 5(7):34–37. Russian.
6. Grishchenko VI, Petrushko MP, Pinyaev VI. [Effectiveness of the IVF program, depending on the number and quality of the embryos transferred]. Problemy Reproduktsii. 2000; 6(1): 44–7. Russian.
7. Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop Method. Theriogenology. 2007; 67(1):73–80.
8. Li Z, Wang YA, Ledger W, Edgar DH, et al. Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population-based cohort study. Hum Reprod. 2014; 29(12):2794–801.
9. Maas K, Galkina E, Thornton K. No change in live birthweight of IVF singleton deliveries over an 18-year period despite significant clinical and laboratory changes. Hum Reprod. 2016;31(9):1987–96.
10. Morozov V, Ruman J, Kenigsberg D, et al. Natural cycle cryothaw transfer may improve pregnancy outcome. J Assist Reprod Genet. 2007; 24(3):119–23.
11. Pelkonen S, Koivunen R, Gissler M, et al. Perinatal outcome of children born after frozen and fresh embryo transfer: the Finnish cohort study 1995–2006. Hum Reprod. 2010; 25(4): 914–23.
12. 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. Hum Reprod. 2015; 30(10): 2411–8.
13. Petrushko MP. [Current state of the problem of cryopreservation of reproductive cells and human embryos]. Visnyk Nac Acad Nauk Ukr. 2017; (7): 44–52. Ukrainian.
14. Petrushko MP. Use of cryopreserved human embryos in assisted reproductive technologies. Problems of Cryobiology. 2000; 10(1):171–5.
15. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, et al. Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril. 2005; 84(1):88–92.
16. Yurchuk TA, Petrushko MP, Pinyaev VI. Efficiency of cryopreservation of expanded blastocysts by the method of vitrification using collapsing. Probl Cryobiol Cryomed. 2016; 26(2): 167.

- Finnish cohort study 1995–2006. Hum Reprod. 2010; 25(4): 914–23.
16. 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. Hum Reprod. 2015; 30(10): 2411–8.
17. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, et al. Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril. 2005; 84(1):88–92.
17. Zabolotko VM. [Information and statistical guide about assisted reproductive technologies in Ukraine]. Kyiv: 2017: 28 p. Ukrainian.