

辅助生殖的妊娠结局

SOGC

【摘要】 研究目的 研究人类辅助生殖(AHR)的围生期结局,明确出生结局和 AHR 需要进一步研究的领域,为优化产科处理和辅助生殖技术的咨询工作提供指南。**研究结果** 文章比较了各种 AHR 技术的围生期结局,并与自然受孕者进行比较,有助于临床医师更好理解 AHR 相关的产科并发症、不良围生期结局、多胎妊娠、先天性结构畸形、染色体异常、基因印记疾病。**证据来源** 使用合适的词汇和关键字(辅助生殖、辅助生殖技术、促排卵、胞浆内单精子显微注射、胚胎移植、体外授精)检索 MEDLINE 和 Cochrane 图书馆 2005 年 1 月至 2012 年 12 月的文献。研究结果并不只限系统综述、随机对照试验/对照临床试验和观察性研究,所有的 2005 年 1 月至 2012 年 12 月英语研究都包括在内,还包括根据书目查找的文章。定期更新检索,纳入了 2013 年 8 月之前的指南。灰色(未发表)的文献是通过查询卫生技术评估和卫生技术评估相关机构、临床实践指南的集合,临床试验登记处,以及国家和国际医疗专业团体而获得的。**价值** 本文的证据等级根据加拿大预防保健专责小组报告的标准评定(表 1)。

【关键词】 辅助生殖;辅助生殖技术;妊娠结局;多胎妊娠;基因印记;先天异常;基因印记疾病

doi: 10.13470/j.cnki.cjpd.2014.02.013

1 简介

虽然定义不同,但辅助生殖技术(ART)通常是指包括体外处理卵细胞和(或)精子的任何操作。ART 包括采用新鲜或冻胚的卵细胞内单精子注射的体外受精、采用供体卵母细胞的体外受精、配子输卵管内移植、合子输卵管内移植,并协助透明带形成。ART 不仅包括体外操作,也包括宫腔内人工授精和应用促性腺激素或卵巢刺激素的促排卵技术^[1]。

ART 占妊娠的 1.7%~4%^[2],传统上被用于原发或继发不孕^[3]。最近,其用途已扩大到为性腺处理后生育年龄患者保留生育功能^[4,5]、帮助同性伴侣或单身男女产生生物学上的后代^[6]、为代孕者提供服务^[7]。人类辅助生殖的伦理和哲学问题是十分复杂的,在不同的国家有不同的处理方式,因此对 ART 监管也有所不同^[8-12]。

在加拿大,辅助生殖法案^[13]涵盖包括允许的(代孕、配子捐赠)和禁止的(克隆人、买卖人类生殖

相关材料)情况,由此产生了一个机构-加拿大辅助生殖中心,该机构负责资质认定、监管、检查、调控 ART 临床机构。2010 年在魁北克产生的最高法院决定,禁止情况(性别选择、买卖生殖相关材料)的管理权在联邦法案,其余的 ART 监管权将回落到省级^[14]。2012 年联邦预算命令加拿大辅助生殖中心在 2013 年解散,其职责重定向到加拿大健康中心^[4]。

自 1999 年起,IVF 临床中心的数据由加拿大辅助生殖技术注册机构报告,并在加拿大生殖与男科协会监管下运行^[15],IVF 临床中心由加拿大认证中心认证^[16]。

治疗不孕不育和生育力低下(指试孕失败的夫妇任何程度的生育力降低^[17])对家庭幸福十分重要^[18]。AHR 妊娠后的产科结局和一些长期随访后代数据显示,越来越多的妊娠不良结局与 AHR 技术有关,保健提供者和准父母应对这些潜在的不良结果有较为清晰的认识。

本指南中讨论 AHR 妊娠结局的数据采用加拿大预防保健专责小组的证据陈述和建议分级(表 1),我们检索了 2005~2012 年 Cochrane 图书馆和 MEDLINE 发表的相关英文文献(与以前 SOGC 指南有所重叠)。实施良好的随机对照试验被认为是

本临床实践指南由遗传委员会拟定,生殖内分泌与不孕症委员会和家庭医生咨询委员会审核,并由加拿大妇产科协会执行委员会批准。
主要作者: Nanette Okun, MD, Toronto ON; Sony Sierra, MD, Toronto ON

最高质量的证据,其次是队列研究。重点研究和每一项建议的支持数据都是经总结后引用的。

2 未经治疗不孕症的相关妊娠结局

不孕不育,一般认为是试孕1年未能怀孕^[19],已被作为产科和围产期不良结局的一个显著的独立预测因子^[20-22]。分析表明先兆子痫、胎盘早剥、剖宫产、胎头吸引风险增加2倍。与正常人群比较,有不孕病史者,单胎自然妊娠的前置胎盘的风险增加5倍^[23]。

也有专家发表了不孕或生育力低下人群相比正常人群,其产科、围产期和新生儿风险的文献^[13,23-29]。一些文献比较了不同程度试孕时间延长病人与短期妊娠人群,发现早产、低出生体重、围生期死亡率等存在显著差异。一些人群比较了试孕时间延长病人中,采用辅助生殖技术与非辅助生殖病人的不良妊娠结局,两组之间并无明显差异,但与对照人群比较,其不良妊娠结局风险增高^[30,31]。

母体因素导致的不孕也是不良妊娠结局的独立风险因素。SOGC委员会关于延迟生育的意见指出,孕妇高龄与生育力下降和多种妊娠不良结局相关^[32],研究表明,肥胖会影响生育能力^[33,34],原因是卵巢因素还是内膜因素尚存争议^[35-37]。肥胖也与不良产科结局独立相关,这与高龄孕妇相似^[38],并与进行辅助生殖技术的人群相重叠。

虽然大家已基本认同,不育或生育力低下与辅助生殖后的不良妊娠结局相关,但更具体的与卵巢/卵子或睾丸/精子、内膜或其他因素相关与否,结论还不是很清晰。

3 男性不孕相关的妊娠结局

大约50%的不孕不育是与男性因素或精子指标异常相关的^[39]。已经表明,4.6%的少精症男性和13.7%无精症男性存在染色体结构异常,最常见的是性染色体异常和染色体核型移位^[40]。世界卫生组织自2000年起建议精子密度小于500万/ml者常规进行染色体核型分析^[41]。染色体异常的不育男性更有可能产生可遗传的异常精子或父系染色体异常的妊娠^[42]。

无精症可分为非阻塞性和阻塞性。阻塞性无精症最常见的原因是一种先天性双侧输精管缺失,这与囊性纤维化跨膜传导调节基因的突变有很强的相关性^[43,44],在任何情况下,与泌尿科医生咨询,都有可能手术提取精子,用作IVF/ICSI。

在非阻塞性无精症患者中,采用显微外科睾丸取精术的成功率约为50%^[45]。使用提取的精子进行IVF/ICSI的妊娠率接近40%^[46]。最近发表的系统综述回顾总结了各种原因男性生殖遗传异常的无精症可能的生殖结局^[47]。

4 辅助生殖技术的产科、围生期和长期结局

4.1 多胎妊娠与产科和围生期不良妊娠结局 在过去的30年中,世界范围内多胞胎率显著上升,这部分与高孕龄相关,但更主要的是与不孕症的治疗相关^[48,49]。促排卵或卵巢过度刺激后的多胎妊娠率介于5%和40%之间^[50]。2011年加拿大CAR-TR公布的数据显示,IVF导致的多胎妊娠率约30%^[51]。

虽然AHR后的多胎妊娠多为双绒毛膜双胎,但所有IVF后单卵双胎(多数为一个单绒毛膜胎盘)的发生率估计约为0.9%~2%,而自然妊娠者单卵双胎的发生率约为0.4%^[52-54]。移植囊胚(受精后5天)发生单卵双胎的概率(6%)高于移植卵裂胚(受精后2~3天)的概率(2%)^[55]。

多胎妊娠可以说是AHR最重要的妊娠结局因素。多胎妊娠的胎儿和新生儿不良结局的发生率逐渐增加,其中早产及其相关后遗症最为重要。在加拿大早产的整体增多与多胎妊娠率增高显著相关^[49]。其中以孕32~36周的早产居多,但32周前的早产发生率为1%~1.2%^[49]。在加拿大,20世纪70年代继发于多胎妊娠的早产率约30%,2004年增加至58.4%^[49]。多胎妊娠的围生期死亡率、生长受限、脑瘫和先天性异常的风险也高于单胎妊娠,特别是单卵双胎,也包括双卵双胎^[49,56,57]。

多胎妊娠发病率和死亡率风险随着胎数增多而增加^[58],最近2年一个魁北克医院的研究表明,17%的新生儿重症监护病房住院者来自于ART后的多胎妊娠,其中91%是IVF,2~6个胚胎移植,

9%是促排卵后的妊娠^[59]。澳大利亚的一项研究同样发现在1994~2005年间新生儿重症监护病房住院者12.3%来自于辅助生殖。其中,5%为单胎,27%是双胎,而65%为三胎^[60]。毫无疑问,AHR的广泛应用已导致多胎妊娠的发生率增加,继而围产儿发病率和死亡率增加。

AHR后的多胎围产期不良结局风险是否高于自然妊娠多胎尚不明确。AHR后多胎围产期结局与自然妊娠多胎的对照研究^[61-67]与2个系统综述^[68,69]的结论是相矛盾的。几个因素导致研究质量受损,其中包括小样本量、回顾性设计、以及无法准确地辨别ART(IVF或IVF/ICSI)与其他类型AHR(OI,OH,或OI/OH-IUI),一些研究可能不正确将后者列为正常妊娠组。而且,其绒毛膜性质和生育力低并不完全一致对照。最后,事实上,接受AHR的孕妇,其参加产检较早,且随访紧密,这也可能造成混杂。

考虑到这些问题,最近的研究表明ART对不良妊娠结局的独立影响是有限的,甚至在ART组内一些妊娠结局更好。Joy等^[70]发现了早产、低出生体重和先天性畸形在自然受孕双胎中比例增高,但将单绒毛膜双胎去除后,结论是否定。Morcel等^[66]发现绒毛膜性和具体ART方法与妊娠结局有关。促排卵妊娠者风险较ART高,Verstraelen等^[64]发现低生育力本身对妊娠结局有显著不良作用。

多胎者母体并发症高于单胎,贫血、妊娠期高血压^[71]、先兆子痫、妊娠期糖尿病、剖宫产手术风险、产后出血风险均增加^[72]。

医疗相关并发症方面,多胎者经济和社会心理成本增高^[73-75]。有趣的是,最近的一项研究发现,无论是辅助生殖后妊娠还是自然妊娠,多胎妊娠夫妇双方的心理健康都到不利影响。但辅助生殖不增加额外不良影响^[76]。

减胎术对于刚经历过辅助生育技术治疗的夫妇来说,经济上可能存在困难,特别是减胎术过程可能导致妊娠损失时^[77]。尽管一些研究表明长期不良情绪的危险后果^[78-80],现在的研究证据支持多胎减为双胎,以改善妊娠结局^[81,82]。减胎术后的双胎妊

娠,其早产、低出生体重、极低出生体重和胎儿生长受限的风险仍高于自然受孕双胎妊娠者^[62,83]。

正是由于孕产妇和围产儿存在的这些风险,全球的专家都在致力于降低辅助生育技术多胎妊娠的概率,每个周期植入少量的胚胎会减少多胎妊娠率,但同时伴随着低于可接受妊娠率的风险。

近期的两个系统综述讨论过这个问题。2009年的Cochrane系统综述比较了选择性双胚移植与选择性单胚、三胚、四胚移植的活产率,结果发现一个周期内的选择性单胚移植(eSET)的活产率低于双胚移植(DET),但新鲜选择性单胚移植与冷冻选择性单胚移植的累积活产率并不低于双胚移植^[84]。

另一个Grady等^[85]2012年的meta分析比较了双胚移植与选择性单胚移植的围生期结局。他们发现,选择性单胚移植组,以随机对照试验为基础的早产相对危险度是0.37(0.25~0.55),出生体重<2500g的相对危险度为0.25(0.15~0.45),考虑到这些结果,选择性新鲜单胚移植,其次是冷冻单胚移植,其累计活产率与双胚移植是相近的。

许多临床医生将不足40岁和40岁以上孕妇的活产率和围生期结局区分开来,但这二项研究没有。近期,英国一个观察性研究,观察了不足40岁和40岁及以上孕妇1、2或3胚移植的妊娠结局,包括124148例IVF周期中33514个活产,这项研究发现,<40岁年龄组的总活产率较高,而两年龄组中双胚移植的活产率高于单胚移植,但围生期结局双胚移植劣于单胚移植,值得注意的是40岁及以上年龄组其差异显著性低于不足40岁年龄组。这个大型观察性研究结论支持≥40女性进行双胚移植。研究表明,两个年龄组中移植2个以上胚胎并没有增加活产率,并不建议任何时期进行3胚或上的移植^[86]。

在选择特定的女性进行选择单胚移植的政策,对围生期和孕产妇结局有显著效果,这样的政策可能降低成本。一个研究成本效益的建模研究^[87]和荷兰一个研究选择性单胚移植政策的长期效应和成本的多中心队列研究正在进行^[88]。

在此研究的基础上,ESHRE^[89]、HFEA^[90]、ASRM^[91]和SOGC、CFAS^[92](共同)修改了指南,

支持有冷冻设备的中心对临床上可预测的高累计活产率女性进行选择性的单胚移植。但关于移植胚胎数目,当前没有特定的预测模型以促进推广这项建议,当前建议^[93]个体的 IVF-ET 计划应评估个体的数据,识别病人特异、胚胎特异的和周期特异性的决定因素,决定植入和活产的胚胎数,更新的建议将可能考虑妇女或卵子捐赠者的年龄。

国际上,一些辖区内选择性单胚移植比例在增加,多胚移植比例下降。2010年美国报告的数据显示 eSET 比例约 15%^[94](是 2000 年的 2 倍),而 2011 年来自英国的数据显示 eSET 率为 16.8%^[95],多胚移植率从美国 2010 年的 31%^[94]降到英国 2011 年的 20.6%^[95]。

近日,加拿大辅助生育中心(AHRC)分析了当前国际和国内胚胎移植的 AHR 政策。推广 eSET 的一个障碍是缺乏积极的政府立法和医疗报销。有立法和资助项目的辖区,eSET 的比例较高。比利时、芬兰和、澳大利亚接近 50%,资助方案和立法促进最大程度采用 eSET。

在加拿大,安大略的专家小组建议考虑立法和公共资金提高 eSET 率^[96]。截至 2010 年 8 月 5 日,魁北克政府开始资助促排卵后 3 个周期的 IVF,或自然和调整后的 6 个以内周期的 IVF,对临床合适者 IVF 资金与 eSET 绑定。在 2009 年最初 3 个月的报告中显示 eSET 率从 1.6%增加到 50%,多胎妊娠率从 25.6%降到 3.7%^[97]。最新报告的 eSET 率为 49%,多胎妊娠率为 5.2%,每个周期的预测累计妊娠率为 60%^[98]。

虽然降低多胎妊娠率的大部分注意力集中在 IVF 相关策略方面,但对促性腺激素药物促排卵(OI/OH)的研究也越来越多。后者由于治疗人群和促排卵用药方案的异质性、有无采用宫内受精,其研究结果复杂。此外,不同于 AHR/IVF,其监管力度弱,人群治疗结果可获得的数据少,因为它不受北美或欧洲强制性或自愿性的 AHR 报告系统的约束。

关于降低 OI/OS 后多胎妊娠率,一篇近期的综述^[99]和 ASRM 委员会意见讨论了几个策略,包括使用促性腺激素之前延长克罗米芬初始治疗时间,

较低剂量的促性腺激素,根据雌激素水平和卵泡大小监控和调节卵巢周期。该委员会认可已经完成的工作,但在正式指南发表前,还需要大规模、前瞻性研究^[100]。

4.2 单胎妊娠和围生期结局 AHR 的单胎妊娠似乎也与产科和围生期不良结局相关,但这需要文献进一步支持。有很多因素可以独立和显著的导致不良结局,但很难将这些因素分离,因为它们与夫妻双方临床表型(不孕/低生育力的原因)和治疗方案是互相影响的。

累积的数据不允许将重要的但不相互关联的临床资料(如母亲和父亲的背景因素、在治疗方案中的个体因素)分离开来,因此研究质量有所提高。不同形式的 OI 与 OH、捐赠卵和本人卵、时间和抽卵方法、在模拟人体的人工高激素环境成熟(OH)和在实验室(体外成熟)、新鲜或冷冻胚胎、胚胎冷冻方法、精子来源(精液、睾丸、附睾)、精子质量、形成胚胎数、移植胚胎数、移植阶段(卵裂或囊胚期)、“消失”胎儿的影响,这些都可能以不同方式但显著地影响产科和围生期的长期结局。

但是,一些不断变化的趋势提示 AHR 和单胎妊娠者产科和围生期不良结局风险增加之间存在关系。

4.3 早产 随着多胎妊娠的增加,早产与低出生体重是 AHR 后单胎妊娠围生期不良结局最常见的监测指标^[101,102]。

一些研究发现 IVF 单胎与自然妊娠单胎相比,无论是 37 周前、32~36 周或 32 周前,早产的风险均增加,调整后比值比/相对风险在 1.95 和 3.22 之间^[104-108]。尽管芬兰近期的一个队列研究发现单独促排卵对所有孕龄组的早产均有独立作用^[111],当控制其他因素后,不能得出单独促排卵增加早产风险的结论^[109,110]。

4.4 低出生体重 任何类型的 AHR 后单胎妊娠者低出生体重往往比自然妊娠者多见。早产情况下,所有系统综述都将 IVF 与低出生体重联系起来,如表 4 所示^[69,82,105-108]。在这些情况下,低出生体重不仅反映了孕龄短,也提示胎儿生长小于相应的孕周。

促排卵也与低出生体重十分相关^[109-111]。暴露于促性腺激素刺激,循环雌二醇生理水平增高,与体外培养累积作用,可能对正常生长胚胎产生不利影响^[112]。

很多新兴的研究正试图通过比较各种 AHR 人群与正常妊娠人群队列中亚组的不同结果,确定 AHR 后生长不均衡的决定因素,与不孕症诊断和病因的数据相一致,Sasanova 等^[113]对 8941 例 IVF 单胎妊娠进行了回归分析,以确定早产和低出生体重的预测因素。他们发现,初产、吸烟、体重指数以及“消失”的双胎现象均增加早产的风险,而产妇年龄、吸烟、体重指数和不孕的持续时间增加低出生体重的风险。

多项研究比较了 IVF 周期采用新鲜或冷冻胚胎(冷冻保存),发现冷冻胚胎移植可以提高出生体重,减少小于孕龄儿的机会,以及降低早产率^[114-116]。澳大利亚一个大规模的队列研究采用回归分析确定低出生体重的决定预测因子,发现新鲜胚胎移植叫冷冻胚胎移植明显增加低出生体重风险,OR 值为 1.9(95%CI:1.6~2.4)^[117]。

关于这一问题的系统综述还表明,冷冻胚相比新鲜胚,其早产率不变或降低,低出生体重/小于孕龄儿比例不变或增加^[118]。最近美国将 24334 例新鲜胚移植的单胎妊娠队列与 13806 例冷冻胚移植的单胎妊娠队列进行比较,发现早产的 OR 值无区别,但新鲜胚胎队列增加低出生体重整体率,OR 值为 1.35(95%可信区间为 1.20~1.51)。未行促排卵治疗的供体卵母细胞中,低出生体重率并不增加^[119]。这些提示子宫环境的变化和多个卵泡的成熟增加低出生体重风险。

一个有趣的丹麦队列研究比较了单胎出生者的姐妹以下 5 组的妊娠情况:新鲜 IVF-ICSI 与自然妊娠、新鲜 IVF-ICSI 与冷冻胚胎移植、冷冻胚胎移植与冷冻胚胎移植、新鲜 IVF-ICSI 与自然妊娠与自然妊娠,比较厚发现新鲜 IVF-ICSI 较冷冻胚胎移植发生低出生体重和较低的平均出生体重的风险高,任何形式的 ART 其总体出生体重低于自然妊娠者^[120]。

最新 25 777 个出生队列的研究发现冷冻胚胎

移植与新鲜胚胎移植后单胎妊娠的出生体重差异为 90.9 g^[121]。

有猜测认为,冷冻胚胎所需的较低剂量卵巢刺激药物可能改善子宫内膜环境,或者是高质量的胚胎得到募集和冷冻保存。但是,另一个 32 416 例 IVF 单胎或 ICSI 妊娠的队列研究发现卵巢刺激的相关因素与出生体重没有独立关系^[122]。

一个包含 292 例单胎的研究,通过检查在 IVF 周期中血清雌激素水平,发现调整后的年龄、体重指数、奇偶校验、移植胚胎数、促性腺激素的剂量、高血清雌激素水平(>3450pg/ml 或>90 百分位)与先兆子痫(OR4.8,95%CI1.6~14.8)和小于孕龄儿(OR9.4,95%CI3.2~27.5)相关^[123]。

也有其他研究比较了 ICSI/IVF 与自然妊娠者早产与低出生体重情况。两个小型的研究($n=41$ ICSI 组/147 对照组^[124]; $n=276$ ICSI 组/273 对照组^[125])比较 IVF/ICSI 与自然妊娠组,低出生体重或早产的风险没有明显差异。一个 81 例 ICSI 单胎与 81 例匹配的对照组 IVF 比较,早产或低出生体重也无显著差异^[126]。加拿大的一项研究比较了 ICSI($n=104$)、IVF($n=133$)和体外卵成熟($n=31$),并未发现早产或低出生体重率的显著差异^[127]。ICSI 精子的来源(射精、附睾、睾丸)似乎不影响出生体重^[128,129]。ICSI 本身似乎对早产和低出生体重率没有不良影响。

据报道使用供体卵相比自体卵,早产和低出生体重的风险增加。一个比较 81 例 IVF 供体卵与 77 例 IVF 自体卵的小型病例对照研究发现早产的 OR 值为 2.6(95%CI 为 1.04~6.3)^[130]。辅助生殖协会的报告比较了 60 037 例标准 IVF 周期与 10 176 例供体卵周期和 1180 例妊娠障碍周期,发现供体卵相比自体卵,出生体重<2500 g 的 OR 值为 1.21(95%CI 为 1.13~1.30),出生体重<1500g 的 OR 值为 1.28(95%CI 为 1.10~1.49)^[37]。

4.5 其他产科妊娠结局 曾经存在此类疑问,即 AHR 是否会导致胎盘异常,从而作为媒介因素造成妊娠不良后果,如低出生体重、先兆子痫、着床异常、胎盘植入、产前出血,和产后出血。可能的胎盘早期异常是与孕早中期唐氏综合征和开放性神经管

缺陷血清标志物水平改变相一致的,包括丹麦队列研究在内的几项研究发现,ART 妊娠者(冷冻胚胎除外)PAPP-A 水平显著降低 0.8 MoM^[131],总 hCG 水平升高^[132]。

一些研究提示 AHR 先兆子痫的风险增加,Calhoun 报告的 OR 值为 2.2(95%CI 为 1.03~4.72),在控制多胎因素后,IVF 的风险最大(OR 值为 5.3,95%CI 1.74~15.89),目前没有宫内授精和先兆子痫之间关系的报道^[133]。

基于安大略数据库的两个独立的队列研究结果有些矛盾。Sun 等^[135]发现宫内授精与胎盘介导的并发症(死胎、生长受限、先兆子痫和胎盘早剥)无显著相关性(OR 1.30,95%CI 0.94~1.80),但单胎匹配对照实验发现,IVF 或促排卵与之相关^[134]。另有来自相同数据库的重叠队列研究,控制多胎以外的对照因素,发现 IVF 先兆子痫风险增加(OR 1.78,95%CI 1.05~3.06),但宫腔内人工授精或促排卵先兆子痫风险不增加。一些研究表明,供体卵细胞相比自体卵细胞,先兆子痫的风险增加^[130,136]。

其他报告的 ART 者风险增加的胎盘并发症包括前置胎盘、胎盘早剥和产前产后出血。42 例胎盘植入的研究发现,IVF 与自然妊娠的 OR 为 13.2(95%CI 为 6.7~25.8)^[137]。澳大利亚队列研究比较了 6730 例 IVF/ICSI 妊娠与 24 619 例自然妊娠,发现产前出血的 OR 为 2.0(95%CI 为 1.8~2.3)、前置胎盘 2.3(95%CI 为 1.9~2.9),胎盘早剥 2.1(95%CI 为 1.4~3.0),产后出血 1.3(95%CI: 1.2~1.4)^[138]。最近一个系统研究纳入了 13 个研究结果,并没有发现 ART 者产后抑郁症风险增加^[139]。

IVF 或 IVF/ICSI 中胚胎转移时机可能影响妊娠结局。最佳时机从卵裂期到囊胚期,囊胚期移植成功率较高,活产率增高^[140]。在一项 meta 分析中,包括了 4 个研究的 1 102 例囊胚期移植和 1 485 例卵裂期胚胎移植,囊胚期移植导致男性胚胎较女性比例高(OR 1.29,95%CI 1.10~1.51),在同样的 meta 分析,7 个研究的 9 316 例囊胚期移植和 31 601 例卵裂期移植,发现囊胚期移植组单卵双胞胎的概率增加(OR 3.04,95%CI 1.54~6.01)^[141]。在另一项 1 311 例囊胚期移植和 12 562 例卵裂期移植的研究发

现,囊胚期移植组<37 周早产率略有增加(OR 1.35,95%CI 1.07~1.71),但低出生体重率不变^[142]。

4.6 新生儿长期结局 近期发表了几个大型的探讨新生儿长期结局的研究结果。基于 2 年^[124]或 5 年^[125,143]的随访,显著的神经发育或不良行为后果的风险几乎并不增加。一个 10 年的随访研究发现,ICSI 与自然妊娠儿童之间没有显著差异^[144]。虽然有报道 ICSI 增加男孩睾丸未降、泌尿生殖系统手术的风险^[145],但是身体健康状况是相同的。虽然小规模研究报道某些儿童癌症风险增高,但目前的数据不支持两者之间的关系^[146]。

5 人类辅助生殖相关的胎儿结构、染色体和基因印记疾病

5.1 结构异常(畸形、变形和受干扰) 既往有关于辅助生殖技术后先天性结构畸形风险升高的报道,但由于样本量少、各种先天性畸形定义不同,以及缺乏潜在混杂因素的数据等,研究结果存在限制^[147-149]。丹麦全国出生队列的纵向研究数据表明,发现有不孕病史的单胎妊娠者,比自然妊娠正常受孕或辅助生殖技术者先天先天性畸形发病率较高(HR 1.20,95%CI 1.07~1.35),不育夫妇所生的 ART 婴儿生殖器官畸形的发生率增加(HR 2.32,95%CI 1.24~4.35^[27])。

国家出生缺陷预防研究提供了自然妊娠活产婴儿和 ART 后的活产婴儿先天性缺陷的病例对照分析结果。调整的混杂因素包括母亲的种族、年龄、吸烟和奇偶校验。ART 与室间隔缺损(OR 值为 2.1;95%CI 为 1.1~4.0)、食管闭锁(OR 值为 4.5,95%CI 1.9~10.5),以及肛门直肠闭锁(OR 值为 3.7,95%CI 1.5~9.1)相关。多胞胎中,ART 和出生缺陷之间没有显著的关联^[150]。

最近一项加拿大中心回顾性队列研究提示,IVF/ICSI 后的婴儿有较高的先天性心脏缺陷的发生率(1.1%),高于自然妊娠后婴儿(0.4%)($P < 0.01$)。产妇体重指数 $> 30 \text{ kg/m}^2$ 会增加心脏缺陷的发生率^[151]。

近期的数据表明,适当调整混杂因素后,IVF 和 IVF-ICSI 比自然受孕婴儿先天性大畸形风险

高^[152], IVF-ICSI 后单胎妊娠婴儿大畸形风险(8.9%)较自然妊娠婴儿(6.0%)增加2倍, IVF-ICSI 后双胞胎中一个或两个大畸形的风险较单胎者增加2倍^[149, 153]。一个包括46个不同研究结果124 468例 ART 婴儿的 meta 分析表明, ART 婴儿较自然受孕婴儿总校正 RR 为 1.36(95%CI 为 1.26~1.48), 而 IVF 和 IVF/ICSI 无明显差异^[154]。

Davies 等^[38]比较了在南澳大利亚接受 IVF(不论是否包括 ICSI)与自然妊娠婴儿出生缺陷(包括因先天缺陷终止妊娠者)的发生率, 总 IVF(±ICSI) OR 值为 1.28(95% CI 为 1.16~1.41)。单独比较 IVF 婴儿与自然妊娠婴儿, ART 与出生缺陷之间的显著性消失, 而 IVF/ICSI 治疗仍然是一个显著的风险因素, OR 值为 1.57(95%CI 为 1.30~1.90)。在相同的人群中($n=308\ 974$), 有不孕病史者, 无论是否采用 ART 技术, 其婴儿出生缺陷的发生率较没有不孕病史的自然妊娠者高^[2]。

5.2 染色体异常 调整产妇年龄和奇偶校验后, IVF 婴儿(包括终止妊娠者)染色体异常的发生率(0.7%)与自然受孕婴儿发生率相当(0.2%), 但 IVF-ICSI 婴儿发生率(1.0%)显著升高^[149]。IVF-ICSI 婴儿新发染色体畸变比一般新生儿风险显著增高^[155]。一项前瞻性临床观察实验^[156]分析了正常生精父亲的男婴外周血和脐带血样本, 新发 Y 染色体微缺失在 19 例 IVF 后代的发生率为 5.3%, 在 18 例 ICSI 后代的发生率为 16.7%。这两种辅助生殖方法获得的男婴较自然妊娠男婴新发染色体微缺失的风险显著增加。

类似于自然妊娠者, AHR 后妊娠者选择有创非整倍体检查(绒毛取样或羊膜囊穿刺)应根据产前非整倍体筛查结果确定^[156], 除外 IVF-ICSI 后妊娠者^[154]。

大多数研究发现 IVF 和 IVF-ICSI 妊娠婴儿颈后透明层测量(NT)与自然妊娠婴儿之间没有显著差异^[158]。ART 妊娠者 PAPP-A 水平显著降低^[159]。MSAFP 在减胎术后, 并不是神经管缺陷的可靠标志物^[160]。采用捐献的卵子后妊娠者, 其 MSAFP 水平显著升高^[161]。

5.3 基因印记疾病 应用辅助生殖技术获得的妊

娠随着技术的可用性和病人的需求和选择增加而增加。近期据估计, 在工业化和发达国家有 1.7%~4.0%的儿童是 IVF 获得的^[2], 第一例 IVF, FET 和 ICSI 活产后代分别出生于 1978 年、1984 年和 1992 年^[162-164]。

确定不良妊娠结局与遗传印记错误之间存在相关性的研究是罕见的, 但通过动物和人类研究的拓展可以理解这个机制。

基因组印记是一个父母基因起源特性表达的表观遗传修饰过程。这些基因位点对于正常的生长发育是很重要的。基因印记现象主要存在于有胎盘的哺乳动物, 这可能与平衡父母基因分配的机制相关^[16, 46]。表观遗传学是指“完整的”DNA 结构被甲基化或组蛋白化, 从而导致基因在特异的时间或特异性组织中不转录, 但没有实际改变基因的编码序列。已经确定 9 个人类基因表型的印记基因^[165, 166]。

与辅助生殖技术获得的儿童显著相关的基因印记位点疾病是 Beckwith-Wiedemann 综合征、Silver-Russell 综合征和 Angelman 综合征。这些印记表型与各种辅助生殖技术, 包括 IVF 和 ICSI 关联的证据一直局限于表突变。

辅助生殖技术可能导致表突变可能的机制有很多。培养媒介和环境、母体印记基因超排卵表达受阻、低甲基化、或者其他可能与辅助生殖技术无关的不良后果。不孕的潜在情况可可能与基因印记异常与所有关联^[17]。

虽然基因印记和辅助生殖技术之间有生物学上的合理性, 并有动物和人类数据做支持, 但辅助生殖技术后基因印记缺陷的整体风险是很低的。可能的辅助生殖技术与基因印记先关的表型有 Beckwith-Wiedemann 综合征、Silver-Russell 综合征, 鲜有证据支持 Angelman 综合征和 Prader-Willi 综合征。

有研究提出, 辅助生殖获得的儿童将来恶性肿瘤的风险增高, 可能的病因是印记基因活性的下调, 导致肿瘤抑制因子失调^[168]。大型随访研究表明辅助生殖儿童的癌症风险增加, 但存在其他干扰因素, 如早产儿和窒息^[169]。进一步的研究是必需的, 因为大部分辅助生殖队列研究的对象在 30 岁以下^[169]。

2009年的一篇综述提出“表观基因畸变可导致特殊妊娠结局,如 Beckwith-Wiedemann 综合征或弥漫性的生长受限”^[167]。动物和人类大量研究证据表明配子和胚胎植入前是突变敏感阶段。辅助生殖技术是否导致基因变异,是否不孕症患者突变概率高,都是需要进一步研究解决的问题^[167]。

近来,越来越多的辅助生殖周期已纳入胚胎植入前遗传学非整倍体或随机遗传错误筛查以增加活产的成功率。该过程包括胚胎 72 小时的显微活检,分离卵裂球或囊胚阶段的滋养外胚层组织。基因组分析采用传统的荧光原位杂交技术,分析 5 至 7 条染色体或者更多。最近,应用比较基因组杂交的全基因组分析^[170,171]应用于高龄产妇、反复 IVF 失败、反复流产、睾丸和精子提取的病人。

文献中对于以健康活产儿检测获得的明确益处或者更具体地以婴儿的健康作为临床结局是存在争议的。最近的一份 581 例 PGS 后出生儿童报告发现,出生体重和主要畸形率与其他 IVF/ICSI 儿童无统计学差异^[172]。同类的研究也报道误诊率小于 1%。一项前瞻性双盲随访研究,随访随机分配进入 PGS 组女性妊娠后出生的儿童,发现虽然有神经学检测发现 PGS 与“最佳”神经学测试得分减少相关^[173],但该技术与精神、心理受损,或 2 岁时的行为方式无相关性,最近同一研究组报道对这一队列随访 4 年发现 PGS 对单胎队列无影响,PGS^[174]后双胎神经学测试得分明显减少,因此植入前遗传学筛查对长期临床结局的作用目前还不清楚。

最近发表的技术更新更详细总结了胚胎植入前筛查和诊断^[175]。

虽然其他领域新技术不断发展,但我们对于辅助生殖技术与产妇、围产期和儿童的结局之间相关性的知识仍然存在差距。最近加拿大辅助生殖中心的讨论意见书,对辅助生殖技术后的临床结局强调建立在 CARTR 数据库基础上的全面监控系统的重要性,提供个性化的健康信息,可衡量的长期临床结局,并链接到其他国家和国际数据库的能力^[1]。

由于大型人口数据库的积累和准确度的提高,以及对辅助生殖技术出生和早期新生儿结局数据的

链接,数据质量得到改善,但需要不断努力,进一步细化不孕各种因素的不同相关性,以及辅助生殖技术对临床结局的详细影响。

大部分辅助生殖技术的妊娠是不复杂的,伴随着健康新生儿的出生。然而,同样明确的是当试孕时间大于一年,无论是不孕的潜在因素或者是辅助生殖技术本身的影响,辅助生殖妊娠比自然妊娠的产科和围生期并发症要高。

辅助生殖技术的大部分产科和儿科的问题为多胎妊娠的结果。累积的许多新的证据鼓励在适当情况下采用选择性单胚移植,并可显著降低多胎妊娠率。与准父母的沟通应该包括这方面的知识。

6 总结

6.1 越来越多的证据表明,不考虑辅助生殖技术的影响,不育或生育力低下本身即是产科并发症及不良围产期结局的独立危险因素(II-2)。

6.2 辅助生育人群的基因印记表型如 Silver-Russell 综合征, Beckwith-Wiedemann 综合征或者 Angelman 综合征的相对风险增加,但实际发生其中一种表型的风险估计较低,小于 1/5000,基因印记风险增加的确切病因生物学可能是异质性的,需要进一步研究(II-2)。

7 建议(表 1)

7.1 对于重度少精子症或无精子症(精子数<500万个/高倍视野)者,体外受精与卵细胞胞浆内单精子注射之前应提供遗传/临床咨询、染色体异常的核型分析和 Y 染色体微缺失的检测(II-2A)。

7.2 对于不明原因的梗阻性无精子症者,体外受精与卵细胞胞浆内单精子注射之前应提供遗传/临床咨询和囊性纤维化的基因检测(II-2A)。

7.3 多胎妊娠是孕产妇、产科和围产期不良结局的最强预测因子,应详细告知双方进行辅助生殖治疗过程中,多胎存在显著风险(II-2A)。

7.4 在移植成功预后良好的人群中,选择性单胚移植存在益处和较高的累积妊娠率,强烈推荐此人群中采用选择性单胚移植技术(II-2A)。

表 1 加拿大预防保健专责小组的证据陈述和建议分级

* 证据质量评估	† 建议分类
I: 证据至少来自于一个良好的随机对照试验	A 临床干预有良好的证据
II-1: 证据来自设计良好的对照试验(非随机)	B. 临床干预有合理的证据
II-2: 证据来源于设计良好的队列研究(前瞻或回顾性)或病例对照研究,最好是一个以上的中心或研究小组	C. 现有的证据是矛盾的,不建议提倡或反对临床干预措施,其他因素也可能影响决策
II-3: 证据来源于不同时间或地点干预与否的比较。重大结果的非对照实验(如 20 世纪 40 年代青霉素的使用)可划分为此类	D. 有合理的证据反对临床干预措施
III: 证据来源于有威望的团体、临床经验、描述性研究或专家报告	E. 有良好的证据反对临床干预措施
	L. 没有足够的证据(数量或质量上)做出建议,其它因素可能会影响决策

注: * 指南中的证据质量根据加拿大预防保健专责小组证据标准评估修订

† 指南中的建议根据加拿大预防保健专责小组建议标准分类修订^[176]

7.5 为了减少多胎妊娠的发生,支持辅助生殖的公共基金和医疗保健政策应大力提倡选择性单胚移植(II-2A)。

7.6 单胎妊娠中,辅助生殖技术与早产和低出生体重儿的风险增加相关,促排卵与低出生体重儿的风险增加相关。在有足够的研究表明不孕不育和治疗不孕不育不增加妊娠不良结局风险前,应告知治疗者与治疗相关的风险(II-2B)。对辅助受孕的妇女进行详细的产科观察是必要的(III-L)。

7.7 越来越多的证据表明,移植体外冷冻保存的胚胎,其妊娠结局优于新鲜胚胎。这一发现支持在移植成功预后良好的人群中采用选择性单胚移植技术(使用根据需要冷冻保存的胚胎)的政策,为正在考虑体外受精的妇女提供依据(II-2A)。

7.8 对于考虑辅助生殖技术,关注单胎妊娠围生儿结局的夫妇,应告知:(1)卵细胞胞浆内单精子注射相比标准的体外受精似乎并不增加围生期或母体不良风险。(2)在特定人群中,使用捐赠的卵子能提高妊娠成功率,但考虑到孕产妇年龄时,低出生体重和先兆子痫的风险增加(II-2B)。

7.9 采用任何辅助生殖技术之前,应首先讨论胎儿结局和先天性结构异常稍增加的风险,并重点强调已知的混杂因素,如不孕症和身体质量指数(II-2B)。

7.10 在人工生殖技术妊娠成功后,建议 18-22 周行超声检查排除先天性结构异常(II-2A)。

7.11 卵细胞胞浆内单精子注射妊娠成功时,包括性染色体在内的染色体异常的风险增加,咨询后应提供诊断测试(II-2A)。

7.12 由于肿瘤抑制基因调控异常,迟发癌症的风险可能增加,在确定确切风险前,需要长期的随访,(III-A)。

7.13 对于有生育能力的夫妇,胚胎植入前基因检测应权衡避免疾病传递和体外受精经济负担两者之间的利弊(III-B)。

7.14 非整倍体的植入前筛查能否改善妊娠结局的研究结果目前尚不一致。应充分告知进行胚胎植入前遗传学筛查的病人,并没有足够的证据表明胚胎单细胞活检的长期效应(I-C)。

遗传委员会成员

- R. Douglas Wilson (Chair), MD, Calgary AB
- Francois Audibert, MD, Montreal QC
- Jo-Ann Brock, MD, PhD, Halifax NS
- Carla Campagnolo, MSc, CCGC, London ON
- June Carroll, MD, Toronto ON
- Lola Cartier, MSc, CCGC, Montreal QC
- David Chitayat, MD, Toronto ON
- Alain Gagnon, MD, Vancouver BC
- Jo-Ann Johnson, MD, Calgary AB
- Sylvie Langlois, MD, Vancouver BC
- Lynn Murphy-Kaulbeck, MD, Moncton NB
- W. Kim MacDonald, MD, Halifax NS
- Nanette Okun, MD, Toronto ON
- Melanie Pastuck, RN, Cochrane AB

特殊贡献者

- Lih Yeen Tan, MD, Toronto ON
- Valda Poplak, Toronto ON
- Helen Robson, MA, Toronto ON

参 考 文 献

[1] Walker MEL. Measurement of assisted human reproduction outcomes in Canada. A discussion paper prepared for participants of the 2010 Outcomes Roundtable[EB/OL]. Available at: http://publications.gc.ca/collections/collection_2011/

- pac-ahrc/H1-9-27-2011-eng. pdf.
- [2] Talaulikar VS, Arulkumaran S. Reproductive outcomes after assisted conception[J]. *Obstet Gynecol Surv*, 2012, 67: 566-583.
- [3] European Society of Human Reproduction and Embryology. ART fact sheet[EB/OL]. Available at: <http://www.eshre.eu/ESHRE/English/Guidelines-Legal/ART-fact-sheet/page.aspx/1061>.
- [4] Fertile future[EB/OL]. Available at: <http://fertilefuture.ca>. Accessed April 15, 2012.
- [5] Rodriguez-Wallberg KA, Oktay K. Fertility preservation medicine: options for young adults and children with cancer [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2010, 32: 390-396.
- [6] Buckett W. Infertility treatment for non-traditional families [EB/OL]. 2011. Available at: <http://www.iaac.ca/en/632-613-infertility-treatment-for-non-traditional-families-by-william-buckett-md-mrcog-fall-2011>. Accessed on September 14, 2011.
- [7] Surrogacy in Canada online; information, referral and support since 2001[EB/OL]. Available at: <http://www.surrogacy.ca>. Accessed on April 15, 2012.
- [8] Centers for Disease Control and Prevention. ART reports and resources. 2013[EB/OL]. Available at: <http://www.cdc.gov/art/ARTReports.htm>. Accessed on February 25, 2013.
- [9] Society for Assisted Reproductive Technology. IVF success rate reports[EB/OL]. Available at: <http://www.sart.org>. Accessed on February 25, 2013.
- [10] New York State Department of Health Task Force on Life and Law. Executive summary of assisted reproductive technologies: analysis and recommendations for public policy. 2011[EB/OL]. Available at: http://www.health.ny.gov/regulations/task_force/reports_publications/execsum.htm. Accessed on February 25, 2013.
- [11] European Society of Human Reproduction and Embryology. Comparative analysis of medically assisted reproduction in the EU; regulation and technologies (SANCO/2008/C6/051). Final report. 2008[EB/OL]. Available at: <http://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Legislation-for-MAR-treatments.aspx>. Accessed on September 14, 2013.
- [12] Australian Government National Health and Medical Research Council. Ethical guidelines on the use of assisted reproductive technology in clinical practice and research (2007). 2007[EB/OL]. Available at: <http://www.nhmrc.gov.au/guidelines/publications/e78>. Accessed on February 25, 2013.
- [13] Zhu JL, Obel C, Hammer Bech B, et al. Infertility, infertility treatment, and fetal growth restriction[J]. *Obstet Gynecol*, 2007, 110: 1326-1334.
- [14] Assisted Human Reproduction Canada[EB/OL]. Available at: <http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/brgtherap/legislation/reprod/index-eng.php>. Accessed September 14, 2013.
- [15] Canadian Fertility and Andrology Society. ART live birth rates[EB/OL]. Available at: http://www.cfes.ca/index.php?option=com_content&view=article&id=260&Itemid=460. Accessed on February 25, 2013.
- [16] Accreditation Canada. Assisted reproductive technology standards for clinical services[EB/OL]. Available at: <http://www.accreditation.ca/en/content.aspx?pageid=203&terms=assisted+reproductive>. Accessed on February 25, 2013.
- [17] Jenkins J, Daya S, Kremer J, et al. European Classification of Infertility Taskforce (ECIT) response to Habbema et al. , "Towards less confusing terminology in reproductive medicine: a proposal." [J]. *Human Reproduction*, 2004, 19: 2687-2688.
- [18] Royal Commission on New Reproductive Technologies, Government of Canada. Proceed with care; final report of the Royal Commission on New Reproductive Technologies[M]. Ottawa: Minister of Government Services Canada, 1993.
- [19] Lobo R, Mishell DR, Davajan V. Mishell's textbook of infertility, contraception, and reproductive endocrinology[M]. Philadelphia; Mosby Elsevier, 1997.
- [20] Joffe M, Li Z. Association of time to pregnancy and the outcome of pregnancy[J]. *Fertil Steril*, 1994, 62: 71-75.
- [21] Sutcliffe AG, Ludwig M. Outcome of assisted reproduction [J]. *Lancet*, 2007, 370: 351-359.
- [22] Reddy UM, Wapner RJ, Rebar RW, et al. Infertility, assisted reproductive technology, and adverse pregnancy outcomes: executive summary of a National Institute of Child Health and Human Development workshop[J]. *Obstet Gynecol*, 2007, 109: 967-977.
- [23] Thomson F, Shanbhag S, Templeton A, et al. Obstetric outcome in women with subfertility[J]. *BJOG*, 2005, 112: 632-637.
- [24] Henriksen TB, Baird DD, Olsen J, et al. Time to pregnancy and preterm delivery[J]. *Obstet Gynecol*, 1997, 89: 594-599.
- [25] Draper ES, Kurinczuk JJ, Abrams KR, et al. Assessment of separate contributions to perinatal mortality of infertility history and treatment: a case-control analysis[J]. *Lancet*, 1999, 353: 1746-1749.
- [26] Basso O, Baird DD. Infertility and preterm delivery, birthweight, and Caesarean section; a study within the Danish National Birth Cohort[J]. *Hum Reprod*, 2003, 18: 2478-2484.
- [27] Basso O, Olsen J. Subfecundity and neonatal mortality: lon-

- gitudinal study within the Danish national birth cohort[J]. *BMJ*,2005,330:393-394.
- [28] Zhu JL, Basso O, Obel C, et al. Infertility, infertility treatment, and congenital malformations; Danish national birth cohort[J]. *BMJ*,2006,333:679.
- [29] Jaques AM, Amor DJ, Baker HW, et al. Adverse obstetric and perinatal outcomes in subfertile women conceiving without assisted reproductive technologies[J]. *Fertil Steril*,2010,94:2674-2679.
- [30] Raatikainen K, Kuivasaari-Pirinen P, Hippelainen M, et al. Comparison of the pregnancy outcomes of subfertile women after infertility treatment and in naturally conceived pregnancies[J]. *Hum Reprod*,2012,27:1162-1169.
- [31] Romundstad LB, Romundstad PR, Sunde A, et al. Effects of technology or maternal factors on perinatal outcome after assisted fertilisation; a population-based cohort study[J]. *Lancet*, 2008,372:737-743.
- [32] Johnson JA, Tough S, SOGC Genetics Committee. Delayed child-bearing. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada Committee Opinion, No. 271, January 2012[J]. *J Obstet Gynaecol Can*,2012,34:80-93.
- [33] Maheshwari A, Stofberg L, Bhattacharya S. Effect of overweight and obesity on assisted reproductive technology—a systematic review[J]. *Hum Reprod Update*, 2007, 13: 433-444.
- [34] Bellver J, Ayllon Y, Ferrando M, et al. Female obesity impairs in vitro fertilization outcome without affecting embryo quality[J]. *Fertil Steril*,2010,93:447-454.
- [35] Metwally M, Tuckerman EM, Laird SM, et al. Impact of high body mass index on endometrial morphology and function in the peri-implantation period in women with recurrent miscarriage[J]. *Reprod Biomed Online*,2007,14:328-334.
- [36] Metwally M, Cutting R, Tipton A, et al. Effect of increased body mass index on oocyte and embryo quality in IVF patients [J]. *Reprod Biomed Online*,2007,15(5):532-535.
- [37] Gibbons WE, Cedars M, Ness RB. Toward understanding obstetrical outcome in advanced assisted reproduction; varying sperm, oocyte, and uterine source and diagnosis[J]. *Fertil Steril*, 2011,95:1645-1649 e1641.
- [38] Davies GA, Maxwell C, McLeod L, et al. Obesity in pregnancy. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada Clinical Practice Guideline, No. 239, February 2010[J]. *J Obstet Gynaecol Can*,2010,32:165-173.
- [39] Palermo GD, Neri QV, Monahan D, et al. Development and current applications of assisted fertilization[J]. *Fertil Steril*, 2012,97:248-259.
- [40] Johnson MD. Genetic risks of intracytoplasmic sperm injection in the treatment of male infertility: recommendations for genetic counseling and screening[J]. *Fertil Steril*,1998,70:397-411.
- [41] Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, et al. WHO manual for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile male[M]. Cambridge: Cambridge University Press,2000.
- [42] Shi Q, Martin RH. Aneuploidy in human spermatozoa: FISH analysis in men with constitutional chromosomal abnormalities, and in infertile men[J]. *Reproduction*, 2001, 121: 655-666.
- [43] Bareil C, Guittard C, Altieri JP, et al. Comprehensive and rapid genotyping of mutations and haplotypes in congenital bilateral absence of the vas deferens and other cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related disorders[J]. *J Mol Diagn*,2007,9:582-588.
- [44] Walsh TJ, Pera RR, Turek PJ. The genetics of male infertility[J]. *Semin Reprod Med*,2009,27:124-136.
- [45] Schlegel PN. Testicular sperm extraction; microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision[J]. *Hum Reprod*,1999,14:131-135.
- [46] Kahraman S, Ozgür S, Alataş C, et al. High implantation and pregnancy rates with testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in obstructive and non-obstructive azoospermia[J]. *Hum Reprod*,1996,11:673-676.
- [47] Harnisch B, Oates R. Genetic disorders related to male factor infertility and their adverse consequences[J]. *Semin Reprod Med*,2012,30:105-115.
- [48] Blondel B, Kaminski M. Trends in the occurrence, determinants, and consequences of multiple births[J]. *Semin Perinatol*,2002,26:239-249.
- [49] Liu S, Allen A, Fraser W. Preterm birth rate. In: Canadian Perinatal Health Report; 2008?. Ottawa: Minister of Public Works and Government Services; 2008. pp. 123-126.
- [50] Fauser BC, Devroey P, Macklon NS. Multiple birth resulting from ovarian stimulation for subfertility treatment[J]. *Lancet*,2005,365:1807-1816.
- [51] Gunby J, Bissonnette F, Librach C, et al. Assisted reproductive technologies (ART) in Canada; 2007 results from the Canadian ART Register[J]. *Fertil Steril*,2011,95:542-547. e541-e510.
- [52] Blickstein I. Estimation of iatrogenic monozygotic twinning rate following assisted reproduction: pitfalls and caveats[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2005192:365-368.
- [53] Vela G, Luna M, Barritt J, et al. Monozygotic pregnancies conceived by in vitro fertilization; understanding their prognosis[J]. *Fertil Steril*,2011,95:606-610.

- [54] Vitthala S, Gelbaya TA, Brison DR, Fitzgerald CT, Nardo LG. The risk of monozygotic twins after assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod Update, 2009;1545-55.
- [55] Milki AA, Jun SH, Hinckley MD, et al. Incidence of monozygotic twinning with blastocyst transfer compared to cleavage-stage transfer[J]. Fertil Steril, 2003, 79:503-506.
- [56] Alexander GR, Slay Wingate M, Salihu H, et al. Fetal and neonatal mortality risks of multiple births[J]. Obstet Gynecol Clin North Am, 2005;32:1-16. vii.
- [57] Pharoah PO. Risk of cerebral palsy in multiple pregnancies [J]. Clin Perinatol, 2006, 33:301-313.
- [58] Salihu HM, Aliyu MH, Rouse DJ, et al. Potentially preventable excess mortality among higher-order multiples[J]. Obstet Gynecol, 2003, 102:679-684.
- [59] Janvier A, Spelke B, Barrington KJ. The epidemic of multiple gestations and neonatal intensive care unit use: the cost of irresponsibility[J]. J Pediatr, 2011, 159:409-413.
- [60] Garg P, Abdel-Latif ME, Bolisetty S, et al. Perinatal characteristics and outcome of preterm singleton, twin and triplet infants in NSW and the ACT, Australia (1994-2005) [J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2010, 95:F20-F24.
- [61] Nassar AH, Usta IM, Rechdan JB, et al. Pregnancy outcome in spontaneous twins versus twins who were conceived through in vitro fertilization[J]. Am J Obstet Gynecol, 2003, 189:513-518.
- [62] Luke B, Brown MB, Nugent C, et al. Risk factors for adverse outcomes in spontaneous versus assisted conception twin pregnancies[J]. Fertil Steril, 2004, 81:315-319.
- [63] Smithers PR, Halliday J, Hale L, et al. High frequency of cesarean section, antepartum hemorrhage, placenta previa, and preterm delivery in in-vitro fertilization twin pregnancies [J]. Fertil Steril, 2003, 80:666-668.
- [64] Verstraelen H, Goetgeluk S, Derom C, et al. Preterm birth in twins after subfertility treatment: population based cohort study[J]. BMJ, 2005, 331:1173.
- [65] Delbaere I, Goetgeluk S, Derom C, et al. Umbilical cord anomalies are more frequent in twins after assisted reproduction[J]. Hum Reprod, 2007, 22:2763-2767.
- [66] Morcel K, Lavoue V, Beuchee A, et al. Perinatal morbidity and mortality in twin pregnancies with dichorionic placentas following assisted reproductive techniques or ovarian induction alone: a comparative study[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2010, 153:138-142.
- [67] Vasario E, Borgarello V, Bossotti C, et al. IVF twins have similar obstetric and neonatal outcome as spontaneously conceived twins: a prospective follow-up study [J]. Reprod, 2010, 21:422-428.
- [68] Helmerhorst FM, Perquin DA, Donker D, et al. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies[J]. BMJ, 2004, 328:261.
- [69] McDonald S, Murphy K, Beyene J, et al. Perinatal outcomes of in vitro fertilization twins: a systematic review and meta-analyses[J]. Am J Obstet Gynecol, 2005, 193:141-152.
- [70] Joy J, McClure N, Cooke IE. A comparison of spontaneously conceived twins and twins conceived by artificial reproductive technologies[J]. J Obstet Gynaecol, 2008, 28:580-585.
- [71] Thomopoulos C, Tsioufis C, Michalopoulou H, et al. Assisted reproductive technology and pregnancy-related hypertensive complications: a systematic review[J]. J Hum Hypertens, 2013, 27:148-157.
- [72] Ombelet W, De Sutter P, Van der Elst J, et al. Multiple gestation and infertility treatment: registration, reflection and reaction—the Belgian project[J]. Hum Reprod Update, 2005, 11:3-14.
- [73] Gareil M, Blondel B. Assessment at 1 year of the psychological consequences of having triplets[J]. Hum Reprod, 1992, 7:729-732.
- [74] Gareil M, Salobir C, Blondel B. Psychological consequences of having triplets: a 4-year follow-up study[J]. Fertil Steril, 1997, 67:1162-1165.
- [75] Chambers GM, Chapman MG, Grayson N, et al. Babies born after ART treatment cost more than non-ART babies: a cost analysis of inpatient birth-admission costs of singleton and multiple gestation pregnancies[J]. Hum Reprod, 2007, 22:3108-3115.
- [76] Vilska S, Unkila-Kallio L, Punamäki RL, et al. Mental health of mothers and fathers of twins conceived via assisted reproduction treatment: a 1-year prospective study[J]. Hum Reprod, 2009, 24:367.
- [77] Evans MI, Berkowitz RL, Wapner RJ, et al. Improvement in outcomes of multifetal pregnancy reduction with increased experience[J]. Am J Obstet Gynecol, 2001, 184:97-103.
- [78] Collopy KS. "I couldn't think that far": infertile women's decision making about multifetal reduction [J]. Res Nurs Health, 2004, 27:75-86.
- [79] Bergh C, Moller A, Nilsson L, et al. Obstetric outcome and psychological follow-up of pregnancies after embryo reduction [J]. Hum Reprod, 1999, 14:2170-2175.
- [80] Schreiner-Engel P, Walther VN, Mindes J, et al. First-trimester multifetal pregnancy reduction: acute and persistent psychologic reactions[J]. Am J Obstet Gynecol, 1995, 172(Pt 1):541-547.
- [81] Stone J, Ferrara L, Kamrath J, et al. Contemporary out-

- comes with the latest 1000 cases of multifetal pregnancy reduction (MPR) [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 199: 406. e401-e404.
- [82] Skiadas CC, Missmer SA, Benson CB, et al. Spontaneous reduction before 12 weeks' gestation and selective reduction similarly extend time to delivery in in vitro fertilization of trichorionic-triamniotic triplets[J]. *Fertil Steril*, 2011, 95: 596-599.
- [83] Cheang CU, Huang LS, Lee TH, et al. A comparison of the outcomes between twin and reduced twin pregnancies produced through assisted reproduction[J]. *Fertil Steril*, 2007, 88: 47-52.
- [84] Pandian Z, Bhattacharya S, Ozturk O, et al. Number of embryos for transfer following in-vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2009 (2): CD003416.
- [85] Grady R, Alavi N, Vale R, et al. Elective single embryo transfer and perinatal outcomes: a systematic review and metaanalysis[J]. *Fertil Steril*, 2012, 97: 324-331.
- [86] Lawlor DA, Nelson SM. Effect of age on decisions about the numbers of embryos to transfer in assisted conception: a prospective study[J]. *Lancet*, 2012, 379: 521-527.
- [87] Scotland GS, McLernon D, Kurinczuk JJ, et al. Minimising twins in in vitro fertilisation: a modeling study assessing the costs, consequences and cost-utility of elective single versus double embryo transfer over a 20-year time horizon [J]. *BJOG*, 2011, 118: 1073-1083.
- [88] van Heesch MM, Bonsel GJ, Dumoulin JC, et al. Long term costs and effects of reducing the number of twin pregnancies in IVF by single embryo transfer: the TwinSing study[J]. *BMC Pediatr*, 2010, 10: 75.
- [89] European Society of Human Reproduction and Embryology. Good clinical treatment in assisted reproduction. An ESHRE position paper[EB/OL]. Available at: <http://www.eshre.eu/~media/emagic%20files/Guidelines/Position%20Papers/GCT%20in%20ART.pdf>. Accessed on February 27, 2013.
- [90] Association of Clinical Embryologists, Bliss, British Fertility Society, British Infertility Counselling Association, Donor Conception Network, Endometriosis UK, et al. Multiple births from fertility treatment in the UK: a consensus statement[J]. *Hum Fertil (Camb)* 2011; 14: 151-3.
- [91] Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology, Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Elective single-embryo transfer[J]. *Fertil Steril*, 2012, 97: 835-842.
- [92] Min JK, Hughes E, Young D, et al. Elective single embryo transfer following in vitro fertilization. Society of Obstetricians and Gynaecologists Canada Clinical Practice Guideline, No. 241, April 2010[J]. *J Obstet Gynaecol Can*. 2010, 32: 363-377.
- [93] Joint SOGC-CFAS. Guidelines for the number of embryos to transfer following in vitro fertilization No. 182, September 2006[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2008, 102: 203-216.
- [94] Centers for Disease Control and Prevention. 2010 Assisted reproductive technology national summary report[EB/OL]. Available at: http://www.cdc.gov/art/ART2010/National-Summary_index.htm. Accessed on September 15, 2013.
- [95] Human Fertilisation & Embryology Authority. Fertility treatment in 2011: trends and figures. 2011[EB/OL]. Available at: http://www.hfea.gov.uk/docs/HFEA_Fertility_Trends_and_Figures_2011_-_Annual_Register_Report.pdf. Accessed on September 15, 2013.
- [96] Raising expectations: recommendations of the expert panel on infertility and adoption. 2009[EB/OL]. Available at <http://www.children.gov.on.ca/htdocs/english/documents/infertility/RaisingExpectationsEnglish.pdf>. Accessed on September 15, 2013.
- [97] Bissonnette F, Phillips SJ, Gunby J, et al. Working to eliminate multiple pregnancies: a success story in Quebec[J]. *Reprod Biomed Online*, 2011, 23: 500-504.
- [98] Bissonnette F. The first 6 months of IVF funding-Quebec [EB/OL]. Available at: http://www.cfas.ca/index.php?option=com_content&view=article&id=1123%3Afirst6-qc-en&catid=1014%3AQuebec&Itemid=691. Accessed on May 8, 2012.
- [99] Diamond MP, Singh M. Use of gonadotropins for initiation of singleton gestations in non-assisted reproductive technology cycles[J]. *Fertil Steril*, 2012, 97: 810-812.
- [100] Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Multiple gestation associated with infertility therapy: an American Society for Reproductive Medicine Practice Committee opinion[J]. *Fertil Steril*, 2012; 825-834.
- [101] Branum AM, Schoendorf KC. Changing patterns of low birthweight and preterm birth in the United States, 1981-98 [J]. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 2002, 16: 8-15.
- [102] Welmerink DB, Voigt LF, Daling JR, et al. Infertility treatment use in relation to selected adverse birth outcomes [J]. *Fertil Steril*, 2010, 94: 2580-2286.
- [103] Government of the United Kingdom. Fertility treatment in 2010—trends and figures by the Human Fertilisation and Embryology Authority. 2010. Available at: <http://data.gov.uk/dataset/human-fertilisationand-embryology-authority-fertility-treatment-2010-data>. Accessed on September 15, 2013.
- [104] McGovern PG, Llorens AJ, Skurnick JH, et al. Increased

- risk of preterm birth in singleton pregnancies resulting from in vitro fertilization-embryo transfer or gamete intrafallopian transfer; a meta-analysis[J]. *Fertil Steril*, 2004, 82: 1514-1520.
- [105] Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, et al. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis[J]. *Obstet Gynecol*, 2004, 103: 551-563.
- [106] McDonald SD, Murphy K, Beyene J, et al. Perinatal outcomes of singleton pregnancies achieved by in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Obstet Gynaecol Can*, 2005, 27(5): 449-459.
- [107] McDonald SD, Han Z, Mulla S, et al. Preterm birth and low birth weight among in vitro fertilization singletons: a systematic review and meta-analyses[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2009, 146: 138.
- [108] Klemetti R, Sevón T, Gissler M, et al. Health of children born as a result of in vitro fertilization[J]. *Pediatrics*, 2006, 118: 1819-1827.
- [109] Kapiteijn K de Bruijn CS, de Boer E, de Craen AJ, et al. Does subfertility explain the risk of poor perinatal outcome after IVF and ovarian hyperstimulation? [J]. *Hum Reprod*, 2006, 21: 3228-3234.
- [110] D'Angelo DV, Whitehead N, Helms K, et al. Birth outcomes of intended pregnancies among women who used assisted reproductive technology, ovulation stimulation, or no treatment[J]. *Fertil Steril*, 2011, 96: 314-320. e2.
- [111] Klemetti R, Sevón T, Gissler M, et al. Health of children born after ovulation induction[J]. *Fertil Steril*, 2010, 93: 1157-1168.
- [112] Phillips DP, Talaulikar D, Hawkins CA, et al. Utilisation of sFLC assays—how well do we comply with guidelines? [J]. *Int J Lab Hematol*, 2012, 35: 200-210.
- [113] Sazonova A, Kallen K, Thurin-Kjellberg A, et al. Factors affecting obstetric outcome of singletons born after IVF[J]. *Hum Reprod*, 2011, 26: 2878-2886.
- [114] 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: 2227-2238.
- [115] Pinborg A, Loft A, Aaris Henningsen AK, et al. Infant outcome of 957 singletons born after frozen embryo replacement: the Danish National Cohort Study 1995-2006 [J]. *Fertil Steril*, 2010, 94: 1320-1327.
- [116] 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[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25: 914-923.
- [117] Shih W, Rushford DD, Bourne H, et al. Factors affecting low birthweight after assisted reproduction technology: difference between transfer of fresh and cryopreserved embryos suggests an adverse effect of oocyte collection[J]. *Hum Reprod*, 2008, 23: 1644-1653.
- [118] Wennerholm UB, Söderström-Anttila V, Bergh C, et al. Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome data [J]. *Hum Reprod*, 2009, 24: 2158-2172.
- [119] Kalra SK, Ratcliffe SJ, Coutifaris C, et al. Ovarian stimulation and low birth weight in newborns conceived through in vitro fertilization[J]. *Obstet Gynecol*, 2011, 118: 863-871.
- [120] Henningsen AK, Pinborg A, Lidegaard O, et al. Perinatal outcome of singleton siblings born after assisted reproductive technology and spontaneous conception: Danish national sibling-cohort study[J]. *Fertil Steril*, 2011, 95: 959-963.
- [121] Nakashima A, Araki R, Tani H, et al. Implications of assisted reproductive technologies on term singleton birth weight: an analysis of 25,777 children in the national assisted reproduction registry of Japan[J]. *Fertil Steril*, 2013, 99: 450-455.
- [122] Griesinger G, Kolibianakis EM, Diedrich K, et al. Ovarian stimulation for IVF has no quantitative association with birthweight: a registry study[J]. *Hum Reprod*, 2008, 23: 2549-2554.
- [123] Imudia AN, Awonuga AO, Doyle JO, et al. Peak serum estradiol level during controlled ovarian hyperstimulation is associated with increased risk of small for gestational age and preeclampsia in singleton pregnancies after in vitro fertilization[J]. *Fertil Steril*, 2012, 97: 1374-1379.
- [124] Agarwal P, Loh SK, Lim SB, et al. Two-year neurodevelopmental outcome in children conceived by intracytoplasmic sperm injection: prospective cohort study[J]. *BJOG*, 2005, 112: 1376-1383.
- [125] Ludwig A, Katalinic A, Thyen U, et al. Neuromotor development and mental health at 5.5 years of age of singletons born at term after intracytoplasmic sperm injection ICSI: results of a prospective controlled single-blinded study in Germany[J]. *Fertil Steril*, 2009, 91: 125-132.
- [126] Knoester M, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP, et al. Perinatal outcome, health, growth, and medical care utilization of 5-to 8-year-old intracytoplasmic sperm injection singletons[J]. *Fertil Steril*, 2008, 89: 1133-1146.
- [127] Buckett WM, Chian RC, Holzer H, et al. Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation

- tion, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection[J]. *Obstet Gynecol*,2007,110:885-891.
- [128] Belva F, De Schrijver F, Tournaye H, et al. Neonatal outcome of 724 children born after ICSI using nonejaculated sperm[J]. *Hum Reprod*,2011,26:1752-1758.
- [129] Tsai CC, Huang FJ, Wang LJ, et al. Clinical outcomes and development of children born after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using extracted testicular sperm or ejaculated extreme severe oligo-astheno-teratozoospermia sperm: a comparative study[J]. *Fertil Steril*,2011,96:567-571.
- [130] Klatsky PC, Delaney SS, Caughey AB, et al. The role of embryonic origin in preeclampsia: a comparison of autologous in vitro fertilization and ovum donor pregnancies[J]. *Obstet Gynecol*,2010,116:1387-1392.
- [131] Gjerris AC, Loft A, Pinborg A, et al. First-trimester screening markers are altered in pregnancies conceived after IVF/ICSI[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*,2009,33:8-17.
- [132] Weisz B, Rodeck CH. An update on antenatal screening for Down's syndrome and specific implications for assisted reproduction pregnancies[J]. *Hum Reprod Update*,2006,12:513-518.
- [133] Calhoun KC, Barnhart KT, Elovitz MA, et al. Evaluating the association between assisted conception and the severity of preeclampsia [J]. *ISRN Obstet Gynecol* 2011; 2011: 928592. doi: 10.5402/2011/928592.
- [134] Sun LM, Walker MC, Cao HL, et al. Assisted reproductive technology and placenta-mediated adverse pregnancy outcomes[J]. *Obstet Gynecol*,2009,114:818-824.
- [135] Chen XK, Wen SW, Bottomley J, et al. In vitro fertilization is associated with an increased risk for preeclampsia[J]. *Hypertens Pregnancy*,2009,28:1-12.
- [136] Wiggins DA, Main E. Outcomes of pregnancies achieved by donor egg in vitro fertilization—a comparison with standard in vitro fertilization pregnancies[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2005,192:2002-2006.
- [137] Esh-Broder E, Ariel I, Abas-Bashir N, et al. Placenta accreta is associated with IVF pregnancies: a retrospective chart review[J]. *BJOG*,2011,118:1084-1089.
- [138] Healy DL, Breheny S, Halliday J, et al. Prevalence and risk factors for obstetric haemorrhage in 6730 singleton births after assisted reproductive technology in Victoria Australia[J]. *Hum Reprod*,2010,25:265-274.
- [139] Ross LE, McQueen K, Vigod S, et al. Risk for postpartum depression associated with assisted reproductive technologies and multiple births: a systematic review[J]. *Hum Reprod Update*,2011,17:96-106.
- [140] Blake DA, Farquhar CM, Johnson N, et al. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception[J]. *Cochrane Database Syst Rev*,2007(4):CD002118.
- [141] Chang HJ, Lee JR, Jee BC, et al. Impact of blastocyst transfer on offspring sex ratio and the monozygotic twinning rate: a systematic review and meta-analysis[J]. *Fertil Steril*,2009,91:2381-2390.
- [142] Kallen B, Finnstrom O, Lindam A, et al. Blastocyst versus cleavage stage transfer in in vitro fertilization: differences in neonatal outcome? [J]. *Fertil Steril*,2010,94:1680-1683.
- [143] Ponjaert-Kristoffersen I, Tjus T, Nekkebroeck J, et al. Psychological follow-up study of 5-year-old ICSI children [J]. *Hum Reprod*,2004,19:2791-2797.
- [144] Leunens L, Celestin-Westreich S, Bonduelle M, et al. Follow-up of cognitive and motor development of 10-year-old singleton children born after ICSI compared with spontaneously conceived children [J]. *Hum Reprod*, 2008, 23: 105-111.
- [145] Ludwig AK, Katalinic A, Thyen U, et al. Physical health at 5.5 years of age of term-born singletons after intracytoplasmic sperm injection: results of a prospective, controlled, single-blinded study[J]. *Fertil Steril*,2009,91:115-124.
- [146] Brinton LA, Krüger Kjaer S, Thomsen BL, et al. Childhood tumor risk after treatment with ovulationstimulating drugs[J]. *Fertil Steril*,2004,81:1083-1191.
- [147] Schieve LA, Rasmussen SA, Buck GM, et al. Are children born after assisted reproductive technology at increased risk for adverse health outcomes? [J]. *Obstet Gynecol*, 2004, 103:1154-1163.
- [148] Ericson A, Kallen BA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in early pregnancy[J]. *Reprod Toxicol*,2001,15:371-375.
- [149] Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L, et al. Incidence of congenital malformations in children born after ICSI[J]. *Hum Reprod*,2000,15:944-948.
- [150] Reefhuis J, Honein MA, Schieve LA, et al. Assisted reproductive technology and major structural birth defects in the United States[J]. *Hum Reprod*,2009,24:360-366.
- [151] Wen SW, Leader A, White RR, et al. A comprehensive assessment of outcomes in pregnancies conceived by in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*,2010,150:160-165.
- [152] Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, et al. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization[J]. *N Engl J Med*,2002,346:725-730.
- [153] Katalinic A, Rösch C, Ludwig M, et al. Pregnancy course and outcome after intracytoplasmic sperm injection: a controlled, prospective cohort study[J]. *Fertil Steril*,2004,81:

- 1604-1616.
- [154] Chen T, McDonald A, Shadbolt B, et al. Precision of histological bone marrow staging in follicular lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Clin Invest Med*, 2012, 35: E358.
- [155] Bonduelle M, Van Assche E, Joris H, et al. Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters[J]. *Hum Reprod*, 2002, 17: 2600-2614.
- [156] Feng C, Wang LQ, Dong MY, et al. Assisted reproductive technology may increase clinical mutation detection in male offspring[J]. *Fertil Steril*, 2008, 90: 92-96.
- [157] Chitayat D, Langlois S, Wilson RD, et al. Prenatal screening for fetal aneuploidy in singleton pregnancies. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada Clinical Practice Guideline, No. 261, July 2011[J]. *J Obstet Gynaecol Can*, 2011, 33: 736-750.
- [158] Ranta JK, Raatikainen K, Romppanen J, et al. Increased time-to-pregnancy and first trimester Down's syndrome screening[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25: 412-417.
- [159] Amor DJ, Xu JX, Halliday JL, et al. Pregnancies conceived using assisted reproductive technologies (ART) have low levels of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) leading to a high rate of false-positive results in first trimester screening for Down syndrome[J]. *Hum Reprod*, 2009, 24: 1330-1338.
- [160] Shulman LP, Phillips OP, Cervetti TA. Maternal serum analyte levels after first-trimester multifetal pregnancy reduction[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1996, 174: 1072-1074.
- [161] Shulman A, Maymon R. Mid-gestation Down syndrome screening test and pregnancy outcome among unstimulated assisted-conception pregnancies[J]. *Prenat Diagn*, 2003, 23: 625-628.
- [162] Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo[J]. *Lancet*, 1978, 2: 366.
- [163] Zeilmaker GH, Alberda AT, van Gent I, et al. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos [J]. *Fertil Steril*, 1984, 42: 293-296.
- [164] Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte[J]. *Lancet*, 1992, 340: 17-18.
- [165] Ishida M, Moore GE. The role of imprinted genes in humans[J]. *Mol Aspects Med*, 2013, 34: 826-840.
- [166] Iliadou AN, Janson PC, Cnattingius S. Epigenetics and assisted reproductive technology[J]. *J Intern Med*, 2011, 270: 414-420.
- [167] Wilkins-Haug L. Epigenetics and assisted reproduction[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2009, 21: 201-206.
- [168] Lim DH, Maher ER. Genomic imprinting syndromes and cancer[J]. *Adv Genet*, 2010, 70: 145-175.
- [169] Savage T, Peek J, Hofman PL, et al. Childhood outcomes of assisted reproductive technology[J]. *Hum Reprod*, 2011, 26: 2392-2400.
- [170] Colls P, Escudero T, Fischer J, et al. Validation of array comparative genome hybridization for diagnosis of translocations in preimplantation human embryos[J]. *Reprod Biomed Online*, 2012, 24: 621-629.
- [171] Fiorentino F, Spizzichino L, Bono S, et al. PGD for reciprocal and Robertsonian translocations using array comparative genomic hybridization[J]. *Hum Reprod*, 2011, 26: 1925-1935.
- [172] Liebaers I, Desmyttere S, Verpoest W, et al. Report on a consecutive series of 581 children born after blastomere biopsy for preimplantation genetic diagnosis[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25: 275-282.
- [173] Middelburg KJ, van der Heide M, Houtzager B, et al. Mental, psychomotor, neurologic, and behavioral outcomes of 2-year-old children born after preimplantation genetic screening: follow-up of a randomized controlled trial[J]. *Fertil Steril*, 2011, 96: 165-169.
- [174] Schendelaar P, Middelburg KJ, Bos AF, et al. The effect of preimplantation genetic screening on neurological, cognitive and behavioural development in 4-year-old children: follow-up of a RCT[J]. *Hum Reprod*, 2013, 28: 1508-1518.
- [175] Audibert F, SOGC Genetics Committee. Preimplantation genetic testing. Society of Obstetricians and Gynaecologists Canada, Technical Update No. 232, August 2009 [J]. *J Obstet Gynaecol Can*, 2009, 31: 761-775.
- [176] Woolf SH, Battista RN, Angerson GM, et al. Canadian Task Force on Preventive Health Care. New grades for recommendations from the Canadian Task Force on Preventive Health Care[J]. *CMAJ*, 2003, 169: 207-208.

李炎焱 译
刘勇 校