

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ»

Διευθυντής Προγράμματος: Καθηγητής Π. Δρακάκης MD, PhD



**«ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
IVF ΚΥΗΣΕΩΝ»**

Μεταπτυχιακή εργασία

ΚΟΙΛΙΑ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ»

Διευθυντής Προγράμματος: Καθηγητής Π. Δρακάκης MD, PhD

**«ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
IVF ΚΥΗΣΕΩΝ»**

Μεταπτυχιακή εργασία

ΚΟΙΛΙΑ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΣΤΑΥΡΟΣ ΣΟΦΟΚΛΗΣ - ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΕΚΠΑ

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ: ΚΑΛΑΜΠΟΚΑΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ - ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΕΚΠΑ

ΠΟΤΗΡΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ-ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΟΣ ΙΑΤΡΟΣ, ΜΙΥΑ, Γ' Μ-Γ ΚΛΙΝΙΚΗΣ «ΑΤΤΙΚΟΝ»

ΑΘΗΝΑ 2023

Στην οικογένεια μου.....

Περίληψη

Στη βιβλιογραφία, υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι οι κυήσεις που προέρχονται από τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έχουν αυξημένο κίνδυνο περιγεννητικών επιπλοκών. Επιπλέον, οι θεραπείες που χρησιμοποιούνται στις τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής περιλαμβάνουν πολλούς κλινικούς και βιολογικούς παράγοντες κινδύνου. Αυτή η διπλωματική εργασία στοχεύει να συνοψίσει με συστηματικό τρόπο τα τρέχοντα στοιχεία σχετικά με την επίδραση των διαφορετικών διαδικασιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής τεχνολογίας στον κίνδυνο περιγεννητικής έκβασης. Μια βιβλιογραφική αναζήτηση πραγματοποιήθηκε στο PubMed, Scopus, Science Direct, Web of Science και στο Google Scholar και μια ιεραρχία βασισμένη σε στοιχεία χρησιμοποιήθηκε για να καθοριστεί ποια άρθρα θα συμπεριληφθούν και θα αναλυθούν. Αποκλείστηκαν δεδομένα για μητρικούς παράγοντες πριν από την εγκυμοσύνη, παρεμβάσεις χαμηλής τεχνολογίας, ειδικές διαδικασίες ανδρικού παράγοντα, μεταμόσχευση ιστού ωοθηκών/ωοθηκών και μήτρας. Η τρέχουσα εργασία υπογραμμίζει ότι κάθε διαδικασία υποβοηθούμενης αναπαραγωγής μπορεί να διαδραματίσει κρίσιμο ρόλο στην αύξηση του κινδύνου περιγεννητικών επιπλοκών, ωστόσο η απόλυτη αύξηση του κινδύνου είναι γενικά χαμηλή.

Λέξεις Κλειδιά: Τεχνολογίες Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής, Εξωσωματική γονιμοποίηση, ICSI, Περιγεννητικά Αποτελέσματα, Επιπλοκές

Abstract

In the literature, there is increasing evidence that pregnancies resulting from assisted reproductive technologies have an increased risk of perinatal complications. In addition, the treatments used in assisted reproductive technologies involve many clinical and biological risk factors. This thesis aims to summarize in a systematic way the current evidence on the impact of different assisted reproductive technology procedures on the risk of perinatal outcome. A literature search was performed in PubMed, Scopus, Science Direct, Web of Science and Google Scholar and an evidence-based hierarchy was used to determine which articles to include and analyze. Data on maternal factors prior to pregnancy, low-tech interventions, male factor-specific procedures, ovarian/ovarian and uterine tissue transplantation were excluded. The current work highlights that each assisted reproductive procedure can play a critical role in increasing the risk of perinatal complications, however the absolute increase in risk is generally low.

Keywords: Assisted Reproductive Technologies, IVF, ICSI, Perinatal Outcomes, Complications

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή	8
2. Ανάπτυξη των τεχνολογιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και η συμβολή τους στην αναπαραγωγική υγεία	9
3. Επίπτωση των τεχνικών ART στην εγκυμοσύνη	11
3.1 Ορμονικές και επιγενετικές αλλαγές	11
3.2 Υπερτασικές διαταραχές.....	13
3.3 Σακχαρώδης διαβήτης κύησης	14
3.4 Φλεβική θρομβοεμβολή	15
3.5 Πρόωρος τοκετός.....	15
3.6 Διαταραχές στον πλακούντα.....	16
4. Μεθοδολογία.....	17
4. Τεχνικές ART και περιγεννητικά αποτελέσματα	19
4.1 Διέγερση ωοθηκών	19
4.2 Καλλιεργητικά υλικά στις εμβρυολογικές διαδικασίες	20
4.3 Στάδιο ανάπτυξης εμβρύου και εμβρυομεταφορά	21
4.4 In vitro ωρίμανση ωαρίων.....	22
4.5 Αριθμός εμβρύων για εμβρυομεταφορά	24
4.6 Εμβρυομεταφορά με φρέσκα και κρυοσυντηρημένα έμβρυα.....	25
4.7 Ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI)	27
4.8 Προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος (PGT).....	28
4.9 Δωρεά γαμετών και εμβρύων	29
4.10 Παρένθετη μητρότητα	33
5. Περιγεννητικά αποτελέσματα IVF κύσεων.....	35
5.1 Χαμηλό βάρος γέννησης νεογνών.....	35
5.2 Μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό	36
5.3 Συγγενείς ανωμαλίες και διαταραχές αποτύπωσης.....	36
6. Μακροπρόθεσμα αποτελέσματα σε παιδιά	39
7. Συμπεράσματα.....	43
8. Βιβλιογραφία	46

Συντομογραφίες

Συντομογραφία	Ερμηνεία
ART	Artificial Reproductive Technology = Τεχνολογίες Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής
IVF	In vitro fertilization = Εξωσωματική γονιμοποίηση
ICSI	Intracytoplasmic Sperm Injection = Ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor = Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας
SGA	Small for Gestational Age=Μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό
LBW	Low Birth Weight = Χαμηλό βάρος γέννησης
HDL	High-density Lipoprotein = Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας χοληστερόλης
DHEA	Dehydroepiandrosterone = Δεϋδροεπιανδροστερόνη
LH	Lutenizing hormone = Ωχρινοτρόπος ορμόνη
PGD	Preimplantation genetic diagnosis = Προεμφυτευτική γενετική διάγνωση
PGT	Preimplantation Genetic esting = Προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος
OHSS	Ovarian Hyperstimulation syndrome = Σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών
IVM	In Vitro Maturation = In vitro ωρίμανση ωαρίων
FSH	Follicle Stimulating Hormone = Ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη
hCG	Human Chorionic Gonadotropin = Ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη
GDM	Gestational diabetes mellitus = Σακχαρώδης διαβήτης κύησης
PCOS	Polycystic ovary syndrome = Σύνδρομο Πολυκυστικών ωοθηκών

1. Εισαγωγή

Ο απώτερος στόχος των τεχνολογιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) είναι η αποτελεσματική επίτευξη υγιών ζωντανών γεννήσεων. Έχει παρατηρηθεί ότι διάφορες διαδικασίες και υλικά που σχετίζονται με την ART μπορεί να αυξήσουν τον κίνδυνο ανεπιθύμητων περιγεννητικών εκβάσεων (*Kissin D.M. et al. 2014, Kleijkers S.H. et al. 2014, Palomba S. et al. 2016, Zandstra H. et al. 2018, Rodriguez-Wallberg K.A. et al. 2022*). Από τη γέννηση της Louise Brown το 1978, υπολογίζεται ότι πάνω από 6 εκατομμύρια παιδιά έχουν συλληφθεί μέσω διαφορετικών τεχνικών ART (*Hann M. et al. 2018*). Ενώ η πλειονότητα αυτών των παιδιών ART φαίνεται να είναι υγιή, μια υψηλότερη συχνότητα ορισμένων συγγενών ανωμαλιών, πρόωρου τοκετού και μικρών νεογνών για την ηλικία κύησης παρατηρήθηκε στις κύσεις ART (*Vermeiden J.P. & Bernardus R.E. 2013, Cavoretto P. et al. 2018, Luke B. et al. 2019, Glatthorn H.N. et al. 2021*). Το τελευταίο πρόβλημα προκαλεί αυξανόμενη ανησυχία, καθώς το βάρος γέννησης είναι δείκτης για την ανάπτυξη του εμβρύου και ισχυρός προγνωστικός παράγοντας καρδιο-μεταβολικών κινδύνων σε μακροχρόνιες παρακολουθήσεις (*Valenzuela-Alcaraz B. et al. 2013, Pontesilli M. et al. 2015*).

Οι υποκείμενες αιτιολογίες των δυσμενών περιγεννητικών εκβάσεων που παρατηρούνται στις κύσεις ART είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστες, αλλά οι παράγοντες που συμβάλλουν μπορεί να περιλαμβάνουν τις πολύδυμες κύσεις, την υπογονιμότητα του ζευγαριού, τη χρήση ορμονικής διέγερσης και τη χρήση διαφόρων τεχνικών ART (*Pinborg A. 2013, Qin J. et al. 2017, Kamath M.S. et al. 2018, Cai J. et al. 2019*). Επιπλέον, η ηλικία της μητέρας, το κάπνισμα, ο υψηλός ΔΜΣ και η διάρκεια της υπογονιμότητας έχουν επίσης αναφερθεί ότι αυξάνουν τον κίνδυνο χαμηλού βάρους γέννησης (*Stojnic J. et al. 2013, Berntsen S. et al. 2019*). Ακόμη και από την ίδια μητέρα, τα παιδιά που είχαν συλληφθεί με τεχνικές ART είχαν χειρότερη έκβαση σε σύγκριση με τα αδέρφια τους που είχαν συλληφθεί φυσικά (*Pinborg A. 2013*).

Ο στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι να επανεξετάσει διεξοδικά και με συστηματικό τρόπο τα μέχρι τώρα δημοσιευμένα περιγεννητικά αποτελέσματα των κύσεων που έχουν συλληφθεί μέσω των τεχνικών ART. Επικεντρώνεται στα αποτελέσματα που φέρουν οι διάφορες διαδικασίες ART για να διευκρινιστεί η συμβολή τους στους περιγεννητικούς κινδύνους.

2. Ανάπτυξη των τεχνολογιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και η συμβολή τους στην αναπαραγωγική υγεία

Στις 10 Νοεμβρίου 1977, επιτεύχθηκε για πρώτη φορά λαπαροσκοπική ωοληψία, εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) και ανάπτυξη εμβρύου σε μέσο καλλιέργειας, ακολουθούμενη από την πρώτη επιτυχημένη μεταφορά εμβρύου 8 κυττάρων στη μήτρα. Οκτώ μήνες αργότερα, στις 25 Ιουλίου 1978, το πρώτο μωρό εξωσωματικής γονιμοποίησης γεννήθηκε με καισαρική τομή και δημιουργήθηκε ένα υγιές θηλυκό μωρό βάρους 2700γρ (*Steptoe P.C. & Edwards R.G. 1978*). Στη συνέχεια, η τεχνολογία υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) αποτέλεσε ένα εναλλακτικό εργαλείο για την ανθρώπινη αναπαραγωγή και εισήλθε σε μια φάση ταχείας ανάπτυξης. Η πρώτη επιτυχημένη εγκυμοσύνη μετά από κατεψυγμένη εμβρυομεταφορά αναφέρθηκε το 1983 (*Trounson A. & Mohr L. 1983*) και ο πρώτος επιτυχής τοκετός μέσω παρένθετης μητρότητας αναφέρθηκε το 1985 (*Utian W.H. et al. 1985*). Το 1988 γεννήθηκε το πρώτο παιδί μετά από δωρεά ωαρίων (*Devroey P. et al. 1988*). Το 1990, ο προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος (PGT) χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά για τη γενετική ανάλυση του χρωμοσώματος X σε ανθρώπινα έμβρυα για την αποφυγή ανωμαλιών του χρωμοσώματος X (*Handyside A.H. et al. 1990*). Το 1992, η ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI) πραγματοποιήθηκε με επιτυχία σε ανθρώπους (*Palermo G. et al. 1992*). Το 1999, η κρυοσυντήρηση όλων των εμβρύων που δημιουργήθηκαν σε έναν διεγερμένο κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης για μετέπειτα μεταφορά σε έναν μη διεγερμένο κύκλο προτάθηκε ως μια νέα προσέγγιση για τη μείωση του κινδύνου του συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών (*Ferraretti A.P. et al. 1999*). Στη συνέχεια, η σκοπιμότητα της εκλεκτικής μεταφοράς ενός μόνο εμβρύου προτάθηκε για πρώτη φορά το 2001 (*Tiitinen A. et al. 2001*).

Σήμερα, η ART έχει γίνει μια κύρια θεραπεία για τη υπογονιμότητα και η συμβολή της στα συνολικά ποσοστά γεννήσεων αυξάνεται σταθερά, αντιπροσωπεύοντας τη γέννηση έως και 8% των παιδιών σε ορισμένες χώρες (*Wyns C. et al. 2020*). Ωστόσο, τα ποσοστά χρήσης ART ποικίλλουν ευρέως από χώρα σε χώρα λόγω της ύπαρξης διαφορετικών κανονισμών και συστημάτων ασφάλισης υγείας (*Chambers G.M. et al. 2014, Prag P. & Mills M. 2017*).

Με την ηλικία γάμου και σύλληψης να αυξάνεται και τα ποσοστά γονιμότητας να μειώνονται, η ART προσφέρει πιο ολοκληρωμένη κάλυψη και ελπίδα σε ασθενείς με υπογονιμότητα. Ωστόσο, παρά τις συνεχείς τεχνολογικές βελτιώσεις, η ART δεν μπορεί να αντισταθμίσει πλήρως τη μείωση της γυναικείας αναπαραγωγικής απόδοσης που σχετίζεται με την ηλικία, επειδή η αποτελεσματικότητα της ART μειώνεται με την ηλικία (*Sartorius G.A. & Nieschlag E. 2010, Leridon H. 2017, McCarter K. et al. 2021*). Παρόλα αυτά, οι τεχνικές ART παρέχουν και εναλλακτικές θεραπευτικές επιλογές όπως, η κρυοσυντήρηση ωαρίων ή η χρήση ωαρίων τρίτων από νεότερους δότες διευρύνοντας το αναπαραγωγικό δυναμικό των γυναικών.

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί ότι, η συμβολή της ART αποκτά σημασία και για την πληθυσμιακή πολιτική. Η υποβοηθούμενη αναπαραγωγή περιλαμβάνεται πλέον τακτικά μεταξύ των πολιτικών απαντήσεων στα χαμηλά ποσοστά γονιμότητας (*Sobotka T. et al. 2019, McCurry J.2020, Gray E. et al. 2021*) και σε ορισμένες χώρες οι κυβερνήσεις ήδη αποζημιώνουν την ART με συγκεκριμένο στόχο να αυξήσουν το ποσοστό γονιμότητας (*Birenbaum-Carmeli D. & Dirnfeld M. 2008, Blyth E. et al. 2013, Kim S. 2019*). Ωστόσο, τα εμπειρικά στοιχεία σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο η ART επηρεάζει τις τάσεις γονιμότητας είναι ακόμη περιορισμένα.

3. Επίπτωση των τεχνικών ART στην εγκυμοσύνη

3.1 Ορμονικές και επιγενετικές αλλαγές

Στην εξωσωματική γονιμοποίηση, τα ωάρια και τα έμβρυα εκτίθενται συνήθως σε υπερφυσιολογικά επίπεδα οιστραδιόλης, η οποία παράγεται από τις ωοθήκες ως απόκριση στις ενέσιμες γοναδοτροπίνες. Τα επίπεδα του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) αυξάνονται επίσης σε ανθρώπους και ποντίκια μετά από διέγερση των ωοθηκών και μπορεί να έχουν αρνητικό αντίκτυπο στην ανάπτυξη του πλακούντα (*Licht P. et al. 2002, Mainigi M.A. et al. 2014*). Επιπλέον, τόσο οι θηλυκοί όσο και οι αρσενικοί γαμέτες χειραγωγούνται κατά την ανάκτηση ωαρίων και την καλλιέργεια εμβρύων, εκθέτοντας γαμέτες και έμβρυα σε ένα αλλοιωμένο περιβάλλον την πρώιμη και, ίσως, την πιο ευαίσθητη περίοδο. Αυτές οι αλλαγές στο περιβάλλον των γαμετών ενδέχεται να προάγουν αλλαγές που οδηγούν σε δυσμενή περιγεννητικά αποτελέσματα. Οι μηχανισμοί με τους οποίους προκύπτουν δυσμενή αποτελέσματα από χειρισμούς του περιβάλλοντος γαμετών είναι άγνωστοι και πιθανώς πολυπαραγοντικοί, αλλά η επιγενετική τροποποίηση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη των εμβρύων μπορεί να διαδραματίσει κάποιο ρόλο. Μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι ακόμη και ελλείψει υπογονιμότητας, οι διαδικασίες και οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της εξωσωματικής γονιμοποίησης μπορεί να οδηγήσουν σε επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες κατ'επέκταση οδηγούν σε μακροπρόθεσμες αλλαγές στην ανάπτυξη και στον μεταβολισμό των απογόνων (*Mainigi M.A. et al. 2014 & 2016, de Waal E. et al. 2015, Song S. et al. 2015*).

Η επιγενετική περιλαμβάνει μοριακούς μηχανισμούς όπως, η μεθυλίωση του DNA και/ή η τροποποίηση ιστόνης της χρωματίνης που οδηγούν σε αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση και στα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά. Η αποτύπωση είναι ένα επιγενετικό φαινόμενο στο οποίο η έκφραση των δύο αλληλόμορφων ενός γονιδίου καθορίζεται από το φύλο του γονέα από το οποίο προέρχεται. Οι επιγενετικές προσαρμογές σε ένα αγγωτικό περιβάλλον ενδομήτριας ή εμβρυϊκής καλλιέργειας είναι πιθανό να οδηγήσουν σε μακροπρόθεσμες επιπτώσεις όπως φαίνεται σε αρκετές μελέτες σε ανθρώπους και ζώα (*Roseboom T.J. et al. 2000, Donjacour A. et al. 2014*). Οι συνθήκες εμβρυοκαλλιέργειας έχει αποδειχθεί σε ποντίκια ότι μεταβάλλουν την έκφραση του εντυπωμένου γονιδίου h19, το οποίο είναι ρυθμιστής της ανάπτυξης (*Doherty A.S. et al.*

2000). Η έκφραση ενός άλλου εντυπωμένου γονιδίου, του Grb10, έχει αναφερθεί ότι είναι αυξημένη στον πλακούντα των εμβρύων που υποβλήθηκαν σε ορμονική διέγερση και τεχνικές ART. Το Grb10 είναι ένας αρνητικός ρυθμιστής ανάπτυξης και η αύξηση του παρατηρείται σε έμβρυα με περιορισμένη ανάπτυξη (Mainigi M.A. et al. 2014). Οι εξωγενείς γοναδοτροπίνες που χορηγούνται στην ωοθήκη κατά την ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών προκαλούν επιγενετικές αλλαγές στα γονίδια *reg1*, *kcnq1ot1*, *zac* (*Zac1*) και *h19* (Ventura-Junca P. et al. 2015). Το *Zac1* παίζει σημαντικό ρόλο στην ηρεμία, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των νευρικών βλαστοκυττάρων (Daniel G. et al. 2015). Οποιαδήποτε διαφοροποίηση στην έκφραση του *Zac1* (υπερέκφραση ή υποέκφραση) έχει αναφερθεί ότι συσχετίζεται με μειωμένους ρυθμούς ανάπτυξης και διανοητική αναπηρία (Adnani L. et al. 2015). Επίσης και η αλλοιωμένη μεθυλίωση των *kcnq1ot1* και *h19* αναφέρθηκε σε παιδιά με διανοητική αναπηρία (Mayo S. et al. 2015). Οι επιγενετικές βλάβες της μεθυλίωσης του DNA σχετίζονταν επίσης με παιδιατρική οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία προ-B κυττάρων (Wong N.C. et al. 2012). Τόσο σε πειράματα ζώων (Rexhaj E. et al. 2013) όσο και σε ανθρώπων (Rexhaj E. et al. 2018) που υποβλήθηκαν σε τεχνικές ART, παρατηρήθηκε ότι οι αλλοιωμένες μεθυλώσεις του γονιδίου της συνθάσης του ενδοθηλιακού μονοξειδίου του αζώτου (eNOS) οδηγούν σε μειωμένη αγγειακή σύνθεση NO στην αορτή και η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και η αυξημένη ακαμψία οδηγούν σε αρτηριακή υπέρταση. Μια άλλη μελέτη σε ποντίκια έδειξε μειωμένη μεθυλίωση DNA στην περιοχή ελέγχου αποτύπωσης *H19/Igf2* στον εμβρυϊκό εγκέφαλο και στο ήπαρ ενός στελέχους ποντικών που υποβλήθηκαν σε τεχνικές ART, αλλά τα επίπεδα μεθυλίωσης σε αυτή την περιοχή παρέμειναν αμετάβλητα σε άλλο στέλεχος ποντικού (de Waal E. et al. 2015). Συνολικά, τα δεδομένα από τις μελέτες παρέχουν πειστικές αποδείξεις ότι συμβαίνουν επιγενετικές αλλαγές κατά τη διαδικασία της εξωσωματικής γονιμοποίησης και μπορεί να αλλάξουν τον φαινότυπο του εμβρύου και τη μακροπρόθεσμη υγεία. Το γεγονός ότι αυτές οι αλλαγές δεν εκδηλώνονται πάντα κατά κόρον, συνάδει με τη θεωρία ότι μόνο ένα υποσύνολο παιδιών που έχουν συλληφθεί με εξωσωματική γονιμοποίηση εμφανίζουν δυσμενή αποτελέσματα.

3.2 Υπερτασικές διαταραχές

Οι υπερτασικές διαταραχές είναι μια από τις πιο συχνές επιπλοκές της εγκυμοσύνης και αιτίες μητρικής νοσηρότητας και θνησιμότητας (Chih H.J. et al. 2021). Οι υπερτασικές διαταραχές στην εγκυμοσύνη περιλαμβάνουν υπέρταση κύησης, προεκλαμψία και εκλαμψία. Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι οι κυήσεις από κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης υπερτασικών διαταραχών σε σύγκριση με τις κυήσεις από φυσική σύλληψη, ανεξάρτητα από το εάν είναι μονήρεις ή πολύδυμες κυήσεις (Ishihara O. et al. 2014, Qin J. et al. 2015, Thomopoulos C. et al. 2017, Sites C.K. et al. 2017, Wong K.M. et al. 2017, Sha T. et al. 2018, Roque M. et al. 2019, Almasi-Hashiani A. et al. 2019, Luke B. et al. 2020a, Gui J. et al. 2020, Chih H.J. et al. 2021).

Οι τύποι ART και τα πρωτόκολλα θεραπείας φαίνεται να παίζουν κρίσιμο ρόλο στις στα μητρικά και περιγεννητικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα, μια μελέτη ανέφερε υπερδιπλάσια αύξηση του κινδύνου εμφάνισης υπερτασικών διαταραχών σε έγκυες γυναίκες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία ICSI με σπέρμα που ελήφθη χειρουργικά σε σύγκριση με εκείνες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία κλασσικής IVF (Wang J.X. et al. 2002). Ωστόσο, μία πιο πρόσφατη μελέτη παρατήρησε ότι οι εγκυμοσύνες IVF/ICSI (ανεξαρτήτως λήψης σπέρματος), έχουν υψηλότερες πιθανότητες εμφάνισης υπερτασικών διαταραχών από τις εγκυμοσύνες με φυσική σύλληψη (Chih H.J. et al. 2021). Επιπλέον, στην ίδια μελέτη επισημάνθηκε ότι, οι πιθανότητες ήταν ιδιαίτερα πιο υψηλές στις κυήσεις από κύκλους εμβρυομεταφοράς καταψυγμένων εμβρύων αλλά και από κύκλους δωρεάς ωαρίων. Ανάλογα αποτελέσματα για τους κύκλους εμβρυομεταφοράς καταψυγμένων εμβρύων και για τους κύκλους δωρεάς ωαρίων έχουν επιβεβαιωθεί και από άλλες προγενέστερες μελέτες (Opdahl S. et al. 2015, Wong K.M. et al. 2017, Sha T. et al. 2018, Roque M. et al. 2019, Ginstrom Ernsstad E. et al. 2019, Luke B. et al. 2020a). Ο μηχανισμός που κρύβεται πίσω από τον πιθανό κίνδυνο μεταφοράς κατεψυγμένων εμβρύων και ωαρίων δότη στις υπερτασικές διαταραχές παραμένει ασαφής. Μια πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να είναι ότι οι κύκλοι εμβρυομεταφοράς καταψυγμένων εμβρύων και ωαρίων δότη συνήθως χρησιμοποιούν πρωτόκολλα στα οποία χορηγούνται οιστραδιόλη και προγεστερόνη για την ανάπτυξη του ενδομητρίου και δεν υπάρχει σχηματισμός ωχρού σωματίου τη στιγμή που ξεκινά η εγκυμοσύνη (Conrad K.P. & Baker V.L 2013). Τα αναδυόμενα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η απουσία του ωχρού σωματίου σχετίζεται με την έλλειψη κυκλοφορούσας

χαλαρίνης, μειώνοντας έτσι την αύξηση της συμμόρφωσης της κεντρικής αρτηρίας (Conrad K.P. 2011, Von Versen-Hoynck F. et al. 2019a & 2019b) και αυξάνοντας τον κίνδυνο για υπερτασικές διαταραχές στην εγκυμοσύνη (Von Versen-Hoynck F. et al. 2019, Ginstrom Ernstad E. et al. 2019).

3.3 Σακχαρώδης διαβήτης κύησης

Ο σακχαρώδης διαβήτης κύησης (GDM) έχει επίσης μελετηθεί ως έκβαση σε κυήσεις από κύκλους ART, επειδή προδιαθέτει υψηλότερο κίνδυνο υπέρτασης κατά την εγκυμοσύνη, μακροσωμία του εμβρύου και καισαρικό τοκετό (*Practice Bulletin No.137, 2013*). Έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει αυξημένη συχνότητα εμφάνισης GDM σε εγκυμοσύνες που έχουν συλληφθεί μέσω ART. Μια συγχρονική μελέτη με 215 φυσικές εγκυμοσύνες και 145 εγκυμοσύνες μέσω ART (95 εγκυμοσύνες IVF/ICSI και 50 εγκυμοσύνες IUI) εξαιρώντας ασθενείς με καταστάσεις που μπορεί να συγχέουν, συμπεριλαμβανομένης της διάγνωσης PCOS, ηλικίας της μητέρας 40 ετών και άνω, ιστορικού διαβήτη σε συγγενή πρώτου βαθμού, ο διαβήτης πριν από την εγκυμοσύνη, το ιστορικό GDM και η προηγούμενη γέννηση ενός μακροσωμικού βρέφους, προσδιόρισαν ότι η επίπτωση του GDM στις κυήσεις IVF/ICSI ήταν 43% υψηλότερη σε σύγκριση με τις φυσικές εγκυμοσύνες (*Ashrafi M. et al. 2014*). Μια μετα-ανάλυση συνέκρινε τις μονήρεις κυήσεις μέσω ART με αυτές που συνέλαβαν φυσικά και έδειξε ότι η υποβοηθούμενη αναπαραγωγή συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο GDM. Αυτός ο κίνδυνος είναι υψηλότερος στην ομάδα της εξωσωματικής γονιμοποίησης σε σύγκριση με την ομάδα της ενδοκυτταροπλασματικής έγχυσης σπέρματος (ICSI) (*Bosdou J.K. et al. 2020*). Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης GDM στον πληθυσμό ART σε μονήρεις κυήσεις. Ο αυξημένος κίνδυνος μπορεί να οφείλεται στο ότι οι γυναίκες τείνουν να είναι μεγαλύτερες όταν αναζητούν θεραπεία υπογονιμότητας και επομένως διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο για GDM λόγω της προχωρημένης ηλικίας. Άλλες μελέτες υποδεικνύουν ότι η ίδια η διάγνωση της υπογονιμότητας μπορεί να εγκυμονεί κινδύνους (*Qin J. et al. 2017*). Ωστόσο, ακόμη και μετά τον έλεγχο των παραγόντων σύγχυσης, μια συσχέτιση μεταξύ ART και GDM παραμένει, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι ίδιες οι διαδικασίες ART μπορεί να συμβάλλουν σε αλλαγές σε μοριακό επίπεδο που προδιαθέτουν στην ανάπτυξη GDM.

3.4 Φλεβική θρομβοεμβολή

Η ART έχει αποδειχθεί ότι διπλασιάζει τον κίνδυνο φλεβική θρομβοεμβολή κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και ιδιαίτερα κατά το πρώτο τρίμηνο κύησης (*Henriksson P. et al. 2013*). Σε αντίθεση με την υπέρταση, την προεκλαμψία και το διαβήτη κύησης, η ART θεωρείται η ίδια παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη φλεβικής θρομβοεμβολής στην εγκυμοσύνη (*Richardson A. et al. 2020*).

3.5 Πρόωρος τοκετός

Φαίνεται ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος πρόωρου τοκετού σε παιδιά που έχουν συλληφθεί μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση. Μια μετα-ανάλυση παρατήρησε 22 μελέτες συμπεριλαμβανομένων 27.819 κυήσεων IVF/ICSI και βρήκε υψηλότερο κίνδυνο τοκετού <37 εβδομάδων σε παιδιά που συνελήφθησαν με IVF/ICSI σε σύγκριση με παιδιά που συνελήφθησαν χωρίς ιατρική βοήθεια (*Pandey S. et al. 2012*). Σε μια μελέτη κοόρτης που συνέκρινε τα μαιευτικά και περιγεννητικά αποτελέσματα σε 1260 γυναίκες που συνέλαβαν μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση με 2480 γυναίκες που συνέλαβαν φυσικά, παρατήρησε ότι οι κυήσεις μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση παρουσίασαν υψηλότερο ποσοστό πρόωρων τοκετών (*Qin J. et al. 2017*). Ομοίως, σε μία άλλη μετα-ανάλυση παρατήρησαν ότι οι εγκυμοσύνες που προέκυψαν μέσω IVF/ICSI είχαν αυξημένη συχνότητα αυθόρμητου πρόωρου τοκετού σε σύγκριση με αυτές που προέκυψαν από φυσική σύλληψη (10,1% έναντι 5,5%), ακόμη και μετά από προσαρμογή για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες (*Cavoretto P. et al. 2018*).

Για την πρόληψη του αυξημένου ποσοστού προωρότητας και των επιπλοκών της σε κυήσεις με ART, οι ερευνητές ανέλυσαν εάν αυτός ο κίνδυνος επηρεαζόταν από τεχνικές κρυσυντήρησης. Μια μελέτη σύνδεσης βάσης δεδομένων της Αυστραλίας έδειξε ότι οι εγκυμοσύνες με IVF/ICSI είχαν υψηλότερες πιθανότητες πρόωρου τοκετού στις περιπτώσεις μεταφοράς φρέσκου εμβρύου (*Marino J.L. et al. 2014*). Δεν υπήρχε διαφορά στο ποσοστό πρόωρου τοκετού μεταξύ δίδυμων κυήσεων που συνελήφθησαν με IVF/ICSI ή χωρίς ιατρική βοήθεια, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στον υψηλότερο κίνδυνο πρόωρου τοκετού σε δίδυμες κυήσεις γενικά, καθιστώντας δύσκολο τον εντοπισμό διαφοράς εάν υπάρχει (*Marino J.L. et al. 2014*).

Πιο πρόσφατα, οι Maheshwari A. et al. (2018), πραγματοποίησαν μια μετα-ανάλυση που έδειξε ότι η μεταφορά ενός κρυοσυντηρημένου εμβρύου συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο προωρότητας, σε σύγκριση με τις εγκυμοσύνες που ελήφθησαν μετά τη μεταφορά φρέσκων εμβρύων. Συνολικά, οι μελέτες υποδεικνύουν ότι οι διαδικασίες ART μπορεί να συμβάλλουν στον κίνδυνο πρόωρου τοκετού, αλλά ότι ο κίνδυνος μπορεί να μειωθεί στο πλαίσιο των κατεψυγμένων/αποψυγμένων εμβρυομεταφορών. Η κατεψυγμένη/αποψυγμένη εμβρυομεταφορά μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο, καθώς μιμείται περισσότερο τα ορμονικά επίπεδα σε μια μη υποβοηθούμενη εγκυμοσύνη και αποφεύγονται οι πιθανές επιπτώσεις των αυξημένων επιπέδων οιστραδιόλης και VEGF στον πλακούντα (Maheshwari A. et al. 2018).

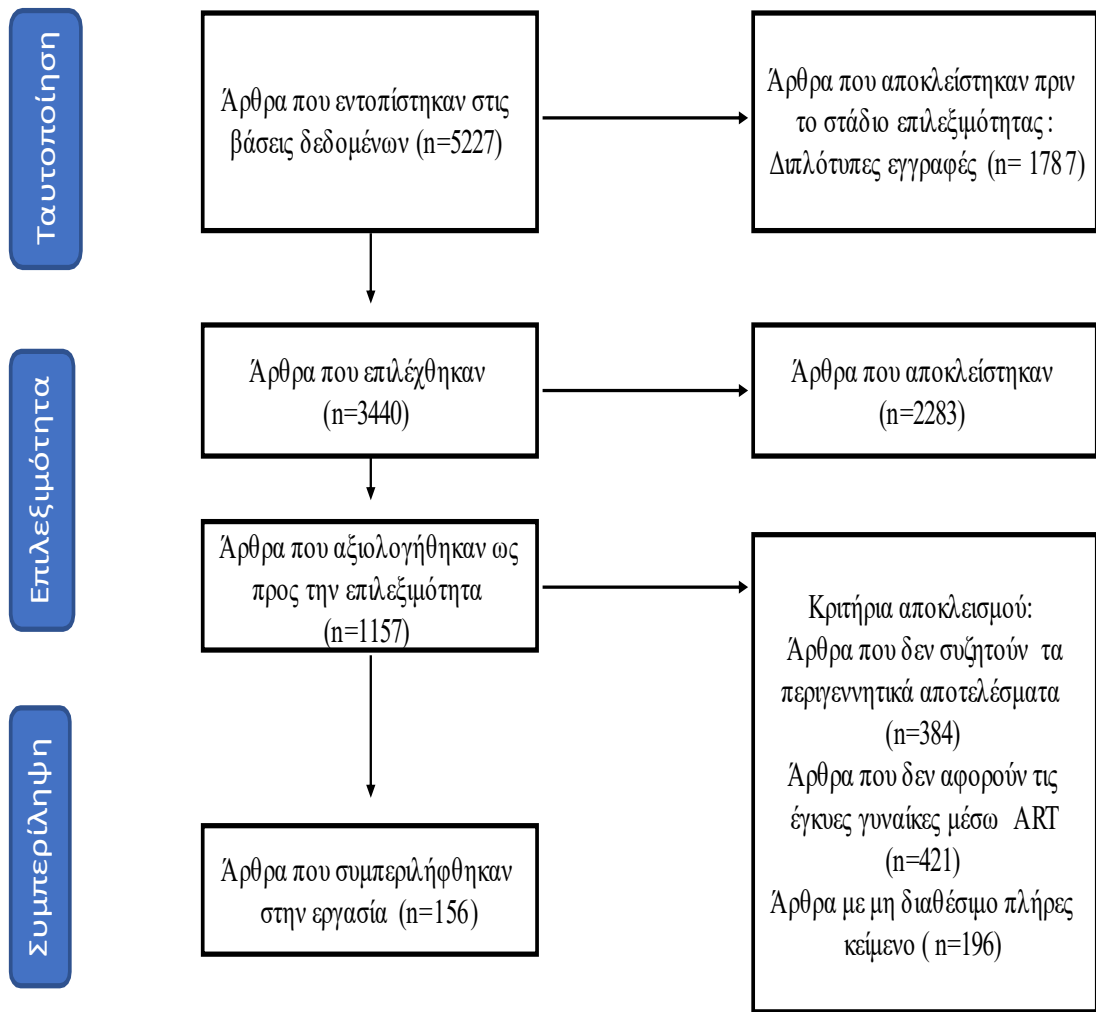
3.6 Διαταραχές στον πλακούντα

Ο κίνδυνος διαταραχών του πλακούντα, όπως ο προδρομικός πλακούντας και η αποκόλληση πλακούντα, είναι αυξημένος σε μονήρεις κυήσεις που προκύπτουν μέσω ART. Μια μετα-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε από τους Vermeij B.G. et al. (2019), καταδεικνύει ότι αυτός ο κίνδυνος παρατηρείται ιδιαίτερα στον πληθυσμό των υπογόνιμων γυναικών. Δεδομένου του αυξημένου κινδύνου επιπλοκών εγκυμοσύνης που σχετίζονται με πολύδυμες κυήσεις, οι Karami M. et al. (2019) πραγματοποίησαν μια μετα-ανάλυση που απέδειξε τη συσχέτιση μεταξύ της χρήσης ART και του κινδύνου προδρομικού πλακούντα τόσο για μονήρεις όσο και για πολύδυμες κυήσεις. Το στάδιο της εμβρυομεταφοράς μπορεί επίσης να επηρεάσει τον κίνδυνο διαταραχών του πλακούντα. Θεωρείται ότι η μεταφορά ενός εμβρύου σταδίου βλαστοκύστης αυξάνει τη συχνότητα εμφάνισης του προδρομικού πλακούντα (Spangmose A.L. et al. 2020). Αυτό μπορεί να εξηγήσει γιατί η συχνότητα της προωρότητας είναι υψηλότερη σε εγκυμοσύνες που προέκυψαν μετά τη μεταφορά ενός εμβρύου 5ης ημέρας (Dar S. et al. 2013). Οι Spangmose A.L. et al. (2020) κατέδειξαν επίσης ότι το ποσοστό προδρομικού πλακούντα μειώθηκε εάν χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές κρυοσυντήρησης σε σύγκριση με τη μεταφορά φρέσκων εμβρύων. Αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να οφείλεται σε μειωμένη διέγερση του ενδομητρίου στην περίπτωση της κρυοσυντήρησης.

4. Μεθοδολογία

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας για τον προσδιορισμό των περιγεννητικών αποτελεσμάτων σε κυήσεις που προέρχονται από τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, πραγματοποιήθηκε μια έρευνα μέσω πέντε επιστημονικών βάσεων δεδομένων: PubMed, Scopus, Science Direct, Web of Science και Google Scholar χρησιμοποιώντας την ακόλουθη στρατηγική αναζήτησης «assisted reproductive technologies» ή «in vitro fertilization» ή «ICSI» ή «Perinatal Outcomes» «Complications». Οι έρευνες που αξιολογήθηκαν για την ένταξή τους στην παρούσα διπλωματική εργασία αφορούσαν τα περιγεννητικά αποτελέσματα που έχουν παρατηρηθεί σε IVF κυήσεις. Ο πληθυσμός ενδιαφέροντος περιλάμβανε γυναίκες που έμειναν έγκυες με διαφορετικές τεχνικές ART (π.χ., εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) και ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI), δωρεά γαμετών και εμβρύων, παρένθετη μητρότητα. Αναζητήθηκαν όλα τα περιγεννητικά αποτελέσματα των κυήσεων που προήλθαν μέσω των διαφορετικών τεχνολογιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, ωστόσο, αποκλείστηκαν δεδομένα για μητρικούς παράγοντες πριν από την εγκυμοσύνη, παρεμβάσεις χαμηλής τεχνολογίας, ειδικές διαδικασίες ανδρικού παράγοντα, μεταμόσχευση ιστού ωοθηκών/ωοθηκών και μήτρας.

Οι μελέτες επιλέχθηκαν μέσω μιας προσέγγισης πολλαπλών βημάτων (εξάλειψη των διπλότυπων, ανάγνωση τίτλου, περίληψη και αξιολόγηση πλήρους κειμένου). Οι αναζητήσεις απέδωσαν 5227 μοναδικά άρθρα εκ των οποίων τα 1557 ήταν δυνητικά επιλέξιμα για συμπερίληψη βάσει του τίτλου και της περίληψής τους. Μετά από την ανασκόπηση του πλήρους κειμένου, 156 άρθρα πληρούσαν τα κριτήρια συμπερίληψης. Το διάγραμμα ροής PRISMA συνοψίζει τη διαδικασία επιλογής της συστηματικής αναζήτησης (Γράφημα 1).



Γράφημα 1. Διάγραμμα ροής (Prisma) των αποτελεσμάτων της συστηματικής αναζήτησης

4. Τεχνικές ART και περιγεννητικά αποτελέσματα

4.1 Διέγερση ωοθηκών

Διέγερση ωοθηκών ονομάζεται το στάδιο της εξωσωματικής γονιμοποίησης όπου προκαλείται τεχνητά, με φαρμακευτική αγωγή, η διέγερση των ωοθηκών ώστε να παραχθούν πολλαπλά ωοθυλάκια και να υπάρχει η δυνατότητα παραγωγής πολλών ωαρίων. Η διέγερση των ωοθηκών χρησιμοποιείται συνήθως στην εξωσωματική γονιμοποίηση για την αύξηση του ποσοστού ζωντανής γέννησης. Μια μεγάλη μελέτη που συνέκρινε κλινικά αποτελέσματα μετά από 6168 μη διεγερμένους (φυσικούς) κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης έναντι 584.835 διεγερμένων κύκλων εξωσωματικής γονιμοποίησης έδειξε ότι απαιτούνται έως και 3,5 μη διεγερμένοι κύκλοι εξωσωματικής γονιμοποίησης για την επίτευξη του ίδιου ποσοστού ζωντανών γεννήσεων με έναν διεγερμένο κύκλο, δικαιολογώντας τη συνήθη χρήση διέγερσης των ωοθηκών (*Sunkara S.K. et al. 2016*). Αν και το σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών (OHSS) είναι ένας σοβαρός ιατρογενής κίνδυνος μετά τη χρήση ωοθηκικής διέγερσης, η πρόοδος σε στρατηγικές ελεγχόμενης διέγερσης των ωοθηκών, όπως η χρήση ανταγωνιστή της ορμόνης απελευθέρωσης γοναδοτροπίνης (GnRH) έναντι αγωνιστή GnRH για την εναλλακτική καταστολή της υπόφυσης και η ενεργοποίηση του αγωνιστή GnRH έναντι της ενεργοποίησης της ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης για την τελική ωρίμανση των ωαρίων έχουν μετριάσει τον κίνδυνο (*Devroey P. et al. 2011*).

Εκτός από τον κίνδυνο του συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών (OHSS), υπήρξαν εικασίες σχετικά με τις μακροπρόθεσμες επιπτώσεις από τη χρήση της διέγερσης ωοθηκών, στις οποίες περιλαμβάνονται οι περιγεννητικοί κίνδυνοι. Μια μετα-ανάλυση που διερεύνησε τους περιγεννητικούς κινδύνους μετά IVF με διέγερση ωοθηκών, έδειξε ότι η χρήση διέγερσης στην IVF συσχετίστηκε με υψηλότερο κίνδυνο πρόωρου τοκετού (<37 εβδομάδες κύησης) και χαμηλότερο βάρος γέννησης νεογνών (<2500g) σε σύγκριση με IVF φυσικού κύκλου ή τροποποιημένου φυσικού κύκλου (*Kamath M.S. et al. 2018*). Επιπλέον, μια μεγάλη μελέτη κοόρτης που ασχολήθηκε με τη συσχέτιση μεταξύ της ανταπόκρισης των ωοθηκών στη διέγερση ποσοτικοποιήθηκε ως ο αριθμός των ωαρίων που ανακτήθηκαν και του κινδύνου του πρόωρου τοκετού ή του χαμηλού βάρους γέννησης νεογνών, διαπίστωσε ότι η αύξηση κινδύνου σημειώθηκε

μόνο με πολύ υψηλό αριθμό ωαρίων (>20). Σε σύγκριση με τις γυναίκες που είχαν φυσιολογική ανταπόκριση που ορίστηκε ως 10-15 ωάρια, οι γυναίκες που είχαν υπερβολική ανταπόκριση >20 ωάρια είχαν σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο πρόωρου τοκετού και χαμηλού βάρους γέννησης νεογνών σε έναν νέο κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης (Sunkara S.K. et al. 2015). Επιπρόσθετα, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι τα υπερφυσιολογικά επίπεδα οιστραδιόλης στους κύκλους διέγερσης των ωοθηκών μπορεί να επηρεάσουν το βάρος γέννησης των νεογνών που συλλαμβάνονται μέσω επακόλουθων κύκλων κατάψυξης-απόψυξης IVF (Cai J. et al. 2019). Τα ευρήματα της μελέτης αυτής υποδηλώνουν ότι τα υπερφυσιολογικά επίπεδα οιστραδιόλης έχουν επίδραση πέρα από το ενδομήτριο.

4.2 Καλλιεργητικά υλικά στις εμβρυολογικές διαδικασίες

Κατά τη διάρκεια ενός κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης τα ωάρια και τα έμβρυα καλλιεργούνται σε τρυβλία με καλλιεργητικά υλικά τα οποία τοποθετούνται σε επωαστικούς κλιβάνους προσπαθώντας να δημιουργήσουν συνθήκες οι οποίες να προσομοιάζουν τις *in vivo* συνθήκες ανάπτυξης ενός ανθρώπινου εμβρύου. Στην αρχή της ανάπτυξης της *in vitro* εμβρυοκαλλιέργειας, το κάθε εργαστήριο παρασκεύαζε τα δικά του καλλιεργητικά υλικά. Στη συνέχεια αναπτύχθηκαν διάφορες εταιρείες που κατασκεύαζαν καλλιεργητικά υλικά και τα παρείχαν στο εμπόριο. Ωστόσο, οι πληροφορίες σχετικά με την σύνθεση και την ποιότητα των καλλιεργητικών υλικών που χρησιμοποιούνται στην ART είναι σπάνια διαθέσιμες καθώς επίσης και η επίδραση των υλικών αυτών στην *in vitro* ανάπτυξη των ωαρίων και εμβρύων.

Μια μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2010 συνέκρινε τα ποσοστά εγκυμοσύνης και τα περιγεννητικά αποτελέσματα από μονήρεις κηύσεις σε 826 άτομα που υποβλήθηκαν σε κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης για πρώτη φορά. Τα ωοκύτταρα και τα έμβρυα κατανεμήθηκαν τυχαία σε ένα από τα δύο εμπορικά διαθέσιμα καλλιεργητικά υλικά και ο τύπος του υλικού βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με το βάρος γέννησης, αποδεικνύοντας συμπερασματικά ότι η επιλογή καλλιεργητικού υλικού μπορεί να επηρεάσει το βάρος γέννησης των νεογνών (Dumoulin J.C. et al. 2010). Μια άλλη μελέτη βρήκε σημαντικές διαφορές στα περιγεννητικά αποτελέσματα μεταξύ των απογόνων

από έμβρυα που αναπτύχθηκαν σε διαφορετικά καλλιεργητικά υλικά μετά από μονήρη κύηση, δίδυμη κύηση και κατεψυγμένη εμβρυομεταφορά, διευκρινίζοντας έτσι ότι η διαδικασία *in vitro* καλλιέργειας είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τα περιγεννητικά αποτελέσματα (Nelissen E.C. et al. 2012).

Σε μια μελέτη που χρησιμοποιήθηκαν τα καλλιεργητικά υλικά της Vitrolite (n = 715) και της Cook (n = 717) σε 1432 γυναίκες που υποβλήθηκαν σε εμβρυομεταφορά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρχε σημαντική διαφορά στο βάρος γέννησης μεταξύ των δύο ομάδων νεογνών και αυτή η διαφορά παρέμεινε για τα επόμενα 2 χρόνια. Ωστόσο, η διαχρονική παρατήρηση στο ρυθμό ανάπτυξης των νεογνών δεν αποκάλυψε σημαντικές διαφορές (Kleijkers S.H. et al. 2014). Μια άλλη πιο πρόσφατη μελέτη σε απογόνους IVF διαπίστωσε ότι η επιλογή του καλλιεργητικού υλικού συσχετίστηκε με διαφορές στο σωματικό βάρος των απογόνων, στο δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ), στην παχυσαρκία, στην περίμετρο μέσης και στην αναλογία μέσης-ισχίου σε απογόνους ηλικίας 9 ετών (Zandstra H. et al. 2018). Επιπρόσθετα, σε επιγενετικό επίπεδο, έχει παρατηρηθεί ότι η γονιδιακή έκφραση των εμβρύων μεταβάλλεται σύμφωνα με τα καλλιεργητικά υλικά που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της εξωσωματικής γονιμοποίησης και παρείχε πληροφορίες για τις βιολογικές οδούς που επηρεάστηκαν. Ωστόσο, παραμένει ασαφές εάν αυτές οι αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση έχουν μακροπρόθεσμες επιπτώσεις στα παιδιά που γεννιούνται μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση (Kleijkers S.H. et al. 2015).

4.3 Στάδιο ανάπτυξης εμβρύου και εμβρυομεταφορά

Η μεταφορά των εμβρύων στις τεχνικές ART γίνεται συνήθως κατά την 2^η-3^η ημέρα (στάδιο διάσπασης) ή την 5^η-6^η ημέρα ανάπτυξης του εμβρύου (στάδιο βλαστοκύστης). Ωστόσο, την τελευταία δεκαετία σημειώθηκε εκθετική αύξηση των εμβρυομεταφορών στο στάδιο της βλαστοκύστης σε πολλές χώρες, ως προσπάθεια μείωσης των πολύδυμων κυήσεων. Αυτή η αλλαγή τάσης της εμβρυομεταφοράς από το στάδιο διάσπασης στο στάδιο της βλαστοκύστης έχει αναδείξει το ενδιαφέρον για περιγεννητικά και μακροπρόθεσμα αποτελέσματα των απόγονών αυτών. Μια

συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση έδειξε ότι οι μονήρεις κυήσεις μετά από μεταφορές σταδίου βλαστοκύστης σχετίζονται με υψηλότερο κίνδυνο πρόωρου τοκετού (Dar S. et al. 2014). Η ανασκόπηση αυτή παρατήρησε επίσης υψηλότερο κίνδυνο συγγενών ανωμαλιών μετά από μεταφορά σταδίου βλαστοκύστης έναντι μεταφοράς σταδίου διάσπασης. Ορισμένες από τις μελέτες που συμπεριλήφθηκαν στη συστηματική ανασκόπηση είχαν τόσο φρέσκες όσο και κατεψυγμένες εμβρυομεταφορές. Επίσης, σε τρεις συστηματικές ανασκοπήσεις από το 2016 έως το 2018 που συνόψισαν τη βιβλιογραφία που σχετίζεται με το χρόνο της καλλιέργειας in vitro, παρατηρήθηκε ότι τα έμβρυα που μεταφέρθηκαν στο στάδιο της βλαστοκύστης διέτρεχαν υψηλότερο κίνδυνο πρόωρου τοκετού (Martins W.P. et al. 2016, Wang X. et al. 2017, Alviggi C. et al. 2018). Επιπροσθέτως, σε άλλη μελέτη έχει αναφερθεί σημαντικά υψηλότερο ποσοστό μονοζυγωτικών διδύμων μετά από εμβρυομεταφορά σε στάδιο βλαστοκύστης σε σύγκριση με την εμβρυομεταφορά του σταδίου διάσπασης (Ikemoto Y. et al. 2018).

4.4 In vitro ωρίμανση ωαρίων

Η in vitro ωρίμανση ωαρίων (IVM) είναι μια υποβοηθούμενη αναπαραγωγική τεχνολογία κατά την οποία τα ανώριμα ωοθυλάκια συλλέγονται με ελαχιστοποιημένη έως μηδενική έκθεση σε ορμονική διέγερση και πραγματοποιείται in vitro μια σύντομη πορεία χορήγησης FSH, με ή χωρίς χορήγηση hCG για ωοθυλακική ωρίμανση (Ho V.N. et al. 2018). Οποιοσδήποτε ανεπιθύμητες ενέργειες της διαδικασίας IVM στην εγκυμοσύνη και στα περιγεννητικά αποτελέσματα είναι ένα εν μέρει άγνωστο πεδίο έρευνας. Από μηχανιστική άποψη, η IVM θα μπορούσε να επηρεάσει την ανάπτυξη των ωαρίων, καθώς οποιαδήποτε παρέμβαση στη φάση ανάπτυξης θα μπορούσε να επηρεάσει την ωρίμανση των ωαρίων, τη γονιμοποίηση και την επακόλουθη ανάπτυξη του εμβρύου (Coticchio G. et al. 2015). Από την άλλη πλευρά, η μειωμένη διέγερση με γοναδοτροπίνη, η οποία διεγείρει πολύ ήπια το ενδομήτριο, μιμείται το φυσικό περιβάλλον.

Σε μια συστηματική ανασκόπηση με στόχο τη σύγκριση της τεχνικής IVM που ακολουθείται στην IVF/ICSI έναντι της συμβατικής IVF/ICSI όσον αφορά το ποσοστό

ζώντων γεννήσεων και την ασφάλεια μαιευτικών/περιγεννητικών αποτελεσμάτων δεν βρήκε καμία σημαντική διαφορά (Siristatidis C.S. et al. 2013). Ανάλογα συμπεράσματα συνάχτηκαν και στην προγενέστερη μελέτη των Cha K.Y. et al. (2005) όπου διερεύνησαν τα μαιευτικά και περιγεννητικά αποτελέσματα σε 41 εγκυμοσύνες IVM και παρατήρησαν ότι δεν υπάρχει ανεπιθύμητη επίδραση της τεχνικής. Ωστόσο, αυτά τα δεδομένα ήταν μη ελεγχόμενα και ελήφθησαν σε ασθενείς με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS). Μεταγενέστερες ελεγχόμενες μελέτες επιβεβαίωσαν τη μητρική και περιγεννητική ασφάλεια της IMV σε σύγκριση με την συμβατική IVF/ICSI, ακόμη και αν έχουν αναφερθεί μόνο λίγα μαιευτικά και περιγεννητικά δεδομένα (Soderstrom-Anttila V. Et al. 2005, Buckett W.M. et al. 2007 & 2008). Ένα ελαφρώς αυξημένο ποσοστό εμφάνισης διαβήτη κύησης και προεκλαμψίας παρατηρήθηκε σε ασθενείς με IVM σε σύγκριση με τις ασθενείς με τη συμβατική IVF/ICSI (Buckett W.M. et al. 2007). Επίσης, παρατηρήθηκε ότι, τα ποσοστά της καισαρικών τοκετών ήταν υψηλότερα στις μονήρης κυήσεις IVM από ό,τι στις κυήσεις με φυσική σύλληψη (Buckett W.M. et al. 2007). Ακόμη, ενδιαφέρον αποτελεί ότι, σε αντίθεση με τα νεογνά IVF/ICSI, το βάρος γέννησης κατά τον τοκετό ήταν βαρύτερο στα νεογνά με IVM από ότι στα νεογνά με φυσική σύλληψη και η συχνότητα πρόωρου τοκετού δεν ήταν διαφορετική από τις εγκυμοσύνες με φυσική σύλληψη (Buckett W.M. et al. 2007).

Αν και πολλές μελέτες σχετικά με την ασφάλεια της IVM είναι διαθέσιμες στη βιβλιογραφία, όλες έχουν αναδρομικό σχεδιασμό, πολύ μικρά μεγέθη δειγμάτων και περιλαμβάνουν μια σειρά από προκαταλήψεις και (μη προσαρμοσμένους) συγχυτικούς παράγοντες. Προφανώς, ένας υψηλός επιπολασμός περιπτώσεων PCOS σε αυτές τις μελέτες θα μπορούσε να επηρεάσει τα αποτελέσματα (Palomba S. et al. 2015 & 2016b). Στην αναδρομική μελέτη των Buckett W.M. et al. (2008) παρατηρήθηκε ότι σε 1.581 θετικά τεστ εγκυμοσύνης υπήρχε ένα ποσοστό αποβολής μετά από IVM σημαντικά υψηλότερο από ό,τι μετά από IVF/ICSI αλλά άμεσα σχετιζόμενη με το PCOS παρά με τη διαδικασία IVM.

4.5 Αριθμός εμβρύων για εμβρυομεταφορά

Η επιτυχία της εμφύτευσης εξαρτάται από τον αριθμό των εμβρύων που θα μεταφερθούν. Ο αριθμός των εμβρύων που μπορεί να μεταφερθούν σε μία εμβρυομεταφορά εξαρτάται από την ποιότητα τους (σύμφωνα με μορφολογικά κριτήρια) και την ηλικία της γυναίκας. Ωστόσο, σήμερα ο μέγιστος αριθμός εμβρύων που μπορούν να μεταφερθούν καθορίζεται από τη νομοθεσία και συνίσταται τα πλεονάζοντα γονιμοποιημένα ωάρια να κρυοσυντηρηθούν και να χρησιμοποιηθούν σε επόμενο κύκλο.

Τα τελευταία χρόνια γίνεται προσπάθεια να μειωθεί ο αριθμός των μεταφερόμενων εμβρύων με σκοπό να μειωθούν οι πολύδυμες κύσεις με τις πιθανές μαιευτικές και περιγεννητικές επιπλοκές που αυτές ενέχουν. Μια μετα-ανάλυση μεμονωμένων δεδομένων έδειξε ότι η εκλεκτική εμβρυομεταφορά ενός μόνο εμβρύου είναι λιγότερο αποτελεσματική (περίπου 50%) από τη εμβρυομεταφορά δύο/πολλών εμβρύων σε γυναίκες ηλικίας άνω των 33 ετών αλλά όχι σε νεότερες (*McLernon D.J. et al. 2010*). Έχει αναφερθεί ότι με την εμβρυομεταφορά ενός μόνο εμβρύου, ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό και για χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά μειώνεται σημαντικά, ενώ οι πιθανότητες μονήρους κύησης είναι σχεδόν πέντε φορές υψηλότερες από αυτές μετά από τη εμβρυομεταφορά δύο/πολλών εμβρύων (*McLernon D.J. et al. 2010*). Μια αναδρομική πληθυσμιακή μελέτη που ανέλυσε 82.508 κύκλους ART, επιβεβαίωσε ότι με την εμβρυομεταφορά ενός μόνο εμβρύου υπάρχει υψηλότερη πιθανότητα για ένα καλό περιγεννητικό αποτέλεσμα (*Kissin D.M. et al. 2014*). Τα ίδια συμπεράσματα προέκυψαν και από την μετά-ανάλυση του 2013, όπου παρατήρησαν ότι η αυξανόμενη εκλεκτική εμβρυομεταφορά ενός μόνο εμβρύου, όταν είναι κλινικά κατάλληλο (ηλικία γυναίκας <35 ετών), μπορεί να μειώσει τις πολύδυμες κύσεις και τις σχετικές αρνητικές συνέπειες αυτών (*Sunderam S. et al. 2015*).

Ανεξάρτητα από τον κίνδυνο που σχετίζεται με τις πολύδυμες κύσεις, ο αριθμός των εμβρύων που μεταφέρονται μπορεί να είναι ένας ανεξάρτητος και πιθανός παράγοντας που επηρεάζει τα μαιευτικά και περιγεννητικά αποτελέσματα. Τα διαθέσιμα δεδομένα είναι πολύ ετερογενή και δείχνουν καλύτερα περιγεννητικά αποτελέσματα (*De Sutter P. et al. 2006, Wang Y.A. et al. 2009*) ή καμία διαφορά (*Poikkeus P. et al. 2007, Sazonova A. et al. 2011*) μεταξύ των μονήρων κύσεων από εμβρυομεταφορά ενός εμβρύου και των μονήρων κύσεων από εμβρυομεταφορά δύο/πολλών εμβρύων.

4.6 Εμβρυομεταφορά με φρέσκα και κρυοσυντηρημένα έμβρυα

Η πρώτη επιτυχής εγκυμοσύνη από κατεψυγμένη εμβρυομεταφορά σε ανθρώπους αναφέρθηκε το 1983 (Trounson A. & Mohr L. 1983). Έκτοτε, η κρυοσυντήρηση των εμβρύων έχει γίνει αναπόσπαστη τεχνική της ART. Με τη συνεχή ανάπτυξη των τεχνικών κατάψυξης, τα ποσοστά εγκυμοσύνης έχουν αυξηθεί αντίστοιχα (Calhaz-Jorge C. et al. 2013). Υπάρχουν δύο κοινές μέθοδοι κρυοσυντήρησης, η αργή κατάψυξη και η υαλοποίηση. Η αργή κατάψυξη επιτρέπει την κατάψυξη να συμβεί με αργό ρυθμό για την ελαχιστοποίηση του ενδοκυτταρικού παγώματος παρουσία επαρκούς κυτταρικής αφυδάτωσης. Η υαλοποίηση επιτρέπει στα ενδοκυτταρικά και εξοκυτταρικά περιβάλλοντα να στερεοποιηθούν σε υαλώδη κατάσταση χωρίς το σχηματισμό πάγου. Πολυάριθμες μελέτες διαφορετικών τεχνικών κατάψυξης έχουν βρει ότι η υαλοποίηση οδηγεί σε καλύτερη εγκυμοσύνη και περιγεννητικά αποτελέσματα (AbdelHafez F.F. et al. 2010, Liu S.Y. et al. 2013, Li Z. et al. 2014, Rienzi L. et al. 2017).

Αρκετές μελέτες που συμπεριλήφθηκαν σε ανασκοπήσεις, έχουν καταλήξει σταθερά στο συμπέρασμα ότι η κατεψυγμένη εμβρυομεταφορά είναι ανώτερη από τη φρέσκια μεταφορά όσον αφορά τα περιγεννητικά αποτελέσματα όπως το βάρος γέννησης και η προωρότητα (Wennerholm U.B. et al. 2009, Maheshwari A. et al. 2018). Μια συστηματική αξιολόγηση το 2016 ωστόσο, έδειξε διαφορετικά αποτελέσματα. Οι συγγραφείς συνέκριναν τεχνικές μεταφοράς κατεψυγμένων και φρέσκων εμβρύων και δεν βρήκαν σημαντικές διαφορές στο βάρος γέννησης, στο μέγεθος του νεογνού, στην ηλικία κύησης, στο ποσοστό προωρότητας και στην περιγεννητική θνησιμότητα (Belva F. et al. 2016). Άλλες μελέτες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι ο κίνδυνος επιπλοκών όπως η υπέρταση κύησης, η προεκλαμψία και η μακροσωμία είναι σημαντικά αυξημένος μετά την καταψυγμένη εμβρυομεταφορά (Chen Z.J. et al. 2016). Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι η τεχνική της κρυοσυντήρησης μπορεί να προκαλέσει επιγενετικές τροποποιήσεις (π.χ. μεθυλίωση DNA) σε έμβρυα πρώιμου σταδίου, επηρεάζοντας έτσι το δυναμικό ανάπτυξης του εμβρύου. Στον αντίποδα, ορισμένοι ερευνητές πιστεύουν ότι, η κατάψυξη των εμβρύων μπορεί να λειτουργήσει ως διαδικασία επιλογής στην οποία τα υψηλής ποιότητας έμβρυα που επιβιώνουν από τη διαδικασία κατάψυξης και απόψυξης έχουν πλεονέκτημα ανάπτυξης. Επιπρόσθετα, επειδή ο κύκλος μεταφοράς κατεψυγμένου εμβρύου δεν περιλαμβάνει πρωτόκολλο διέγερσης των ωοθηκών, το

περιβάλλον της μήτρας είναι πιο κοντά στη φυσική κατάσταση, με αποτέλεσμα ένα πλεονέκτημα ανάπτυξης.

Οι περισσότερες μελέτες σχετικά με τα ποσοστά εγκυμοσύνης και ζώντων γεννήσεων μετά από μεταφορά κατεψυγμένου και φρέσκου εμβρύου δεν βρήκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο τεχνικών. Ο κύριος παράγοντας που επηρέασε τα αποτελέσματα ήταν η υπερδιέγερση των ωοθηκών. Δύο μελέτες υψηλής ποιότητας που δημοσιεύθηκαν το 2018 επιβεβαίωσαν ότι το ποσοστό επιτυχούς κύησης ή ζωντανής γέννησης με κατεψυγμένη εμβρυομεταφορά σε υπογόνιμες γυναίκες ήταν συνεπές με αυτό των γυναικών που έφεραν φρέσκα έμβρυα. Ωστόσο, η κρυοσυντηρημένη εμβρυομεταφορά μείωσε τον κίνδυνο υπερδιέγερσης των ωοθηκών (*Vuong L.N. et al. 2018, Shi Y. et al. 2018*). Επίσης, και η μεγάλη μετα-ανάλυση που διεξήχθη στην Κίνα έδειξε ότι η κρυοσυντηρημένη εμβρυομεταφορά μείωσε τον κίνδυνο υπερδιέγερσης των ωοθηκών σε υπογόνιμες γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, με αποτέλεσμα να αυξηθούν τα ποσοστά εγκυμοσύνης και γεννήσεων (*Chen Z.J. et al. 2016*). Ομοίως, και σε μια πιο πρόσφατη μελέτη κατέληξαν επίσης στο συμπέρασμα ότι η κατάψυξη εμβρύων μείωσε τον κίνδυνο υπερδιέγερσης των ωοθηκών, ωστόσο, επισήμαναν ότι δεν παρατήρησαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο τεχνικών όσον αφορά τα ποσοστά ζώντων γεννήσεων και εγκυμοσύνης (*Zaat T. et al. 2021*).

Παρόλα αυτά, η κρυοσυντήρηση ωαρίων και εμβρύων συνιστάται επί του παρόντος και χρησιμοποιείται ευρέως, καθώς όχι μόνο μεγιστοποιεί την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των κύκλων διέγερσης των ωοθηκών, αλλά είναι επίσης απαραίτητη για τη διατήρηση της γονιμότητας. Ωστόσο, λείπουν μακροπρόθεσμες μελέτες παρακολούθησης αυτών των τεχνικών. Θα πρέπει να διεξαχθούν περαιτέρω μελέτες για να διευκρινιστεί ο μηχανισμός των επιπλοκών, όπως η υπέρταση, η προεκλαμψία και η μακροσωμία, που προκαλούνται από την υαλοποίηση.

4.7 Ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI)

Η ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI) είναι μια διαδικασία *in vitro* γονιμοποίησης κατά την οποία ένα μόνο κύτταρο σπέρματος εγχέεται απευθείας στο κυτταρόπλασμα ενός ωαρίου μετάφασης II με τη βοήθεια μικροπιπέττας (*Palermo G.D. et al. 1992*). Η χρήση του ICSI συνεχίζει να αυξάνεται παγκοσμίως και, ως εκ τούτου, είναι ενδιαφέρον το εάν το ICSI από μόνο του εγκυμονεί περιγεννητικούς κινδύνους. Σε μια προοπτική μελέτη παρακολούθησης που δημοσιεύθηκε το 1998, η 2ετής παρακολούθηση και κλινική εξέταση παιδιών που συλλήφθηκαν με ICSI δεν έδειξε σημαντικές διαφορές στην ανάπτυξη του δείκτη νοημοσύνης μεταξύ των απογόνων που συνελήφθησαν από ICSI και από φυσική εγκυμοσύνη (*Bonduelle M. et al. 1998*). Ωστόσο, μια αυστραλιανή μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2005 έδειξε ότι η σύλληψη μέσω ICSI ή απλής εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) διέτρεχε διπλάσιο κίνδυνο σοβαρών γενετικών ανωμαλιών σε σχέση με τη φυσική σύλληψη (*Hansen M. et al. 2002*). Μια άλλη μελέτη το 2008 κατέληξε σε ένα παρόμοιο συμπέρασμα: αναφέρθηκε υψηλότερη από την κανονική επίπτωση *de novo* χρωμοσωμικών ανωμαλιών σε απογόνους που είχαν συλληφθεί με ICSI (*Palermo G.D. et al. 2008*). Επιπρόσθετα, στην μελέτη των *Ombet W. et al. (2005)* αναφέρθηκε ότι σε σύγκριση με τις φυσικές συλλήψεις, οι συλλήψεις μέσω ICSI είχαν υψηλότερο κίνδυνο χαμηλού βάρους γέννησης νεογνών.

Σε μελέτες ζώων, η ICSI έχει αναφερθεί ότι προκαλεί διακριτές, μακροχρόνιες μεταγραφικές αλλαγές που παραμένουν και στην νεογνική ηλικία. Σε πειράματα με ποντίκια, παρατηρήθηκε ότι οι βλαστοκύστες από γονιμοποίηση ICSI εμφανίζουν μειωμένο αριθμό κυττάρων τροφοβλαστικών και εσωτερικών κυττάρων μάζας σε σύγκριση με τα έμβρυα που δημιουργούνται *in vivo*. Περίπου 1000 γονίδια εκφράστηκαν διαφορετικά μεταξύ βλαστοκύστεων ICSI και *in vivo* βλαστοκύστεων. Ως εκ τούτου, μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα ότι η γονιμοποίηση με ICSI μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του μεταγραφώματος του αναπτυσσόμενου εμβρύου (*Giritharan G. et al. 2010*). Παρόλα αυτά, δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές στη γονιδιακή έκφραση ή στα φαινοτυπικά προφίλ σε ποντίκια που υποβλήθηκαν σε ICSI και δεν υπήρχε ένδειξη μετάδοσης στην επόμενη γενιά (*Kohda T. et al. 2011*).

4.8 Προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος (PGT)

Ο προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος περιλαμβάνει βιοψία των εμβρύων είτε στο στάδιο της διάσπασης είτε στο στάδιο της βλαστοκύστης, τα οποία στη συνέχεια υποβάλλονται σε γενετικό έλεγχο. Τα τελευταία χρόνια έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες που διερευνούν εάν αυτός ο χειρισμός επηρεάζει τα περιγεννητικά αποτελέσματα.

Μια μελέτη κοόρτης που δημοσιεύθηκε το 2016 συνέκρινε τοκετούς μετά από θεραπεία IVF/ICSI και προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (PGD) για μονογονιδιακές και φυλοσύνδετες διαταραχές ή δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Ανεπιθύμητες εκβάσεις παρατηρήθηκαν μόνο σε απογόνους που έλαβαν PGT και η επίπτωση ήταν συγκρίσιμη με τις ανεπιθύμητες εκβάσεις σε απογόνους που δεν έλαβαν PGT που είχαν συλληφθεί, λόγω μονογονιδιακών διαταραχών των γονέων, αλλά εμφάνιζαν υψηλότερο κίνδυνο προδρομικού πλακούντα. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, ο κίνδυνος ανεπιθύμητων μαιευτικών και νεογνικών εκβάσεων σχετίζεται κυρίως με την υποκείμενη γονική πάθηση και όχι απαραίτητα λόγω της τεχνικής της PGT (*Bay B. et al 2016*). Μια βρετανική μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2017, η οποία περιελάμβανε δεδομένα από το 1996 έως το 2011 που αφορούσαν 88.010 μονήρεις κηύσεις (87.571 μετά από IVF/ICSI και 439 μετά από PGD), συνέκρινε τα περιγεννητικά αποτελέσματα και δεν βρέθηκε αυξημένος κίνδυνος μετά από PGD σε σύγκριση με τον κίνδυνο μετά από συμβατική εξωσωματική γονιμοποίηση (*Sunkara S.K. et al. 2017*). Μια αναδρομική μελέτη κοόρτης που δημοσιεύθηκε το 2019 διερεύνησε εάν οι γυναίκες που υποβλήθηκαν και τα παιδιά που συνελήφθησαν μετά από PGD είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο ανεπιθύμητων εκβάσεων εγκυμοσύνης και γέννησης από τα παιδιά που συνελήφθησαν αυθόρμητα ή μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση με ή χωρίς ICSI. Αυτή η μελέτη διαπίστωσε ότι η βιοψία βλαστοκύστης δεν συντελεί στην αύξηση κινδύνου κακής νεογνικής πρόγνωσης (*He H. et al. 2019*). Αυτή τη διαπίστωση επιβεβαίωσε και μία συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση που δημοσιεύθηκε το 2021, η οποία ανέλυσε μελέτες έως τον Δεκέμβριο του 2020 και περιελάμβανε 785.445 συμμετέχοντες (*Hou W. et al. 2021*). Ωστόσο, σε αυτή τη μελέτη επισημάνθηκε ο κίνδυνος συσχέτισης του PGD με τον περιορισμό ενδομήτριας ανάπτυξης (IUGR), όπως έχει παρατηρηθεί και σε μελέτες σε ποντίκια (*Sato B.L. et al. 2014*).

Αντίθετα, μια μελέτη του 2019 που περιελάμβανε ζώντες γεννήσεις που προέκυψαν από IVF/ICSI με PGT (n=177) και IVF/ICSI χωρίς PGT (n=180), κατέληξε σε

διαφορετικό συμπέρασμα. Οι συγγραφείς πραγματοποίησαν μια συγκριτική ανάλυση ανεπιθύμητων περιγεννητικών εκβάσεων όπως προεκλαμψία, προδρομικός πλακούντας, χαμηλό βάρος γέννησης και γενετικές ανωμαλίες και βρήκαν μια στατιστικά σημαντική τριπλάσια αύξηση στη συχνότητα της προεκλαμψίας που σχετίζεται με την τροφοβλαστική εξωδερμική βιοψία (Zhang W.Y. et al. 2019).

Οι περισσότερες μελέτες παρατήρησης έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι η PGT δεν αυξάνει τον κίνδυνο ανεπιθύμητων περιγεννητικών εκβάσεων. Ωστόσο, ορισμένες μελέτες υποδεικνύουν ότι η συχνότητα της προεκλαμψίας και του περιορισμού ενδομήτριας ανάπτυξης (IUGR) μεταβάλλεται ελαφρώς μετά την PGT. Αυτή η μορφή δοκιμών έχει πραγματοποιηθεί σε ανθρώπους τα τελευταία χρόνια και χρειάζονται περισσότερες μακροπρόθεσμες πληθυσμιακές μελέτες για τη διερεύνηση των μακροπρόθεσμων αποτελεσμάτων υγείας των απογόνων και την πρόταση αντίστοιχων προληπτικών στρατηγικών.

4.9 Δωρεά γαμετών και εμβρύων

Δωρεά ωαρίων

Από τη γέννηση του πρώτου παιδιού μετά από δωρεά ωαρίων που αναφέρθηκε το 1988 (Devroey P. et al. 1988), η συχνότητα της δωρεάς ωαρίων έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια. Σύμφωνα με την Εθνική Συνοπτική Έκθεση Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγικής Τεχνολογίας του 2016, το 65% των ασθενών ηλικίας άνω των 44 ετών που απευθύνθηκαν στις τεχνικές ART στις Ηνωμένες Πολιτείες έλαβαν ωάρια δότη (*Assisted Reproductive Technology National Summary Report 2016*).

Οι μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε πληθυσμούς δωρεάς ωαρίων, με στόχο την αξιολόγηση του μαιευτικών και περιγεννητικών κινδύνων, έχουν ως κρίσιμους παράγοντες σύγχυσης την προχωρημένη ηλικία της μητέρας και το υψηλό ποσοστό πολύδυμων κυήσεων. Όσον αφορά τα περιγεννητικά αποτελέσματα, τα δεδομένα είναι λίγα και αραιά και βασίζονται σε σχετικά μικρές κοόρτες. Ωστόσο, σύμφωνα με τις μελέτες που συμπεριελήφθησαν σε ανασκοπήσεις πληθυσμών δωρεάς ωαρίων, φαίνεται να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος μαιευτικών επιπλοκών στις λήπτριες των

ετερόλογων ωαρίων όπως κολπική αιμορραγία πρώτου τριμήνου, προεκλαμψία και υπερτασικές διαταραχές κύησης, προωρότητα και καισαρικές τομές, αν και οι υπερτασικές διαταραχές φαίνεται να είναι οι πιο συχνές (Soderstrom-Anttila V. et al. 1998, Sheffer-Miouni G. et al. 2002, Wiggins D.A. & Main E. 2005, Keegan D.A. et al. 2007, Gundogan F. et al. 2010, Zegers-Hochschild F. et al. 2010, Klatsky P.C. et al. 2010, Levron Y. et al. 2014, Jeve Y.B. et al. 2016a). Μια μεγάλη μελέτη ανέφερε ότι τα παιδιά που γεννήθηκαν μετά από δωρεά ωαρίων σε σύγκριση με τα παιδιά από συμβατική IVF/ICSI, έχουν χαμηλότερο βάρος γέννησης και μικρότερη ηλικία κύησης κατά τον τοκετό. Συγκεκριμένα, καταδείχθηκε αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης χαμηλού βάρους γέννησης σε μονήρεις κυήσεις με δωρεά ωαρίων σε σύγκριση με τις μονήρεις κυήσεις συμβατικής IVF/ICSI (Gibbons W.E. et al. 2011). Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάστηκαν προηγουμένως και στην μελέτη των Zegers-Hochschild F. et al. (2010). Παρατηρήθηκαν υψηλότερα ποσοστά χαμηλού βάρους γέννησης και μικρότερη ηλικία κύησης μεταξύ των κυήσεων που συλλήφθηκαν με δωρεά ωαρίων απ' ό,τι των κυήσεων συμβατικής IVF/ICSI, αν και η περιγεννητική θνησιμότητα ήταν παρόμοια (Zegers-Hochschild F. et al. 2010).

Στη βιβλιογραφία είναι διαθέσιμες πέντε μετα-αναλύσεις για τις επιπλοκές της εγκυμοσύνης και τα περιγεννητικά αποτελέσματα μετά από κύκλους δωρεάς ωαρίων (Pecks U. et al. 2011, Adams D.H. et al. 2015, Jeve Y.B. et al. 2016b, Blazquez A. et al. 2016, Storgaard M. et al. 2017). Δυστυχώς, αυτά τα μετα-αναλυτικά δεδομένα ελήφθησαν χωρίς καμία προσαρμογή σε συγχυτικούς παράγοντες, συμπεριλαμβάνοντας μελέτες με πολύ υψηλό κίνδυνο μεροληψίας. Η πρώτη μετα-ανάλυση διεξήχθη προκειμένου να επιβεβαιωθεί ο υψηλός κίνδυνος σοβαρών υπερτασικών διαταραχών που παρατηρείται στις κυήσεις από δωρεά ωαρίων (Pecks U. et al. 2011). Μετά από ανάλυση 28 μελετών, οι πιθανότητες για προεκλαμψία και υπερτασικές διαταραχές κύησης μετά από δωρεά ωαρίων ήταν υπερδιπλάσιες σε σύγκριση με άλλες θεραπείες υπογονιμότητας και πάνω από έξι φορές υψηλότερες σε σύγκριση με φυσικές συλλήψεις (Pecks U. et al. 2011). Η δεύτερη μετα-ανάλυση που περιλάμβανε 23 μελέτες παρατήρησης έδειξε ότι τα νεογνά που προέκυψαν από ετερόλογα ωάρια διέτρεχαν αυξημένο κίνδυνο προωρότητας και χαμηλού βάρους γέννησης σε σύγκριση με το αυτόλογα ωάρια (Adams D.H. et al. 2015). Η τρίτη μετα-ανάλυση περιλάμβανε 11 μελέτες παρατήρησης για συνολικά 81.752 κύκλους που συνέκριναν μαιευτικές επιπλοκές κυήσεων που επιτεύχθηκαν μετά από χρήση ετερόλογων και αυτόλογων ωαρίων μέσω των τεχνικών ART (Jeve Y.B. et al. 2016b). Στις εγκυμοσύνες με δωρεά ωαρίων ο κίνδυνος ανάπτυξης προεκλαμψίας και

υπέρτασης, ήταν σημαντικά υψηλότερος τόσο στις μονήρεις όσο και στις δίδυμες κυήσεις. Επίσης αυξήθηκαν οι πιθανότητες εμφάνισης μικρών νεογνών για την ηλικία κύησης καθώς και οι καισαρικές τομές, παρόλο που ο παράγοντας της ηλικίας της μητέρας έδειξε ότι ο κίνδυνος ήταν ανεξάρτητος από την ηλικία (*Jewe Y.B. et al. 2016b*). Ομοίως, η τέταρτη μετα-ανάλυση που περιλαμβάνει 11 αναδρομικές και προοπτικές μελέτες κοόρτης επιβεβαίωσε ότι η χρήση ετερόλογων ωαρίων αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας κατά 70% περίπου σε σύγκριση με τους συμβατικούς κύκλους IVF/ICSI που χρησιμοποίησαν αυτόλογα ωάρια και ότι ούτε η πολύδυμη κύηση ούτε η ηλικία της ασθενούς μπορούν να εξηγήσουν αυτό το αποτέλεσμα (*Blazquez A. et al. 2016*). Τέλος, στην τελευταία συστηματική ανασκόπηση παρατήρησαν επίσης ότι, ο κίνδυνος εμφάνισης προεκλαμψίας, υπέρτασης, πρόωρου τοκετού, χαμηλού βάρους γέννησης νεογνών και η πιθανότητα καισαρικού τοκετού ήταν υψηλότερη στις μονήρεις κυήσεις των ασθενών που έλαβαν ετερόλογα ωάρια, ενώ στις πολύδυμες κυήσεις μόνο η συχνότητα εμφάνισης προεκλαμψίας και υπέρτασης αυξήθηκε (*Storgaard M. et al. 2017*).

Συμπερασματικά, αρκετές μελέτες υψηλής ποιότητας έχουν καταλήξει στο ίδιο συμπέρασμα. Οι υποκείμενοι λόγοι για τις επιπλοκές της εγκυμοσύνης μπορεί να είναι ότι, 1) οι λήπτες δωρεάς ωαρίων είναι συχνά σε προχωρημένη ηλικία και διατρέχουν υψηλό κίνδυνο υπογονιμότητας, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση των διαφόρων ανεπιθύμητων περιγεννητικών επιπλοκών, 2) τα ετερόλογα ωάρια μπορεί να ενεργοποιήσουν την ανοσολογική απόκριση και 3) η κακή ή απώλεια της λειτουργίας των ωοθηκών μπορεί να επηρεάσει άλλες φυσικές λειτουργίες, οδηγώντας έτσι σε επιπλοκές. Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερες μελέτες σε ζώα και ανθρώπους για να αποσαφηνιστούν οι μηχανισμοί των επιπλοκών που προκύπτουν από τη δωρεά ωαρίων και να ενημερώσουν την ανάπτυξη προληπτικών στρατηγικών και επιλογών θεραπείας.

Δωρεά σπέρματος

Τα αραιά διαθέσιμα δεδομένα στη βιβλιογραφία παρουσιάζουν ότι η χρήση σπέρματος δότη σε κύκλους σπερματέγχυσης σχετίζεται με κίνδυνο περιγεννητικών επιπλοκών χαμηλότερο από εκείνο των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από σπερματέγχυση με σπέρμα συντρόφου και συγκρίσιμο με εκείνους των παιδιών από

φυσική σύλληψη (Malchau S.S. et al. 2014). Ωστόσο, παλαιότερες μελέτες παρουσίασαν αυξημένο κίνδυνο υπερτασικών διαταραχών κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, με συγκεκριμένη αύξηση του κινδύνου προεκλαμψίας, τόσο σε πρωτότοκες όσο και σε δευτερότοκες κυήσεις με ετερόλογο σπέρμα (Dekker G.A. & Sibai B.M. 1998, Salha O. et al. 1999). Από αυτή την άποψη, θα μπορούσε να υποτεθεί ότι η έκθεση στο πατρικό σπέρμα πριν από τη σύλληψη έχει προστατευτική δράση, ενώ η χρήση σπερματέγχυσης από δότη μετά από προηγούμενη εγκυμοσύνη με πατρικό σπέρμα θα μπορούσε να αυξήσει τον κίνδυνο για έναν ανοσοποιητικό μηχανισμό παρόμοιο με τις υπερτασικές διαταραχές που παρατηρούνται στις εγκυμοσύνες με δωρεά ωαρίων.

Δωρεά εμβρύου

Πολύ λίγα είναι γνωστά για τη σχέση μεταξύ της εγκυμοσύνης με δωρεά εμβρύου και των περιγεννητικών επιπλοκών. Στην πραγματικότητα, τα διαθέσιμα δεδομένα μπορούν να εξαχθούν από υπογόνιμους πληθυσμούς που συνέλαβαν μετά από μικτές διαδικασίες δωρεάς γαμετών και εμβρύων (Salha O. et al. 1999). Προς το παρόν, είναι πολύ δύσκολο να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με τον μαιευτικό κίνδυνο σε γυναίκες που έκαναν δωρεά εμβρύου, επειδή ο αριθμός των συγχυτικών και προκαταλήψεων είναι τόσο συχνός και η επιζήμια επίδραση της αμφότερης δωρεάς γαμετών μπορεί μόνο να υποτεθεί. Συνήθως, οι λήπτες είναι άκρως επιλεγμένες γυναίκες με λίγες ιατρικές συννοσηρότητες αλλά που είχαν πιθανώς πολλές προηγούμενες αποτυχημένες προσπάθειες ART. Επιπλέον, τα έμβρυα που δωρίζονται είναι σχεδόν πάντα κατεψυγμένα έμβρυα. Τέλος, επειδή η δωρεά εμβρύου είναι πιο οικονομική από τη δωρεά ωαρίων, σε περίπτωση ανδρικής υπογονιμότητας η σύγκριση ως προς τις επιπλοκές της εγκυμοσύνης μπορεί να είναι ευνοϊκή για τις εγκυμοσύνες που λαμβάνονται μετά τη δωρεά εμβρύου (Finger R. et al. 2010).

4.10 Παρένθετη μητρότητα

Η παρένθετη μητρότητα είναι μια εξαιρετικά αμφιλεγόμενη διαδικασία στις υπογόνιμες γυναίκες. Στην Κίνα, η παρένθετη μητρότητα οποιασδήποτε μορφής απαγορεύεται. Ωστόσο, στη διεθνή κοινότητα ART, η παρένθετη μητρότητα υπάρχει ως ειδική τεχνική και οι ερευνητές θα πρέπει να έχουν αντικειμενική κατανόηση αυτής της τεχνολογίας.

Μια μελέτη το 1999 αξιολόγησε τα περιγεννητικά αποτελέσματα κυήσεων (μονήρης και πολύδυμης) από παρένθετες μητέρες μέσω εξωσωματικής γονιμοποίησης και τα συνέκρινε με τις μητέρες μέσω συμβατικής εξωσωματικής γονιμοποίησης. Η εμφάνιση υπέρτασης και αιμορραγίας που προκαλείται από την εγκυμοσύνη στο τρίτο τρίμηνο ήταν τέσσερις έως πέντε φορές χαμηλότερη στις κυήσεις με παρένθετη μητρότητα, ανεξάρτητα από τον αριθμό εμβρύων που μεταφέρθηκαν. Η συχνότητα της καισαρικού τοκετού ήταν 21,3% για τις μονήρεις κυήσεις, ενώ ήταν δύο φορές υψηλότερη στις πολύδυμες κυήσεις με παρένθετη μητρότητα (*Parkinson J. et al. 1999*). Μια συστηματική ανάλυση που δημοσιεύτηκε το 2016 περιλάμβανε 55 σχετικά υψηλής ποιότητας μελέτες που συνέκριναν κυήσεις από παρένθετη μητρότητα μέσω εξωσωματικής γονιμοποίησης με κυήσεις συμβατικής εξωσωματικής γονιμοποίησης και δεν βρήκε σημαντικές διαφορές στην εμφάνιση πρόωρου τοκετού, στα ποσοστά γενετικών ανωμαλιών ή στη περιγεννητική θνησιμότητα. Επίσης, τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα δεν έδειξαν σημαντικές ψυχολογικές διαφορές μεταξύ των παιδιών που γεννήθηκαν από παρένθετη μητρότητα και εκείνων που γεννήθηκαν από άλλους τύπους ART ή φυσικής σύλληψης (*Soderstrom-Anttila V. et al. 2016*). Μια μελέτη του 2017 χρησιμοποίησε ένα καινοτόμο ερευνητικό μοντέλο για τη σύγκριση των περιγεννητικών αποτελεσμάτων μεταξύ των γεννήσεων που επιτεύχθηκαν με παρένθετη μητέρα μέσω IVF/ICSI έναντι παρένθετης μητέρας με φυσική σύλληψη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα νεογνά που γεννήθηκαν μέσω IVF/ICSI είχαν αυξημένη συχνότητα ανεπιθύμητων περιγεννητικών εκβάσεων, αποδεικνύοντας ότι, ακόμη και σε ένα υγιές περιβάλλον της μήτρας, οι διαδικασίες ART ενδέχεται να επηρεάσουν την ποιότητα του εμβρύου (*Woo I. et al. 2017*).

Συμπερασματικά, τα περιγεννητικά αποτελέσματα φαίνεται να είναι πολύ καλύτερα στις κυήσεις με παρένθετη μητρότητα μέσω εξωσωματικής γονιμοποίησης από τις κυήσεις συμβατικής εξωσωματικής γονιμοποίησης, υποδηλώνοντας ότι πολλά από τα αρνητικά περιγεννητικά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στην ίδια την

υπογονιμότητα και στο μαιευτικό ιστορικό που φέρουν οι ασθενείς που επιλέγουν την συμβατική εξωσωματική γονιμοποίηση. Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν επίσης τη σημασία ενός υγιούς ενδομήτριου περιβάλλοντος κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Ωστόσο, οι τεχνικές ART εξακολουθούν να έχουν τη δυνατότητα να επηρεάσουν ολόκληρη την πορεία της εγκυμοσύνης. Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας να διατηρηθούν οι τρέχοντες ρυθμοί έρευνας προκειμένου να εντοπιστούν καλύτερα οι κίνδυνοι και να αναπτυχθούν προληπτικά μέτρα.

5. Περιγεννητικά αποτελέσματα IVF κυήσεων

5.1 Χαμηλό βάρος γέννησης νεογνών

Ως χαμηλό βάρος γέννησης (LBW, Low Birth Weight) ορίζεται το βάρος ενός βρέφους που γεννήθηκε λιγότερο από 2,500γρ., ανεξάρτητα από την ηλικία κύησης. Ανωμαλίες στο βάρος γέννησης, ιδιαίτερα χαμηλό βάρος γέννησης, έχουν συσχετιστεί με την εξωσωματική γονιμοποίηση. Σε μια μετα-ανάλυση 19 μελετών παρατήρησαν ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος LBW μεταξύ των βρεφών που συνελήφθησαν με IVF/ICSI σε σύγκριση με τα βρέφη που συνελήφθησαν φυσικά (Pandey S. et al. 2012). Η συσχέτιση μεταξύ σύλληψης IVF/ICSI και LBW μπορεί να οφείλεται στο υπερφυσιολογικό ορμονικό περιβάλλον του κύκλου της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Μια μελέτη των Kalra et al. (2011) συνέκρινε το βάρος γέννησης των βρεφών που γεννήθηκαν από κύκλους IVF/ICSI με μεταφορά φρέσκου εμβρύου, έναντι των βρεφών που γεννήθηκαν από κύκλους IVF/ICSI με κατεψυγμένη εμβρυομεταφορά. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το βάρος γέννησης ήταν χαμηλότερο στα βρέφη που γεννήθηκαν από κύκλους IVF/ICSI με μεταφορά φρέσκου εμβρύου σε σύγκριση με το βάρος γέννησης των βρεφών που γεννήθηκαν από κύκλους IVF/ICSI κατεψυγμένης εμβρυομεταφοράς (Kalra et al. 2011). Ομοίως, μια αναδρομική μελέτη κοόρτης που αξιολόγησε γεννήσεις από 95.991 φρέσκους και 16.521 κατεψυγμένους κύκλους εμβρυομεταφοράς έδειξε χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης LBW στους κύκλους μεταφοράς κατεψυγμένου εμβρύου σε σύγκριση με τους κύκλους φρέσκιας εμβρυομεταφοράς αλλά και, υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης υψηλού βάρους γέννησης στους κατεψυγμένους κύκλους εμβρυομεταφοράς (Maheshwari A. et al. 2016). Ωστόσο, το αποτέλεσμα της ίδιας της διάγνωσης της υπογονιμότητας είναι ένα σημαντικό στοιχείο, καθώς μια μελέτη με βάση τον πληθυσμό της Ολλανδίας, συνέκρινε το βάρος γέννησης μεταξύ αδερφών από την ίδια μητέρα που έχει γεννήσει με φυσική σύλληψη αλλά και με τεχνικές ART. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, το βάρος γέννησης των αδερφών που συνελήφθησαν με τεχνικές ART δεν ήταν σημαντικά διαφορετικό από αυτό των παιδιών που συνελήφθησαν φυσικά και ότι η ίδια η μητρική υπογονιμότητα φαίνεται να συμβάλει στον κίνδυνο απόκτησης παιδιού χαμηλού βάρους (Seggers J. et al. 2016).

5.2 Μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό

Ο όρος μικρό για την ηλικία κύησης (SGA) χρησιμοποιείται για να περιγράψει ένα νεογνό του οποίου το βάρος ή/και το μήκος είναι τουλάχιστον κατά 2 σταθερές αποκλίσεις κάτω από το μέσο όρο ή <από την 10^η εκατοστιαία θέση ανάπτυξης για την αντίστοιχη ηλικία κύησης (Clayton P.E. et al. 2007).

Οι εγκυμοσύνες που συλλαμβάνονται με τεχνικές ART μπορεί να διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο γεννήσεων μικρών νεογνών για την ηλικία κύησης (SGA), αλλά υπάρχουν αντικρουόμενα δεδομένα σχετικά με τον πιθανό αντίκτυπο αυτών των τεχνικών.

Σε μια μελέτη βασισμένη στον πληθυσμό που περιελάμβανε περισσότερες από 2 εκατομμύρια γεννήσεις, τα βρέφη που συνελήφθησαν με τεχνικές ART είχαν αυξημένα ποσοστά ανεπιθύμητων εκβάσεων, συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης πιθανότητας γεννήσεων SGA (Luke B. et al. 2019). Μια μεγάλη μετα-ανάλυση επίσης βρήκε ότι υπάρχει υψηλός κίνδυνος γεννήσεων SGA σε εγκυμοσύνες που συνελήφθησαν με τεχνικές ART (Qin J. et al. 2016). Ωστόσο, άλλα δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι εγκυμοσύνες μέσω των τεχνικών ART δεν διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο γεννήσεων SGA ή έχουν ελάχιστα αυξημένο κίνδυνο για αυτή την επιπλοκή. Για παράδειγμα, σε μια άλλη ανασκόπηση με βάση τον πληθυσμό, παρατηρήθηκε ελαφρώς αυξημένος κίνδυνος γεννήσεων SGA σε εγκυμοσύνες που συνελήφθησαν μέσω ART σε σύγκριση με εγκυμοσύνες που συνελήφθησαν φυσικά (Luke B. et al. 2017). Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και στην πιο πρόσφατη μελέτη των Glatthorn H.N. et al. (2021). Τα δεδομένα αυτά, τα οποία είναι αντίθετα με ορισμένες δημοσιευμένες αναφορές, μπορεί να αντικατοπτρίζουν αλλαγές στη σύγχρονη θεραπευτική πρακτική των τεχνικών ART.

5.3 Συγγενείς ανωμαλίες και διαταραχές αποτύπωσης

Πολλές μελέτες έχουν επισημάνει την ανησυχία για δυνητικούς αυξημένους κινδύνους συγγενών ανωμαλιών και διαταραχών αποτύπωσης σε εγκυμοσύνες με εξωσωματική γονιμοποίηση (Strawn E.Y. et al. 2010, Tararbit K. et al. 2011 & 2013, Vermeiden J.P. & Bernardus R.E 2013). Ωστόσο, δεδομένης της σπανιότητας των συγγενών ανωμαλιών συνολικά, πολλές από αυτές τις μελέτες δεν έχουν επαρκή ισχύ

για να ανιχνεύσουν αυξημένο κίνδυνο όταν υπάρχει. Μια μελέτη στην Αυστραλία συνέκρινε το ποσοστό των γενετικών ανωμαλιών, συμπεριλαμβανομένων των καρδιαγγειακών, μυοσκελετικών και ουρογεννητικών ανωμαλιών σε 301 νεογνά που συνελήφθησαν με ICSI, 837 βρέφη που συνελήφθησαν με κλασσική IVF και 4000 βρέφη που συνελήφθησαν φυσικά (Hansen M. et al. 2002). Το ποσοστό των γενετικών ανωμαλιών στα βρέφη από IVF και ICSI ήταν 8,6% και 9,0%, αντίστοιχα, σε σύγκριση με 4,2% των βρεφών με φυσική σύλληψη (Hansen M. et al. 2002). Ωστόσο, μια επακόλουθη μελέτη βάσης δεδομένων στην Αυστραλία με 308.974 γεννήσεις συμπεριλαμβανομένων 6163 υποβοηθούμενων συλλήψεων έδειξε ότι η συσχέτιση μεταξύ εξωσωματικής γονιμοποίησης και γενετικών ανωμαλιών εξαφανίστηκε μετά από συγχυτικούς παράγοντες που έλαβε υπόψη, όπως η ηλικία της μητέρας, οι συννοσηρότητες και το κάπνισμα στην εγκυμοσύνη, αν και μια συσχέτιση μεταξύ ICSI και γενετικών ανωμαλιών παρέμειναν (Davies M.J. et al. 2012). Το ιστορικό υπογονιμότητας βρέθηκε επίσης ότι είναι ένας παράγοντας κινδύνου για γενετικές ανωμαλίες σε αυτή τη μελέτη (Davies M.J. et al. 2012). Στην μελέτη των Levi Setti P.E. et al. (2016), φάνηκε επίσης ότι η διάγνωση της υπογονιμότητας από μόνη της σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο γενετικών ανωμαλιών είτε σε γεννήσεις IVF/ICSI είτε σε φυσικές συλλήψεις (Levi Setti P.E. et al. 2016). Έτσι, υπήρξαν αντικρουόμενες ενδείξεις για το εάν οι τεχνικές ART αυξάνουν τον κίνδυνο γενετικών ανωμαλιών ή εάν η ίδια η διάγνωση της υπογονιμότητας αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τέτοιες παρατηρούμενες συσχετίσεις.

Οι διαταραχές αποτύπωσης είναι μια κατηγορία συγγενών ανωμαλιών που επηρεάζουν την ανάπτυξη, την διαφοροποίηση και το μεταβολισμό και έχει υπάρξει συσχέτιση μεταξύ των γεννήσεων με τεχνικές ART και των διαταραχών αποτύπωσης. Τα αποτυπωμένα γονίδια μεταγράφονται είτε μητρικά είτε πατρικά και η έκφρασή τους προσδιορίζεται με επιγενετική τροποποίηση γονικών-ειδικών αλληλόμορφων συμπεριλαμβανομένης της μεθυλίωσης του DNA, της τροποποίησης ιστόνης και των μη κωδικοποιητικών RNA. Οι ανωμαλίες στην αποτύπωση σχετίζονται με παθολογικές καταστάσεις όπως το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann, το σύνδρομο Angelman και το σύνδρομο Prader-Willi (Vermeiden J.P. & Bernardus R.E 2013, Uyar A. & Seli E.2014). Το Beckwith-Wiedemann είναι το πιο ευρέως μελετημένο σύνδρομο από τις διαταραχές της αποτύπωσης. Μελέτες που διερευνούν τη συσχέτιση μεταξύ διαταραχών αποτύπωσης και τεχνικών ART, έρχονται σε αντίθεση με ορισμένες μελέτες που δείχνουν έως και εννέα φορές αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης του Beckwith-Wiedemann

στην IVF/ICSI (*DeBaun M.R. et al. 2003, Maher E.R. et al. 2003, Gicquel C. et al. 2003, Halliday J. et al. 2004, Sutcliffe A.G. et al. 2006, Mayo S. et al. 2015*), ενώ άλλες δεν δείχνουν καμία συσχέτιση ή κανένα αυξημένο κίνδυνο (*Lidegaard O. et al. 2005, Bowdin S. et al. 2007, Doornbos M.E. et al. 2007*). Οι διαφορές στη μεθοδολογία μεταξύ των μελετών και η σπανιότητα των διαταραχών αποτύπωσης συμβάλλουν στην ετερογένεια αυτών των αποτελεσμάτων. Ωστόσο, η επιγενετική τροποποίηση των γονιδίων ανάπτυξης, όπως έχει αναφερθεί και σε παραπάνω ενότητα, μπορεί να προκαλείται λόγω της προκλητής ορμονικής διέγερσης και της *in vitro* καλλιέργειας εμβρύου.

6. Μακροπρόθεσμα αποτελέσματα σε παιδιά

Μεταβολική και καρδιαγγειακή υγεία παιδιών

Οι καρδιαγγειακές αλλαγές που παρατηρούνται στα παιδιά που συλλαμβάνονται με τεχνικές ART ξεκινώντας από την ηλικία των 3 ετών περιλαμβάνουν διεσταλμένους κόλπους, πιο σφαιρικές κοιλίες, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, σημεία συστολικής και διαστολικής δυσλειτουργίας και συστηματική και πνευμονική υπέρταση (Sakka, S.D. et al. 2010, Zhou J. et al. 2014, Liu H. et al., 2015, von Arx R. et al. 2015, Guo X.Y. et al. 2017, Valenzuela-Alcaraz B. et al. 2019, Zandstra H. et al. 2020). Στην ηλικία των 6-10 ετών, οι απόγονοι ART παρουσίασαν επίσης υψηλότερο κίνδυνο για μεταβολική δυσλειτουργία, με αυξημένη γλυκόζη νηστείας και αντίσταση στην ινσουλίνη σε σύγκριση με τα παιδιά φυσικών συλλήψεων (Chen M. et al, 2014, Pontesilli M. et al. 2015, Guo X.Y. et al., 2017, Cui L. et al. 2020). Δύο μελέτες, ανέφεραν επίσης ότι, παρουσίασαν αυξημένο σωματικό λίπος και λιπώδεις μάζες με δερματοπτυχές (Ceelen M. et al. 2007, Hart R. & Norman R.J. 2013). Αντίθετα, στην μελέτη των Scherrer U. et al (2012) δεν βρήκαν διαφορές στο λιπιδικό προφίλ, στην ανοχή στη γλυκόζη και στην ινσουλίνη, στην αρτηριακή πίεση ή στον δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) σε παιδιά που συλλήφθηκαν με τεχνικές ART σε σύγκριση με τα παιδιά από φυσικές συλλήψεις. Ωστόσο, βρήκαν γενική και πνευμονική αγγειακή δυσλειτουργία σε μια ομάδα παιδιών 11 ετών που γεννήθηκαν με τις τεχνικές ART (Scherrer U. et al. 2012). Επιπλέον, παρά το γεγονός ότι παρουσιάζουν παρόμοιο μέγεθος σώματος, τα πρότυπα ανάπτυξης των παιδιών με ART φαίνονται εντυπωσιακά παρόμοια με αυτά των παιδιών με φυσική σύλληψη που αναπτύσσουν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και καρδιαγγειακή νόσο αργότερα στη ζωή τους (Barker D.J. et al. 2005, Magnus M. et al. 2021, Roseboom T.J. & Eriksson J.G 2021).

Γνωστική και νευροαναπτυξιακή υγεία παιδιών

Τα παιδιά που έχουν γεννηθεί με τεχνικές ART εμφανίζουν παρόμοιες νευρολογικές και ψυχοκινητικές αναπτυξιακές ικανότητες έως την ηλικία των 3 ετών ακόμη και, όταν γεννιούνται πρόωρα (Roychoudhury S. et al. 2021) σε σύγκριση με παιδιά φυσικών συλλήψεων (Nekkebroeck J. et al. 2008, Carson C. et al. 2010, Sanchez-Soler M.J. et al. 2020). Επιπλέον, τα παιδιά που προέρχονται τόσο από μονήρης όσο και από πολύδυμες κήσεις των τεχνικών ART, παρουσιάζουν την ίδια σχολική απόδοση με τα παιδιά φυσικών συλλήψεων (Wagenaar K. et al. 2008, Punamaki R.L. et al. 2016, Norrman E. et al. 2018, Luke B. et al. 2020b) . Σύμφωνα με την μελέτη των Farhi A. et al. (2021a), η γνωστική λειτουργία, η οπτικοκινητική ικανότητα, η προσοχή και οι λεκτικές δεξιότητες των παιδιών ART είναι παρόμοιες με τα παιδιά φυσικών συλλήψεων. Στον αντίποδα, δύο παλαιότερες αναφορές υπόδειξαν ότι η ART ασκεί ορισμένες αρνητικές επιδράσεις στη γνωστική ανάπτυξη. Μια μελέτη βρήκε 4 φορές υψηλότερο κίνδυνο ύποπτης αναπτυξιακής καθυστέρησης και εγκεφαλικής παράλυσης στα παιδιά ART σε σύγκριση με τα παιδιά φυσικών συλλήψεων (Stromberg B. et al. 2002). Μια άλλη μελέτη βρήκε σημαντική αύξηση στον κίνδυνο διανοητικής καθυστέρησης σε παιδιά ART κατά το πρώτο έτος της ζωής τους, αλλά αυτή η συσχέτιση εξαφανίστηκε όταν η ανάλυση περιορίστηκε στις μονήρεις κήσεις (Sandin S. et al. 2013).

Έχουν γίνει ευρείες συζητήσεις σχετικά με το εάν η χρήση της ART σχετίζεται με την αύξηση διαταραχών του φάσματος του αυτισμού στους απογόνους. Ενώ οι περισσότερες μελέτες δεν μπόρεσαν να βρουν συσχετίσεις (Sandin S. et al. 2013, Lung F.W. et al. 2018, Jenabi E. et al. 2020, Farhi A. et al. 2021b), μερικές μελέτες ανέφεραν σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο για διαταραχές του φάσματος του αυτισμού σε απογόνους ART (Funtain C. et al. 2015, Liu L. et al. 2017). Ωστόσο, η επίδραση μειώθηκε σημαντικά όταν ελήφθησαν υπόψη οι δυσμενείς προγεννητικές και περιγεννητικές εκβάσεις και τα δημογραφικά στοιχεία (Funtain C. et al. 2015). Είναι αξιοσημείωτο ότι, μια προγενέστερη μελέτη είχε αναφέρει ότι, τα παιδιά ART είχαν σημαντικά χαμηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν αυτισμό σε σύγκριση με τα παιδιά από φυσική σύλληψη (Maimburg R.D. & Vaeth M. 2007). Συνολικά, τα αποτελέσματα της ψυχικής υγείας και οι δεξιότητες επικοινωνίας των παιδιών που γεννήθηκαν μέσω ART είναι καθησυχαστικά και παρόμοια με των παιδιών από φυσικές συλλήψεις.

Μακροχρόνια υγεία εφήβων και ενηλίκων

Δεδομένου ότι η πρώτη γενιά παιδιών ART φτάνει τώρα μόλις τα σαράντα τους, δεν υπάρχουν, μέχρι σήμερα, μελέτες που να διερευνούν τα αποτελέσματα υγείας σε ενήλικες μεγαλύτερης ηλικίας, δηλαδή όταν ο αναπτυξιακός προγραμματισμός αναμένεται να εκδηλωθεί πιο σθεναρά. Ωστόσο, μερικές πρόσφατες μελέτες που αναφέρουν την υγεία των εφήβων και των νεαρών ενηλίκων υποδηλώνουν ότι τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα της ART μπορεί να είναι λιγότερο επιβλαβή από ό,τι αναμενόταν. Αντίστοιχα, οι ανωμαλίες της αρτηριακής πίεσης στην πρώιμη ζωή, που αναφέρθηκαν σε παιδιά με ART, εξαφανίστηκαν όταν έφτασαν στην εφηβεία. Αγόρια και κορίτσια 14 ετών που συλλήφθηκαν με IVF/ICSI είχαν συγκρίσιμη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση σε ηρεμία με τους εφήβους από φυσικές συλλήψεις (*Belva F. et al. 2007 & 2012b*).

Μια ολοκληρωμένη κοόρτη διερεύνησε τη παρουσία μεταβολικού συνδρόμου σε ενήλικες 18-22 ετών που συνελήφθη με τεχνικές ART και βρήκε παρόμοια αποτελέσματα με τους ενήλικες από φυσικές συλλήψεις. Μόνο οι συγκεντρώσεις λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας χοληστερόλης (HDL) ήταν χαμηλότερες στους άνδρες απογόνους ART (*Belva F. et al. 2018*). Επίσης, μια μελέτη που διερεύνησε διάφορα καρδιαγγειακά και μεταβολικά αποτελέσματα σε απογόνους ART, συμπεριλαμβανομένου ανδρών και γυναικών 22-35 ετών, δεν ανέφερε στοιχεία για παράγοντες κινδύνου δεικτών υποκλινικής αθηροσκλήρωσης (*Juonala M. et al. 2020*). Ωστόσο, σε παλαιότερες μελέτες αναφέρθηκε αυξημένη περιφερική παχυσαρκία (*Ceelen M. et al. 2007*) και υψηλότερα επίπεδα συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης σε απογόνους ART 8-18 ετών (*Ceelen et al. 2008a*).

Όσον αφορά την αναπαραγωγική υγεία, οι άρρενες έφηβοι που συνελήφθησαν με τεχνικές ART έδειξαν φυσιολογική λειτουργία των γονάδων κατά την εφηβεία, αλλά η συγκέντρωση και η ποιότητα του σπέρματός τους ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σύγκριση με τους εφήβους από φυσικές συλλήψεις (*Ceelen et al. 2008b, Belva F. et al. 2019*). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν πιθανή επίδραση των τεχνικών ART ή κληρονομούμενη υπογονιμότητα, τα οποία θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω. Το στάδιο της εφηβείας και η ηλικία εμμηναρχής ήταν παρόμοια σε γυναίκες από ART και σε γυναίκες από φυσικές συλλήψεις, με την μόνη αξιοσημείωτη διαφορά ότι οι γυναίκες που γεννήθηκαν από τεχνικές ART παρουσίασαν αυξημένα επίπεδα

δεϋδροεπιανδροστερόνης (DHEA) και ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) (Ceelen M. et al., 2008b) ιδιαίτερα εάν ήταν είχαν γεννηθεί νεογνά μικρά για την ηλικία κύησης (SGA) (Sakka S.D. et al. 2010).

Τέλος, ο κίνδυνος εμφάνισης ψυχιατρικών διαταραχών μελετήθηκε σε μια κοόρτη, συγκρίνοντας τους απογόνους ART και των φυσικών συλλήψεων από την παιδική ηλικία μέχρι τη νεαρή ενήλικη ζωή (Rissanen E. et al. 2020). Αυτή η μελέτη έδειξε μια μέτρια αύξηση στην πιθανότητα γενικής ψυχιατρικής διάγνωσης. Επιπλέον, τα παιδιά ART έλαβαν τις διαγνώσεις τους κατά μέσο όρο 2 χρόνια νωρίτερα από τα παιδιά φυσικών συλλήψεων, πιθανώς επειδή οι γονείς που υποβλήθηκαν σε τεχνικές ART ενδέχεται να είναι πιο πιθανό να αναζητήσουν ιατρική βοήθεια για τα παιδιά τους. Αξίζει να σημειωθεί, ότι η αναφερόμενη επίδραση εξαφανίστηκε με τον καιρό και οι νεαροί ενήλικες με ART κατέληξαν να εμφανίζουν χαμηλότερη σωρευτική επίπτωση ψυχιατρικών διαγνώσεων από τους απογόνους φυσικών συλλήψεων (Rissanen E. et al. 2020).

Συμπερασματικά, ενώ η γνώση σχετικά με τα αποτελέσματα υγείας πέρα από την εφηβεία για όσους συλλαμβάνονται με ART είναι ακόμη σπάνια, τα περισσότερα από τα ευρήματα είναι ενθαρρυντικά και υποδηλώνουν ότι οι παθολογίες που αναφέρονται σε μωρά και παιδιά ART φαίνονται παροδικές και δεν παρατηρούνται πλέον όταν μεγαλώσουν (Halliday et al. 2014, Rissanen E. et al. 2020, Magnus M.C. et al. 2021).

7. Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία, παρατηρήθηκε ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος τόσο μαιευτικών όσο και περιγεννητικών εκβάσεων στις κήσεις που έχουν συλληφθεί με τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Αυτές οι δυσμενείς εκβάσεις αναφέρεται ότι, οφείλονται σε μεγάλο βαθμό στον αυξημένο κίνδυνο πολύδυμων κήσεων λόγω της τακτικής να μεταφέρονται πολλά έμβρυα. Παρόλα αυτά, στην βιβλιογραφία παρατηρείται ότι και η εκλεκτική μεταφορά ενός μόνο εμβρύου δεν εξαλείφει εντελώς τις συσχετίσεις με δυσμενή έκβαση, σηματοδοτώντας ότι είτε η μέθοδος είτε η ίδια η διάγνωση της υπογονιμότητας μπορεί να εγκυμονεί κάποιο κίνδυνο. Αρκετές μελέτες που εξέτασαν τη συσχέτιση της εξωσωματικής γονιμοποίησης με δυσμενείς εκβάσεις υπογράμμισαν το γεγονός ότι η διάγνωση της υπογονιμότητας από μόνη της μπορεί να είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για δυσμενή περιγεννητικά και μακροπρόθεσμα αποτελέσματα υγείας στα παιδιά. Οι ασθενείς με υπογονιμότητα μπορεί να είναι μεγαλύτερης ηλικίας και πιο πιθανό να έχουν προϋπάρχουσες συννοσηρότητες όπως υπέρταση, διαβήτη ή αντίσταση στην ινσουλίνη ή άλλες ενδοκρινολογικές όπως, διαταραχές του θυρεοειδούς ή PCOS που μπορεί να προδιαθέτουν σε δυσμενή μαιευτικά και περιγεννητικά αποτελέσματα. Αυτοί οι συγχυτικοί παράγοντες θα πρέπει να ελέγχονται σε μελλοντικές μελέτες.

Επιπρόσθετα, η τακτική της χορήγησης γοναδοτροπινών για τη διέγερση των ωοθηκών οδηγεί στην παραγωγή υπερφυσιολογικών επιπέδων οιστραδιόλης από τις ωοθήκες. Αυτή η έκθεση σε υπερφυσιολογικά επίπεδα οιστραδιόλης κατά την πρώιμη και ίσως πιο ευάλωτη περίοδο της εμβρυογένεσης μπορεί να μεταβάλλει την εμφύτευση και την ανάπτυξη του πλακούντα, προδιαθέτοντας έτσι σε υπερτασικές διαταραχές της εγκυμοσύνης και εξασθενημένη ανάπτυξη του εμβρύου. Οι μηχανισμοί με τους οποίους μπορεί να συμβεί αυτό απαιτούν περαιτέρω μελέτη καθώς τα δεδομένα είναι περιορισμένα.

Όχι μόνο οι ορμονικές αλλαγές είναι πιθανοί οδηγοί για δυσμενή έκβαση, αλλά ο χειρισμός των γαμετών κατά τη διάρκεια των διαφόρων διαδικασιών στην εξωσωματική γονιμοποίηση, συμπεριλαμβανομένης της καλλιέργειας των ωαρίων και των εμβρύων, της συμβατικής γονιμοποίησης ή ICSI και της εμβρυομεταφοράς (φρέσκιας ή κρυοσυντηρημένης) μπορεί επίσης να συμβάλει. Κάθε μεμονωμένο/συγκεκριμένο βήμα ή/και διαδικασία μπορεί να διαδραματίσει

ανεξάρτητο και κρίσιμο ρόλο στη περιγεννητική έκβαση, ωστόσο η απόλυτη αύξηση του κινδύνου είναι γενικά χαμηλή. Παρόλο που πολλές μελέτες υποδεικνύουν ότι υπάρχει σχετική αύξηση του κινδύνου για δυσμενείς περιγεννητικές εκβάσεις σε κάθε τεχνική ART, στο γενικό σύνολο αυτή η αύξηση είναι χαμηλή. Επιπλέον, τα δεδομένα είναι λίγα και αραιά και βασίζονται σε σχετικά μικρές κοόρτες. Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας να διατηρηθούν οι τρέχοντες ρυθμοί έρευνας προκειμένου να εντοπιστούν καλύτερα οι κίνδυνοι και να αναπτυχθούν προληπτικά μέτρα.

8. Βιβλιογραφία

1. AbdelHafez F.F., Desai N., Abou-Setta A.M., Falcone T., Goldfarb J. (2010). Slow freezing, vitrification and ultra-rapid freezing of human embryos: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 20(2):209-222.
2. Adams D.H., Clark R.A., Davies M.J., De Lacey S. (2015). A meta-analysis of neonatal health outcomes from oocyte donation. *J Dev Orig Health Dis* 27:1-16.
3. Adnani L., Langevin L.M., Gautier E., Dixit R., Parsons K., Li S., Kaushik G., Wilkinson G., Wilson R., Childs S., Nguyen M.D., et al. (2015). *Zac1* Regulates the differentiation and migration of neocortical neurons via *Pac1*. *J Neurosci* 35:13430-13447.
4. Almasi-Hashiani A., Omani-Samani R., Mohammadi M., Amini P., Navid B., Alizadeh A., Morasae E.K., Maroufizadeh S. (2019). Assisted reproductive technology and the risk of preeclampsia: an updated systematic review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth* 19:149.
5. Alviggi C., Conforti A., Carbone I.F., Borrelli R., de Placido G., Guerriero S. (2018). Influence of cryopreservation on perinatal outcome after blastocyst- vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 51(1):54-63.
6. Ashrafi M., Gosili R., Hosseini R., Arabipour A., Ahmadi J., Chehrizi M. (2014). Risk of gestational diabetes mellitus in patients undergoing assisted reproductive techniques. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 176:149-152.
7. Assisted Reproductive Technology National Summary Report (2016). National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Division of Reproductive Health 16-55.
8. Barker D.J., Osmond C., Forsen T.J., Kajantie E., Eriksson J.G. (2005). Trajectories of Growth Among Children Who Have Coronary Events as Adults. *N. Engl. J. Med* 353:1802-1809.
9. Bay B., Ingerslev H.J., Lemmen J.G., Degn B., Rasmussen I.A., Kesmodel U.S. (2016). Preimplantation genetic diagnosis: a national multicenter obstetric and neonatal follow-up study. *Fertil Steril* 106(6):1363-1369.
10. Belva F., Bonduelle M., Provyn S., Painter R.C., Tournaye H., Roelants M., De Schepper J. (2018). Metabolic Syndrome and its Components in Young Adults Conceived by ICSI. *Int. J Endocrinol* 1-8.
11. Belva F., Bonduelle M., Roelants M., Verheyen G., Van Landuyt L. (2016). Neonatal health including congenital malformation risk of 1072 children born after vitrified embryo transfer. *Hum Reprod* 31(7):1610-1620.
12. Belva F., Bonduelle M., Tournaye H. (2019). Endocrine and Reproductive Profile of Boys and Young Adults Conceived after ICSI. *Curr Opin Obstet Gynecol* 31:163-169.
13. Belva F., Henriët S., Liebaers I., Van Steirteghem A., Celestin-Westreich S., Bonduelle M. (2007). Medical Outcome of 8-Year-Old Singleton ICSI Children (Born \geq 32 Weeks' Gestation) and a Spontaneously Conceived Comparison Group. *Hum Reprod* 22:506-515.
14. Belva F., Roelants M., De Schepper J., Roseboom T.J., Bonduelle M., Devroey P., Painter R.C. (2012). Blood Pressure in ICSI-Conceived Adolescents. *Hum Reprod* 27(10):3100-3108.
15. Berntsen S., Soderstrom-Anttila V., Wennerholm U.B., Laivuori H., Loft A., Oldereid N.B., Romundstad L.B., Bergh C., Pinborg A. (2019) The health of children conceived by ART: 'the chicken or the egg?'. *Hum Reprod Update* 25(2):137-158.
16. Birenbaum-Carmeli D. & Dirnfeld M. (2008). In vitro fertilization policy in Israel and women's perspectives: The more the better? *Reproductive Health Matters* 16(31):182-191.
17. Blazquez A., Garcia D., Rodriguez A., Vassena R., Figueras F., Vernaev V. (2016). Is oocyte donation a risk factor for preeclampsia? A systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 33:855-863.
18. Blyth E., Lee G.L., Yee S. (2013). Freezing the Biological Clock: A Viable Fertility Preservation Option for Young Singaporean Women? *Annals, Academy of Medicine Singapore* 42(9):472-477.
19. Bonduelle M., Joris H., Hofmans K., Liebaers I., Van Steirteghem A. (1998). Mental development of 201 ICSI children at 2 years of age. *Lancet* 351(9115):1553.
20. Bosdou J.K., Anagnostis P., Goulis D.G., Lainas G.T., Tarlatzis B.C., Grimbizis G.F., Kolibianakis E.F. (2020). Risk of gestational diabetes mellitus in women achieving singleton pregnancy spontaneously or after ART: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 26:514-544.

21. Bowdin S., Allen C., Kirby G., Brueton L., Afnan M., Barratt C., Kirkman-Brown J., Harrison R., Maher E.R., Reardon W. (2007). A survey of assisted reproductive technology births and imprinting disorders. *Hum Reprod* 22(12):3237-3240.
22. Buckett W.M., Chian R.C., Dean N., Sylvestre C., Holzer H., Tan S.L. (2008). Pregnancy loss in pregnancies conceived after in vitro oocyte maturation, conventional in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 90(3):546-550.
23. Buckett W.M., Chian R.C., Holzer H., Dean N., Usher R., Tan S.L. (2007). Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Obstet Gynecol* 110:885-891.
24. Cai J., Liu L., Xu Y., Liu Z., Jiang X., Li P., Sha A., Ren J. (2019). Estradiol level in ovarian stimulation cycles affects the birth weight of neonatal conceived through subsequent frozen-thawed cycles: A retrospective study. *BJOG*. 126:711–718.
25. Calhaz-Jorge C., De Geyter C., Kupka M.S., De Mouzon J., Erb K., Mocanu E., Motrenko T., Scaravelli G., Wyns C., Goossens V. (2017). European IVF-monitoring Consortium (EIM) European IVF-monitoring Consortium (EIM). Assisted reproductive technology in Europe, 2013: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 32(10):1957-1973.
26. Carson C., Kurinczuk J.J., Sacker A., Kelly Y., Klemetti R., Redshaw M., Quigley M.A. (2010). Cognitive Development Following ART: Effect of Choice of Comparison Group, Confounding and Mediating Factors. *Hum Reprod* 25(1):244-252.
27. Cavoretto P., Candiani M., Giorgione V., Inversetti A., Abu-Saba M.M., Tiberio F., Sigismondi C., Farina A. (2018). Risk of spontaneous preterm birth in singleton pregnancies conceived after IVF/ICSI treatment: meta-analysis of cohort studies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 51:43-53.
28. Ceelen M., Van Weissenbruch M.M., Roos J.C., Vermeiden J.P., Van Leeuwen F.E., Delemarre-van De Waal H.A. (2007). Body Composition in Children and Adolescents Born After In Vitro Fertilization or Spontaneous Conception. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3417-3423.
29. Ceelen M., Van Weissenbruch M.M., Vermeiden J.P., Van Leeuwen F.E., Delemarre-van de Waal (2008a). Cardiometabolic Differences in Children Born after In Vitro Fertilization: Follow-Up Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 93(5):1682-8.
30. Ceelen M., Van Weissenbruch M.M., Vermeiden J.P., Van Leeuwen F.E., Delemarre-Van De Waal H.A. (2008b). Pubertal Development in Children and Adolescents Born after IVF and Spontaneous Conception. *Hum Reprod* 23:2791-2798.
31. Cha K.Y., Chung H.M., Lee D.R., Kwon H., Chung M.K., Park L.S., Choi D.H., Yoon T.K. (2005). Obstetric outcome of patients with polycystic ovary syndrome treated by in vitro maturation and in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 83:1461-1465.
32. Chambers G.M., Hoang V.P., Sullivan E.A., Chapman M.G., Ishihara O., Zegers-Hochschild F., Nygren K.G., Adamson G.D. (2014). The impact of consumer affordability on access to assisted reproductive technologies and embryo transfer practices: An international analysis. *Fertility and Sterility* 101(1):191–198.
33. Chen M., Wu L., Zhao J., Wu F., Davies M.J., Wittert G.A., Norman R.J., Robker R.L., Heilbronn L.K. (2014). Altered Glucose Metabolism in Mouse and Humans Conceived by IVF. *Diabetes* 63:3189-3198.
34. Chen Z.J., Shi Y., Sun Y., Zhang B., Liang X., Cao Y., Yang J., Liu J., Wei D., Weng N., Tian L., Hao C., Yang D., Zhou F., et al. (2016). Fresh versus Frozen Embryos for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med* 375(6):523-533.
35. Chih H.J., Elias F.T., Gaudet L., Velez M.P. (2021). Assisted reproductive technology and hypertensive disorders of pregnancy: systematic review and meta-analyses. *BMC Pregnancy Childbirth* 21(1):449.
36. Clayton P.E., Cianfarani S., Czernichow P., Johannsson G., Rapaport R., Rogol A. (2007). Management of the child born small for gestational age through to adulthood: a consensus statement of the International Societies of Pediatric Endocrinology and the Growth Hormone Research Society. *J Clin Endocrinol Metab* 92(3):804-810.
37. Conrad K.P. & Baker V.L (2013). Corpus luteal contribution to maternal pregnancy physiology and outcomes in assisted reproductive technologies. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 304: R69-72.
38. Conrad K.P. (2011). Emerging role of relaxin in the maternal adaptations to normal pregnancy: Implications for preeclampsia. *Semin Nephrol* 31:15-32.
39. Coticchio G., Dal Canto M., Mignini Renzini M., Guglielmo M.C., Brambillasca F., Turchi D., Novara P.V., Fadini R. (2015). Oocyte maturation: gamete-somatic cells interactions, meiotic resumption, cytoskeletal dynamics and cytoplasmic reorganization. *Hum Reprod* 21:427-454.

40. Cui L., Zhou W., Xi B., Ma J., Hu J., Fang M., Hu K., Qin Y., You L., Cao Y., Yang L, Ma C., Shui W., Wang M., Zhao M., Zhang J., Chen Z.J. (2020). Increased Risk of Metabolic Dysfunction in Children Conceived by Assisted Reproductive Technology. *Diabetologia* 63(10):2150-2157.
41. Daniel G., Schmidt-Edelkraut U., Spengler D., Hoffmann A. (2015). Imprinted *Zac1* in neural stem cells. *World J Stem Cells* 7:300-314.
42. Dar S., Lazer T., Shah P.S., Librach C.L. (2014). Neonatal outcomes among singleton births after blastocyst versus cleavage stage embryo transfer: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 20:439-448.
43. Dar S., Librach C.L., Gunby J., Bissonnette F., Cowan L. (2013). Increased risk of preterm birth in singleton pregnancies after blastocyst versus Day 3 embryo transfer: Canadian ART Register (CARTR) analysis. *Hum Reprod* 28:924-928.
44. Davies M.J., Moore V.M., Willson K.J., Van Essen P., Priest K., Scott H., Haan E., Chan A. (2012). Reproductive Technologies and the Risk of Birth Defects. *New England Journal of Medicine* 366(19):1803-1813.
45. De Sutter P., Delbaere I., Gerris J., Verstraelen H., Goetgeluk S., Van der Elst J., Temmerman M., Dhont M. (2006). Birthweight of singletons after assisted reproduction is higher after single- than after double-embryo transfer. *Hum Reprod* 21:2633-2637.
46. de Waal E., Vrooman L.A., Fischer E., Ord T., Mainigi M.A., Coutifaris C., Schultz R.M., Bartolomei M.S. (2015). The cumulative effect of assisted reproduction procedures on placental development and epigenetic perturbations in a mouse model. *Hum Mol Genet* 24(24):6975-6985.
47. DeBaun M.R., Niemitz E.L., Feinberg A.P. (2003). Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of *LIT1* and *H19*. *Am J Hum Genet* 72(1):156-160.
48. Dekker G.A. & Sibai B.M. (1998). Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 179:1359-1375.
49. Devroey P., Polyzos N.P., Blockeel C. (2011). An OHSS-free clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum Reprod* 26:2593-2597.
50. Devroey P., Wisanto A., Camus M. Van Waesberghe L., Bourgain C., Liebaers I., Van Steirteghem A.C. (1988). Oocyte donation in patients without ovarian function. *Hum Reprod* 3(6):699-704.
51. Doherty A.S., Mann M.R., Tremblay K.D., Bartolomei M.S., Schultz R.M. (2000). Differential effects of culture on imprinted *H19* expression in the preimplantation mouse embryo. *Biol Reprod* 62(6):1526-1535.
52. Donjacour A., Liu X., Lin W., Simbulan R., Rinaudo P.F. (2014). In vitro fertilization affects growth and glucose metabolism in a sex-specific manner in an outbred mouse model. *Biol Reprod* 90(4):80.
53. Doornbos M.E., Maas S.M., McDonnell J., Vermeiden J.P., Hennekam RC. (2007). Infertility, assisted reproduction technologies and imprinting disturbances: a Dutch study. *Hum Reprod* 22(9):2476-2480.
54. Dumoulin J.C., Land J.A., Van Montfoort A.P. Nelissen E.C., Coonen E., Derhaag J.G., Schreurs I.L., Dunselman G.A., Kester A.D., Geraedts J.P., Evers J.L. (2010). Effect of in vitro culture of human embryos on birthweight of newborns. *Hum Reprod* 25(3):605-612.
55. Farhi A., Gabis L.V., Frank S., Glasser S., Hirsh-Yechezkel G., Brinton L., Scoccia B., Ron-El R., Orvieto R., Lerner-Geva L. (2021a). Cognitive Achievements in School-Age Children Born Following Assisted Reproductive Technology Treatments: A Prospective Study. *Early Hum Dev* 155:105327.
56. Farhi A., Glasser S., Gabis L.V., Hirsh-Yechezkel G., Frank S., Brinton L., Scoccia B., Ron-El R., Orvieto R., Lerner-Geva L. (2021b). How Are They Doing? Neurodevelopmental Outcomes at School Age of Children Born Following Assisted Reproductive Treatments. *J Child Neurol* 36(4):262-271.
57. Ferraretti A.P., Gianaroli L., Magli C., Fortini D., Selman H.A., Feliciani E. (1999). Elective cryopreservation of all pronucleate embryos in women at risk of ovarian hyperstimulation syndrome: efficiency and safety. *Hum Reprod* 14(6):1457-1460.
58. Finger R., Sommerfelt C., Freeman M., Wilson C.K., Wade A., Daly D. (2010). A cost-effectiveness comparison of embryo donation with oocyte donation. *Fertil Steril* 93:379-381.
59. Fountain C., Zhang Y., Kissin D.M., Schieve L.A., Jamieson, D.J., Rice C., Bearman P. (2015). Association between Assisted Reproductive Technology Conception and Autism in California, 1997-2007. *Am. J. Public Health* 105(5):963-971.
60. Gibbons W.E., Cedars M., Ness R.B. (2011). Toward understanding obstetrical outcome in advanced assisted reproduction: varying sperm, oocyte, and uterine source and diagnosis. *Fertil Steril* 95:1645-1649.

61. Gicquel C., Gaston V., Mandelbaum J., Siffroi J.P., Flahault A., Le Bouc Y. (2003). In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCN10T gene. *Am J Hum Genet* 72(5):1338-1341.
62. Ginstrom Ernstad E., Wennerholm U.B., Khatibi A., Petzold M., Bergh C. (2019). Neonatal and maternal outcome after frozen embryo transfer: increased risks in programmed cycles. *Am J Obstet Gynecol* 221(2): 126.e1-126.e18.
63. Giritharan G., Li M.W., Di Sebastiano F., Esteban F.J., Horcajadas J.A., Lloyd K.C., Donjacour A., Maltepe E., Rinaudo P.F. (2010). Effect of ICSI on gene expression and development of mouse preimplantation embryos. *Hum Reprod* 25(12):3012-3024.
64. Glatthorn H.N., Sauer M.V., Brandt J.S., Ananth C.V. (2021). Infertility treatment and the risk of small for gestational age births: a population-based study in the United States. *F S Rep* 2(4):413-420.
65. Gray E., Reimondos A., Lazzari E., Breunig R., Steinhäuser R., Zhang J., Biddle N., Gray M. (2021). Impacts of policies in fertility rates. Canberra: The Australian Government.
66. Gui J., Ling Z., Hou X., Fan Y., Xie K., Shen R. (2020). In vitro fertilization is associated with the onset and progression of preeclampsia. *Placenta* 89:50-57.
67. Gundogan F., Bianchi D.W., Scherjon S.A., Roberts D.J. (2010). Placental pathology in egg donor pregnancies. *Fertil Steril* 93:397-404.
68. Guo X.Y., Liu X.M., Jin L., Wang T.T., Ullah K., Sheng J.Z., Huang H.F. (2017). Cardiovascular and Metabolic Profiles of Offspring Conceived by Assisted Reproductive Technologies: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Fertil. Steril* 107:622-631.
69. Halliday J., Oke K., Breheny S., Algar E.J., Amor D. (2004). Beckwith-Wiedemann syndrome and IVF: a case-control study. *Am J Hum Genet* 75(3):526-528.
70. Halliday J., Wilson C., Hammarberg K., Doyle L.W., Bruinsma, F., McLachlan R., McBain J., Berg T., Fisher J.R., Amor D. (2014). Comparing Indicators of Health and Development of Singleton Young Adults Conceived with and without Assisted Reproductive Technology. *Fertil Steril* 101:1055-1063.
71. Handyside A.H., Kontogianni E.H., Hardy K., Winston R.M. (1990). Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 344(6268):768-770.
72. Hann M., Roberts S.A., D'Souza S.W., Clayton P., Macklon N., Brison D.R. (2018). The growth of assisted reproductive treatment-conceived children from birth to 5 years: a national cohort study. *BMC Medicine* 16:224.
73. Hansen M., Kurinczuk J.J., Bower C., Webb S. (2002). The Risk of Major Birth Defects after Intracytoplasmic Sperm Injection and in Vitro Fertilization. *New England Journal of Medicine* 346(10):725-730.
74. Hart R. & Norman R.J. (2013). The Longer-Term Health Outcomes for Children Born as a Result of Ivf Treatment: Part I-General Health Outcomes. *Hum. Reprod. Update* 19:232-243.
75. He H., Jing S., Lu C.F., Tan Y.Q., Luo K.L., Zhang S.P., Gong F., Lu G.X., Lin G. (2019). Neonatal outcomes of live births after blastocyst biopsy in preimplantation genetic testing cycles: a follow-up of 1,721 children. *Fertil Steril* 112(1):82-88.
76. Henriksson P., Westerlund E., Wallen H., Brandt L., Hovatta O., Ekblom A. (2013). Incidence of pulmonary and venous thromboembolism in pregnancies after in vitro fertilisation: cross sectional study. *BMJ* 346:e8632.
77. Ho V.N., Pham T.D., Le A.H., Ho T.M., Vuong L.N. (2018). Live birth rate after human chorionic gonadotropin priming in vitro maturation in women with polycystic ovary syndrome. *J Ovarian Res*, 11(1):70.
78. Hou W., Shi G., Ma Y., Liu Y., Lu M., Fan X., Sun Y. (2021). Impact of preimplantation genetic testing on obstetric and neonatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 116(4):990-1000.
79. Ikemoto Y., Kuroda K., Ochiai A., Yamashita S., Ikuma S., Nojiri S., Itakura A., Takeda S. (2018). Prevalence and risk factors of zygotic splitting after 937 848 single embryo transfer cycles. *Hum Reprod* 33:1984-1991.
80. Ishihara O., Araki R., Kuwahara A., Itakura A., Saito H., Adamson G.D. (2014). Impact of frozen-thawed single-blastocyst transfer on maternal and neonatal outcome: an analysis of 277,042 single-embryo transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan. *Fertility and Sterility* 101:128-133.
81. Jenabi E., Seyedi M., Hamzehei R., Bashirian S., Rezaei M., Razjouyan K., Bashirian S., Rezaei M., Razjouyan K., Khazaei S. (2020). Association between Assisted Reproductive Technology and Autism Spectrum Disorders in Iran: A Case-Control Study. *Clin Exp Pediatr* 63(9):368-372.

82. Jeve Y.B., Potdar N., Opoku A., Khare M. (2016a). Three-arm age-matched retrospective cohort study of obstetric outcomes of donor oocyte pregnancies. *Int J Gynaecol Obstet* 133:156-158.
83. Jeve Y.B., Potdar N., Opoku A., Khare M. (2016b). Donor oocyte conception and pregnancy complications: a systematic review and meta-analysis. *BJOG* 123:1471-1480.
84. Juonala M., Lewis S., McLachlan R., Hammarberg K., Kennedy J., Saffery R., McBain J., Welsh L., Cheung M., Doyle L.W., Amor D.J., Burgner D.P., Halliday J. (2020). American Heart Association Ideal Cardiovascular Health Score and Subclinical Atherosclerosis in 22-35-Year-Old Adults Conceived with and without Assisted Reproductive Technologies. *Hum Reprod* 35(1):232-239.
85. Kalra S.K., Ratcliffe S.J., Coutifaris C., Molinaro T., Barnhart K.T. (2011). Ovarian Stimulation and Low Birth Weight in Newborns Conceived Through In Vitro Fertilization. *Obstetrics & Gynecology* 118(4):863-871.
86. Kamath M.S., Kirubakaran R., Mascarenhas M., Sunkara S.K. (2018). Perinatal outcomes after stimulated versus natural cycle IVF: A systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 36:94-101.
87. Karami M., Jenabi E., Fereidooni B. (2019). The association of placenta previa and assisted reproductive techniques: a meta-analysis [published correction appears in. *J Matern Fetal Neonatal Med* 32:4191.
88. Keegan D.A., Krey L.C., Chang H.C., Noyes N. (2007). Increased risk of pregnancy induced hypertension in young recipients of donated oocytes. *Fertil Steril* 87:776-781.
89. Kim S. (2019). Reproductive technologies as population control: How pronatalist policies harm reproductive health in South Korea. *Sexual and Reproductive Health Matters* 27(2):6-12.
90. Kissin D.M., Kulkarni A.D., Kushnir V.A., Jamieson D.J., National ART Surveillance System Group. (2014). Number of embryos transferred after in vitro fertilization and good perinatal outcome. *Obstet Gynecol* 123:239-247.
91. Klatsky P.C., Delaney S.S., Caughey A.B., Tran N.D., Scattman G.L., Rosenwaks Z. (2010). The role of embryonic origin in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 116:1387-1392.
92. Kleijkers S.H., Eijssen L.M., Coonen E., Derhaag J.G., Mantikou E., Jonker M.J., Mastenbroek S., Repping S., Evers J.L., Dumoulin J.C., Van Montfoort A.P. (2015). Differences in gene expression profiles between human preimplantation embryos cultured in two different IVF culture media. *Hum Reprod* 30(10):2303-2311.
93. Kleijkers S.H., van Montfoort A.P., Smits L.J., Viechtbauer W., Roseboom T.J., Nelissen E.C., Coonen E., Derhaag J.G., Bastings L., Schreurs I.E., Evers J.L., Dumoulin J.C. (2014). IVF culture medium affects post-natal weight in humans during the first 2 years of life. *Hum Reprod* 29(4):661-669.
94. Kohda T., Ogonuki N., Inoue K., Furuse T., Kaneda H., Suzuki T., Kaneko-Ishino T., Wakayama T., Wakana S., Ogura A., Ishino F. (2011). Intracytoplasmic sperm injection induces transcriptome perturbation without any transgenerational effect. *Biochem Biophys Res Commun* 410(2):282-288.
95. Leridon H. (2017). Biological Effects of First Birth Postponement and Assisted Reproductive Technology on Completed Fertility. *Population* 72(3):445-472.
96. Levi Setti P.E., Moioli M., Smeraldi A., Cesaratto E., Menduni F., Livio S., Morengi E., Patrizio P. (2016). Obstetric outcome and incidence of congenital anomalies in 2351 IVF/ICSI babies. *J Assist Reprod Genet* 33(6):711-717.
97. Levron Y., Dviri M., Segol I., Yerushalmi G.M., Hourvitz A., Orvieto R., Mazaki-Tovi S., Yinon Y. (2014). The "immunologic theory" of preeclampsia revisited: a lesson from donor oocyte gestations. *Am J Obstet Gynecol* 211:383.
98. Li Z., Wang Y.A., Ledger W., Edgar D.H., Sullivan E.A. (2014). Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population-based cohort study. *Hum Reprod* 29(12):2794-2801.
99. Licht P., Neuwinger J., Fischer O., Siebzehnruhl E., Wildt L. (2002). VEGF plasma pattern in ovulation induction: evidence for an episodic secretion and lack of immediate effect of hCG. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology and German Diabetes Association* 110(3):130-133.
100. Lidegaard O., Pinborg A., Andersen A.N. (2005). Imprinting diseases and IVF: Danish National IVF cohort study. *Hum Reprod* 20(4):950-954.
101. Liu H., Zhang Y., Gu H.T., Feng Q.L., Liu J.Y., Zhou J., Yan F. (2015). Association between Assisted Reproductive Technology and Cardiac Alteration at Age 5 Years. *JAMA Pediatr* 169:603-605.

102. Liu L., Gao J., He X., Cai Y., Wang L., Fan X. (2017). Association between Assisted Reproductive Technology and the Risk of Autism Spectrum Disorders in the Offspring: a Meta-Analysis. *Sci. Rep.* 7:46207.
103. Liu S.Y., Teng B., Fu J., Li X., Zheng Y., Sun X.X. (2013). Obstetric and neonatal outcomes after transfer of vitrified early cleavage embryos. *Hum Reprod* 28(8):2093-2100.
104. Luke B., Brown M.B., Eisenberg M.L., Callan C., Botting B.J., Pacey A., Sutcliffe A.G., Baker V.L. (2020a). In vitro fertilization and risk for hypertensive disorders of pregnancy: associations with treatment parameters. *Am J Obstet Gynecol* 222:350.
105. Luke B., Brown M.B., Ethen M.K., Canfield, M.A., Watkins S., Wantman E., Doody K.J. (2020b). Third Grade Academic Achievement Among Children Conceived with the Use of In Vitro Fertilization: a Population-Based Study in Texas. *Fertil Steril* 113(6):1242-1250.
106. Luke B., Gopal D., Cabral H., Stern J.E., Diop H. (2017). Pregnancy, birth, and infant outcomes by maternal fertility status: the Massachusetts Outcomes Study of Assisted Reproductive Technology. *Am J Obstet Gynecol* 217:327.
107. Luke B., Brown M.B., Wantman E., Seifer D.B., Sparks A.T., Lin P.C., Doody K.J., Van Voorhis B.J., Spector L.G. (2019). Risk of prematurity and infant morbidity and mortality by maternal fertility status and plurality. *J Assist Reprod Genet* 36:121-138.
108. Lung F.W., Chiang T.L., Lin S.J., Lee M.C., Shu B.C. (2018). Assisted Reproductive Technology Has No Association with Autism Spectrum Disorders: The Taiwan Birth Cohort Study. *Autism* 22, 377–384.
109. Magnus M.C., Wilcox A.J., Fadum E.A., Gjessing H.K., Opdahl S., Juliusson P.B., Romundstad L.B., Haberg S.E. (2021). Growth in Children Conceived by ART. *Hum Reprod* 36(4):1074-1082.
110. Maher E.R., Brueton L.A., Bowdin S.C., Luharia A., Cooper W., Cole T.R., Macdonald F., Sampson J.R., Barratt C.L., Reik W., Hawkins M. (2003). Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART) *J Med Genet* 40(1):62-64.
111. Maheshwari A., Pandey S., Amalraj Raja E., Shetty A., Hamilton M., Bhattacharya S. (2018). Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? *Hum Reprod Update* 24(1):35-58.
112. Maheshwari A., Raja E.A., Bhattacharya S. (2016). Obstetric and perinatal outcomes after either fresh or thawed frozen embryo transfer: an analysis of 112,432 singleton pregnancies recorded in the Human Fertilisation and Embryology Authority anonymized dataset. *Fertility and Sterility* 106(7):1703-1708.
113. Maimburg R.D. & Vaeth M. (2007). Do children Born after Assisted Conception Have Less Risk of Developing Infantile Autism? *Hum Reprod* 22:1841-1843.
114. Mainigi M., Rosenzweig J.M., Lei J., Mensah V., Thomaier L., Talbot C.C., Olalere D., Ord T., Rozzah R., Johnston M.V., Burd I. (2016). Peri-Implantation Hormonal Milieu: Elucidating Mechanisms of Adverse Neurodevelopmental Outcomes. *Reprod Sci* 23(6):785-794.
115. Mainigi M.A., Olalere D., Burd I., Sapienza C., Bartolomei M., Coutifaris C. (2014). Peri-Implantation Hormonal Milieu: Elucidating Mechanisms of Abnormal Placentation and Fetal Growth. *Biology of Reproduction* 90(2):26, 21-29.
116. Malchau S.S., Loft A., Henningsen A.K., Nyboe Andersen A., Pinborg A. (2014). Perinatal outcomes in 6,338 singletons born after intrauterine insemination in Denmark, 2007 to 2012: the influence of ovarian stimulation. *Fertil Steril* 102:1110-1116.
117. Marino J.L., Moore V.M., Willson K.J., Rumbold A., Whitrow M.J., Giles L.C., Davies M.J. (2014). Perinatal outcomes by mode of assisted conception and sub-fertility in an Australian data linkage cohort. *PLoS One*, 9(1):e80398.
118. Martins W.P., Nastri C.O., Rienzi L., van der Poel S.Z., Gracia C.R., Racowsky C. (2016). Obstetrical and perinatal outcomes following blastocyst transfer compared to cleavage transfer: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 31(11):2561-2569.
119. Mayo S., Monfort S., Rosello M., Oltra S., Orellana C., Martinez F. (2015). In pursuit of new imprinting syndromes by epimutation screening in idiopathic neurodevelopmental disorder patients. *Biomed Res Int* 2015:341986.
120. McCarter K., Setton R., Chung A., An A., Rosenwaks Z., Spandorfer S. (2021). Is increasing paternal age negatively associated with donor oocyte recipient success? A paired analysis using sibling oocytes. *Fertility and Sterility* 116(2):373-379.
121. McCurry J. (2020). Japan to help cover IVF costs in attempt to avert demographic crisis. *The Guardian*.
122. McLernon D.J., Harrild K., Bergh C., Davies M.J., De Neubourg D., Dumoulin J.C., Gerris J., Kremer J.A., Martikainen H., Mol B.W., Norman R.J., Thurin-Kjellberg A., Tiitinen A., et al.

- (2010). Clinical effectiveness of elective single versus double embryo transfer: meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *BMJ* 341:c6945.
123. Nekkebroeck J., Bonduelle M., Desmyttere S., Van Den Broeck W., Ponjaert-Kristoffersen I. (2008). Mental and Psychomotor Development of 2-Year-Old Children Born after Preimplantation Genetic Diagnosis/screening. *Hum Reprod* 23:1560-1566.
124. Nelissen E.C., Van Montfoort A.P., Coonen E., Derhaag J.G., Geraedts J.P., Smits L.J., Land J.A., Evers J.L., Dumoulin J.C. (2012). Further evidence that culture media affect perinatal outcome: findings after transfer of fresh and cryopreserved embryos. *Hum Reprod* 27(7):1966-1976.
125. Norrman E., Petzold M., Bergh C., Wennerholm U.B. (2018). School Performance in Singletons Born after Assisted Reproductive Technology. *Hum Reprod* 33:1948-1959.
126. Ombelet W., Peeraer K., De Sutter P., Gerris J., Bosmans E., Martens G. (2005). Perinatal outcome of ICSI pregnancies compared with a matched group of natural conception pregnancies in Flanders (Belgium): A cohort study. *Reprod Biomed Online* 11:244-253.
127. Opdahl S., Henningsen A.A., Tiitinen A., Bergh C., Pinborg A., Romundstad P.R., Wennerholm U.B., Gissler M., Skjærven R., Romundstad L.B. (2015). Risk of hypertensive disorders in pregnancies following assisted reproductive technology: A cohort study from the CoNARTaS group. *Hum. Reprod* 30:1724-1731.
128. Palermo G.D., Joris H., Devroey P., Van Steirteghem A.C. (1992). Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 340:17-18.
129. Palermo G.D., Neri Q.V., Takeuchi T., Squires J., Moy F., Rosenwaks Z. (2008). Genetic and epigenetic characteristics of ICSI children. *Reprod Biomed Online* 17(6):820-833.
130. Palomba S., De Wilde M.A., Falbo A., Koster M.P., La Sala G.B., Fauser B.C. (2015). Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome: new clinical and pathophysiologic insight. *Hum Reprod* 21:575-592.
131. Palomba S., Homburg R., Santagni S., La Sala G.B., Orvieto R. (2016a). Risk of adverse pregnancy and perinatal outcomes after high technology infertility treatment: a comprehensive systematic review. *Reprod Biol Endocrinol* 14:76.
132. Palomba S., Santagni S., Gibbins K., La Sala G.B., Silver R.M. (2016b). Pregnancy complications in spontaneous and assisted conceptions of women with infertility and factors of subfertility. A comprehensive review. *Reprod Biomed Online* 33(5):612-628.
133. Pandey S., Shetty A., Hamilton M., Bhattacharya S., Maheshwari A. (2012). Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* 18(5):485-503.
134. Parkinson J., Tran C., Tan T., Nelson J., Batzofin J., Serafini P. (1999). Perinatal outcome after in-vitro fertilization-surrogacy. *Hum Reprod* 14(3):671-676.
135. Pecks U., Maass N., Neulen J. (2011). Oocyte donation: a risk factor for pregnancy-induced hypertension: a meta-analysis and case series. *Dtsch Arztebl Int* 108:23-31.
136. Pinborg A. (2013). Large baby syndrome in singletons born after frozen embryo transfer (FET). *Hum Reprod* 29(3):618-627.
137. Poikkeus P., Gissler M., Unkila-Kallio L., Hyden-Granskog C., Tiitinen A. (2007). Obstetric and neonatal outcome after single embryo transfer. *Hum Reprod* 22:1073-1079.
138. Pontesilli M., Painter R.C., Grooten I.J., Van Der Post J.A., Mol B.W., Vrijkotte T.G., Repping S., Roseboom T.J. (2015). Subfertility and Assisted Reproduction Techniques Are Associated with Poorer Cardiometabolic Profiles in Childhood. *Reprod Biomed Online* 30(3):258-267.
139. Practice Bulletin No.137. (2013). Gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol.* 122(2 Pt 1):406-416.
140. Prag P. & Mills M. (2017). Assisted reproductive technology in Europe: Usage and regulation in the context of cross-border reproductive care. In: Kreyenfeld M., Konietzka D., editors. *Childlessness in Europe: Contexts, Causes, and Consequences*. Springer Publishing 289-309.
141. Punamaki R.L., Tiitinen A., Lindblom J., Unkila-Kallio L., Flykt M., Vanska M., Poikkeus P., Tulppala M. (2016). Mental Health and Developmental Outcomes for Children Born after ART: A Comparative Prospective Study on Child Gender and Treatment Type. *Hum Reprod* 31(1):100-107.
142. Qin J., Liu X., Sheng X., Wang H., Gao S. (2016). Assisted reproductive technology and the risk of pregnancy-related complications and adverse pregnancy outcomes in singleton pregnancies: a meta-analysis of cohort studies. *Fertil Steril* 105:73-85.
143. Qin J., Sheng X., Wu D., Gao S., You Y., Yang T., Wang H. (2017). Adverse Obstetric Outcomes Associated With In Vitro Fertilization in Singleton Pregnancies. *Reproductive Sciences* 24(4):595-608.

144. Qin J., Wang H., Sheng X., Liang D., Tan H., Xia J. (2015). Pregnancy-related complications and adverse pregnancy outcomes in multiple pregnancies resulting from assisted reproductive technology: a meta-analysis of cohort studies. *Fertil Steril* 103:1492 -1508.
145. Rexhaj E., Paoloni-Giacobino A., Rimoldi S.F., Fuster D.G., Anderegg M., Somm E., Bouillet E., Allemann Y., Sartori C., Scherrer U. (2013). Mice generated by in vitro fertilization exhibit vascular dysfunction and shortened life span. *J Clin Invest* 123:5052-5060.
146. Richardson A., Taylor M., Teoh J.P., Karasu T. (2020). Antenatal management of singleton pregnancies conceived using assisted reproductive technology. *The Obstetrician & Gynaecologist* 22:34-44.
147. Rienzi L., Gracia C., Maggiulli R., LaBarbera A.R., Kaser D.J., Ubaldi F.M., Vanderpoel S., Racowsky C. (2017). Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update* 23(2):139-155.
148. Rissanen E., Gissler M., Lehti V., Tiitinen A. (2020). The Risk of Psychiatric Disorders Among Finnish ART and Spontaneously Conceived Children: Finnish Population-Based Register Study. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 29:1155-1164.
149. Rodriguez-Wallberg K.A., Palomares A.R., Nilsson H.P., Oberg A.S., Lundberg F. (2022). Obstetric and Perinatal Outcomes of Singleton Births Following Single- vs Double-Embryo Transfer in Sweden. *JAMA Pediatr* 5:e224787.
150. Roque M., Haahr T., Geber S., Esteves S.C., Humaidan P. (2019). Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Hum Reprod Update* 25(1):2-14.
151. Roseboom T.J. & Eriksson J.G. (2021). Children Conceived by ART Grow Differently in Early Life Than Naturally Conceived Children but Reach the Same Height and Weight by Age 17. Reassuring? Not So Sure. *Hum Reprod* 36:847-849.
152. Roseboom T.J., Van der Meulen J.H., Osmond C., Barker D.J., Ravelli A.C., Schroeder-Tanka J.M., Van Montfrans G.A., Michels R.P., Bleker O.P. (2000). Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944-45. *Heart (British Cardiac Society)* 84(6):595-598.
153. Roychoudhury S., Lodha A., Synnes A., Abou Mehrem A., Canning R., Banihani R., Beltempo M., Theriault K., Yang J., Shah P.S., Soraisham A.S., et al. (2021). Neurodevelopmental Outcomes of Preterm Infants Conceived by Assisted Reproductive Technology. *Am. J. Obstetrics Gynecol* 225(3):276.
154. Sakka, S.D., Loutradis D., Kanaka-Gantenbein C., Margeli A., Papastamataki M., Papassotiriou I., Chrousos G.P. et al. (2010). Absence of Insulin Resistance and Low-Grade Inflammation Despite Early Metabolic Syndrome Manifestations in Children Born after In Vitro Fertilization. *Fertil. Steril* 94:1693-1699.
155. Salha O., Sharma V., Dada T., Nugent D., Rutherford A.J., Tomlinson A.J., Philips S., Allgar V., Walker J.J. (1999). The influence of donated gametes on the incidence of hypertensive disorders of pregnancy. *Hum Reprod* 14:2268-2277.
156. Sanchez-Soler M.J., Lopez-Gonzalez V., Ballesta-Martinez M.J., Galvez-Pradillo J., Domingo-Jimenez R., Perez-Fernandez V., et al. (2020). Assessment of Psychomotor Development of Spanish Children up to 3 Years of Age Conceived by Assisted Reproductive Techniques: Prospective Matched Cohort Study. *An. Pediatria (English Ed.* 92, 200–207.
157. Sandin S., Nygren K.G., Iliadou A., Hultman C.M., Reichenberg A. (2013). Autism and Mental Retardation Among Offspring Born after In Vitro Fertilization. *Jama* 310:75-84.
158. Sartorius G.A. & Nieschlag E. (2010). Paternal age and reproduction. *Human Reproduction* 16(1):65-79.
159. Sato B.L., Sugawara A., Ward M.A., Collier A.C. (2014). Single blastomere removal from murine embryos is associated with activation of matrix metalloproteinases and Janus kinase/signal transducers and activators of transcription pathways of placental inflammation. *Mol Hum Reprod* 20(12):1247-1257.
160. Sazonova A., Kallen K., Thurin-Kjellberg A., Wennerholm U.B., Bergh C. (2011). Obstetric outcome after in vitro fertilization with single or double embryo transfer. *Hum Reprod* 26:442-450.
161. Scherrer U., Rimoldi S.F., Rexhaj E., Stuber T., Duplain H., Garcin S., de Marchi S.F., Nicod P., Germond M., Allemann Y., Sartori C. (2012). Systemic and Pulmonary Vascular Dysfunction in Children Conceived by Assisted Reproductive Technologies. *Circulation* 125(15):1890-1896.
162. Seggers J., Pontesilli M., Ravelli A.C., Painter R.C., Hadders-Algra M., Heineman M.J., Repping S., et al. (2016). Effects of in vitro fertilization and maternal characteristics on perinatal outcomes: a population-based study using siblings. *Fertil Steril* 105(3):590-598.

163. Sha T., Yin X., Cheng W., Massey I.Y. (2018). Pregnancy-related complications and perinatal outcomes resulting from transfer of cryopreserved versus fresh embryos in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril* 109:330-342.
164. Sheffer-Miouni G., Mashiach S., Dor J., Levran D., Seidman D.S. (2002). Factors influencing the obstetric and perinatal outcome after oocyte donation. *Hum Reprod* 17:2636-2640.
165. Shi Y., Sun Y., Hao C., Zhang H., Wei D., Zhang Y., Zhu Y., Deng X., Qi X., Li H., Ma X., Ren H., Wang Y., et al. (2018). Transfer of Fresh versus Frozen Embryos in Ovulatory Women. *N Engl J Med* 378(2):126-136.
166. Siristatidis C.S., Vrachnis N., Creatsa M., Maheshwari A., Bhattacharya S. (2013). In vitro maturation in subfertile women with polycystic ovarian syndrome undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* (10):CD006606.
167. Sites C.K., Wilson D., Barsky M., Bernson D., Bernstein I.M., Boulet S., Zhang Y. (2017). Embryo cryopreservation and preeclampsia risk. *Fertil Steril* 108:784-790.
168. Sobotka T., Matysiak A., Brzozowska Z. Policy responses to low fertility How effective are they? India: United Nations Population Funds (1):98.
169. Soderstrom-Anttila V., Makinen S., Tuuri T., Suikkari A.M. (2005). Favourable pregnancy results with insemination of in vitro matured oocytes from unstimulated patients. *Hum Reprod* 20:1534-1540.
170. Soderstrom-Anttila V., Tiitinen A., Foudila T., Hovatta O. (1998). Obstetric and perinatal outcome after oocyte donation: comparison with in-vitro fertilization pregnancies. *Hum Reprod* 13:483-490.
171. Soderstrom-Anttila V., Wennerholm U.B., Loft A., Pinborg A., Aittomaki K., Romundstad L.B., Bergh C. (2016). Surrogacy: outcomes for surrogate mothers, children and the resulting families-a systematic review. *Hum Reprod Update* 22(2):260-276.
172. Song S., Ghosh J., Mainigi M., Turan N., Weinerman R., Truongcao M., Coutifaris C., Sapienza C. (2015). DNA methylation differences between in vitro- and in vivo-conceived children are associated with ART procedures rather than infertility. *Clinical Epigenetics* 7(1):41.
173. Spangmose A.L., Ginstrom Ernstad E., Malchau S., Forman J., Tiitinen A., Gissler M., Opdahl S., Romundstad L.B., et al. (2020). Obstetric and perinatal risks in 4601 singletons and 884 twins conceived after fresh blastocyst transfers: a Nordic study from the CoNARTaS group. *Hum Reprod*, 35:805-815.
174. Steptoe P.C. & Edwards R.G. (1978). Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 2(8085):366.
175. Stojnic J., Radunovic N., Jeremic K., Kotlica B.K., Mitrovic M., Tulic I. (2013). Perinatal outcome of singleton pregnancies following in vitro fertilization. *Clin Exp Obstet Gynecol* 40(2):277-283.
176. Stoll S., Wang C., Qiu H. (2018). DNA Methylation and Histone Modification in Hypertension. *Int J Mol Sci* 19:1174.
177. Storgaard M., Loft A., Bergh C., Wennerholm U.B., Soderstrom-Anttila V., Romundstad L.B., Aittomaki K., Oldereid N., Forman J., Pinborg A. (2017). Obstetric and neonatal complications in pregnancies conceived after oocyte donation - a systematic review and meta-analysis. *BJOG* 124(4):561-572.
178. Strawn E.Y., Bick D., Swanson A. (2010). Is it the patient or the IVF? Beckwith-Wiedemann syndrome in both spontaneous and assisted reproductive conceptions. *Fertil Steril* 94(2):754.
179. Stromberg B., Dahlquist G., Ericson A., Finnstrom O., Koster M., Stjernqvist, K. (2002). Neurological Sequelae in Children Born after In-Vitro Fertilisation: A Population-Based Study. *Lancet* 359:461-465.
180. Sunderam S., Kissin D.M., Crawford S.B., Folger S.G., Jamieson D.J., Warner L., Barfield W.D., Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2015). Assisted Reproductive Technology Surveillance-United States, 2013. *MMWR Surveill Summ* 64:1-25.
181. Sunkara S.K., Antonisamy B., Selliah H.Y., Kamath M.S. (2017). Pre-term birth and low birth weight following preimplantation genetic diagnosis: analysis of 88 010 singleton live births following PGD and IVF cycles. *Hum Reprod* 32(2):432-438.
182. Sunkara S.K., La Marca A., Seed P.T., Khalaf Y. (2015). Increased risk of preterm birth and low birthweight with very high number of oocytes following IVF: An analysis of 65 868 singleton live birth outcomes. *Hum Reprod* 30:1473-1480.
183. Sunkara S.K., LaMarca A., Polyzos N.P., Seed P.T., Khalaf Y. (2016). Live birth and perinatal outcomes following stimulated and unstimulated IVF: Analysis of over two decades of a nationwide data. *Hum Reprod* 31:2261-2267.
184. Sutcliffe A.G., Peters C.J., Bowdin S., Temple K., Reardon W., Wilson L., Clayton-Smith J., Brueton L.A., Bannister W., Maher E.R. (2006). Assisted reproductive therapies and imprinting disorders—a preliminary British survey. *Hum Reprod* 21(4):1009-1011.

185. Tararbit K., Houyel L., Bonnet D., De Vigan K., Lelong N., Goffinet F., Khoshnood B. (2011). Risk of congenital heart defects associated with assisted reproductive technologies: a population-based evaluation. *European heart journal* 32(4):500-508.
186. Tararbit K., Lelong N., Thieulin A.C., Houyel L., Bonnet D., Goffinet F., Khoshnood B. (2013). The risk for four specific congenital heart defects associated with assisted reproductive techniques: a population-based evaluation. *Human Reproduction* 28(2):367-374.
187. Thomopoulos C., Salamalekis G., Kintis K., Andrianopoulou I., Michalopoulou H., Skalis G., Archontakis S., Argyri O., Tsioufis C., Makris T.K., Salamalekis E. (2017). Risk of hypertensive disorders in pregnancy following assisted reproductive technology: overview and meta-analysis. *J Clin Hypertens (Greenwich Conn)* 19:173-183.
188. Tiitinen A., Halttunen M., Harkki P., Vuoristo P., Hyden-Granskog C. (2001). Elective single embryo transfer: the value of cryopreservation. *Hum Reprod* 16(6):1140-1144.
189. Trounson A. & Mohr L. (1983). Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 305(5936):707-709.
190. Utian W.H., Sheean L., Goldfarb J.M., Kiwi R. (1985). Successful pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer from an infertile woman to a surrogate. *N Engl J Med* 313(21):1351-1352.
191. Uyar A. & Seli E. (2014). The impact of assisted reproductive technologies on genomic imprinting and imprinting disorders. *Curr Opin Obstet Gynecol* 26(3):210-221.
192. Valenzuela-Alcaraz B., Crispi F., Bijnens B., Cruz-Lemini M., Creus M., Sitges M., Bartrons, J., Civico S., Balasch J., Gratacos E. (2013). Assisted reproductive technologies are associated with cardiovascular remodeling in utero that persists postnatally. *Circulation* 128(13):1442-1450.
193. Valenzuela-Alcaraz B., Serafini A., Sepulveda-Martinez A., Casals G., Rodriguez-Lopez M., Garcia-Otero L., Cruz-Lemini M., Bijnens B., Sitges M., Balasch J., Gratacos E., Crispi F. (2019). Postnatal Persistence of Fetal Cardiovascular Remodelling Associated with Assisted Reproductive Technologies: a Cohort Study. *BJOG Int. J. Obstet. Gy* 126(2):291-298.
194. Ventura-Junca P., Irarrazaval I., Rolle A.J., Gutierrez J.I., Moreno R.D., Santos M.J. (2015). In vitro fertilization (IVF) in mammals: epigenetic and developmental alterations. Scientific and bioethical implications for IVF in humans. *Biol Res* 48:68.
195. Vermeiden J.P. & Bernardus R.E. (2013). Are imprinting disorders more prevalent after human in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection? *Fertil Steril* 99(3):642-651.
196. Vermey B.G., Buchanan A., Chambers G.M., Kolibianakis E.M., Bosdou J., Chapman M.G., Venetis C.A. (2019). Are singleton pregnancies after assisted reproduction technology (ART) associated with a higher risk of placental anomalies compared with non-ART singleton pregnancies? A systematic review and meta-analysis. *BJOG* 126:209-218.
197. Von Arx R., Allemann Y., Sartori C., Rexhaj E., Cerny D., de Marchi S.F., Soria R., Germond M., Scherrer U., Rimoldi S.F. (2015). Right Ventricular Dysfunction in Children and Adolescents Conceived by Assisted Reproductive Technologies. *J. Appl. Physiology* 118(10):1200-1206.
198. Von Versen-Hoyneck F., Narasimhan P., Selamet Tierney E.S., Martinez N., Conrad K.P., Baker V.L., Winn V.D. (2019b). Absent or Excessive Corpus Luteum Number Is Associated with Altered Maternal Vascular Health in Early Pregnancy. *Hypertension* 73(3):680-690.
199. Von Versen-Hoyneck F., Schaub A.M., Chi Y.Y., Chiu K.H., Liu J., Lingis M., Stan Williams R., Rhoton-Vlasak A., Nichols W.W., Fleischmann R.R., Zhang W., Winn V.D., Segal M.S., Conrad K.P., Baker V.L. (2019a). Increased Preeclampsia Risk and Reduced Aortic Compliance With In Vitro Fertilization Cycles in the Absence of a Corpus Luteum. *Hypertension* 73(3):640-649.
200. Vuong L.N., Dang V.Q., Ho T.M., Huynh B.G., Ha D.T., Pham T.D., Nguyen L.K., Norman R.J., Mol B.W. (2018). IVF Transfer of Fresh or Frozen Embryos in Women without Polycystic Ovaries. *N Engl J Med* 378(2):137-147.
201. Wagenaar K., Ceelen M., Van Weissenbruch M.M., Knol D.L., Delemarre-Van De Waal H.A., Huisman J. (2008). School Functioning in 8- to 18-Year-Old Children Born after In Vitro Fertilization. *Eur. J. Pediatr* 167:1289-1295
202. Wang J.X., Knottnerus A.M., Schuit G., Norman R.J., Chan A., Dekker G.A. (2002). Surgically obtained sperm, and risk of gestational hypertension and preeclampsia. *Lancet* 359:673-674.
203. Wang X., Du M., Guan Y., Wang B., Zhang J., Liu Z. (2017). Comparative neonatal outcomes in singleton births from blastocyst transfers or cleavage-stage embryo transfers: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol* 15(1):36.
204. Wang Y.A., Sullivan E.A., Healy D.L., Black D.A. (2009). Perinatal outcomes after assisted reproductive technology treatment in Australia and New Zealand: single versus double embryo transfer. *Med J Aust* 190:234-237.

205. Wennerholm U.B., Soderstrom-Anttila V., Bergh C., Aittomaki K., Hazekamp J., Nygren K.G., Selbing A., Loft A. (2009). Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome data. *Hum Reprod* 24(9):2158-2172.
206. Wiggins D.A. & Main E. (2005). Outcomes of pregnancies achieved by donor egg in vitro fertilization-a comparison with standard in vitro fertilization pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 192:2002-2008.
207. Wong K.M., Van Wely M., Mol F., Repping S., Mastenbroek S. (2017). Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 3:CD011184.
208. Wong N.C., Ashley D., Chatterton Z., Parkinson-Bates M., Ng H.K., Halemba M.S., Kowalczyk A., Bedo J., Wang Q., Bell K., Algar E., et al. (2012). A distinct DNA methylation signature defines pediatric pre-B cell acute lymphoblastic leukemia. *Epigenetics* 7:535-541.
209. Woo I., Hindoyan R., Landay M., Ho J., Ingles S.A., McGinnis L.K., Paulson R.J., Chung K. (2017). Perinatal outcomes after natural conception versus in vitro fertilization (IVF) in gestational surrogates: a model to evaluate IVF treatment versus maternal effects. *Fertil Steril* 108(6):993-998.
210. Wyns C., Bergh C., Calhaz-Jorge C., De Geyter C., Kupka M.S., Motrenko T., Rugescu I., Smeenk J., Tandler-Schneider A., Vidakovic S., Goossens V. (2020). ART in Europe 2016: results generated from European registries by ESHRE. *Human Reproduction Open* (3):hoaa032.
211. Zaat T., Zegers M., Mol F., Goddijn M., Van Wely M., Mastenbroek S. (2021). Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2:CD011184.
212. Zandstra H., Brentjens L.B., Spauwen B., Touwslager R.N., Bons J.A., Mulder A.L., Smits L.J., Van der Hoeven M.A., Van Golde R.J., Evers J.L., Dumoulin J.C., Van Montfoort A.P. (2018). Association of culture medium with growth, weight and cardiovascular development of IVF children at the age of 9 years. *Hum Reprod* 33(9):1645-1656.
213. Zandstra, H., Van Montfoort, A.P., Dumoulin J.C., Zimmermann L.J., Touwslager R.N. (2020). Increased Blood Pressure and Impaired Endothelial Function after Accelerated Growth in IVF/ICSI Children. *Hum. Reprod* (1):hoz037.
214. Zegers-Hochschild F., Masoli D., Schwarze J.E., Iaconelli A., Borges E., Pacheco I.M. (2010). Reproductive performance in oocyte donors and their recipients: comparative analysis from implantation to birth and lactation. *Fertil Steril* 93:2210-2215.
215. Zhang W.Y., Von Versen-Hoynck F., Kappahn K.I., Fleischmann R.R., Zhao Q., Baker V.L. (2019). Maternal and neonatal outcomes associated with trophectoderm biopsy. *Fertil Steril* 112(2):283-290.
216. Zhou J., Liu H., Gu H.T., Cui Y.G., Zhao N.N., Chen J., Gao L., Zhang Y., Liu J. (2014). Association of Cardiac Development with Assisted Reproductive Technology in Childhood: A Prospective Single-Blind Pilot Study. *Cell. Physiol biochem* 34:988-1000.