

Lilijana Kornhauser Cerar<sup>1</sup>, Eda Vrtačnik Bokal<sup>2</sup>, Tomaž Tomažević<sup>3</sup>,  
Maja Pestešek<sup>4</sup>, Tanja Premru Sršen<sup>5</sup>, Sara Korošec<sup>6</sup>

## Otroci, rojeni po oploditvi z biomedicinsko pomočjo

*Neonates Born after Assisted Reproductive Technologies*

---

### IZVLEČEK

**KLJUČNE BESEDE:** oploditev in vitro, plod prenos, nosečnost mnogoplodna, dojenčki z nizko porodno težo, dojenčki umrljivost, novorojenčki bolezni

Od uvedbe oploditve z biomedicinsko pomočjo (OBMP) se nekateri sprašujejo, ali bi način oploditve lahko neugodno vplival na potek nosečnosti in na izid pri otroku. Danes obstajajo prepričljivi dokazi le za večjo pogostnost mnogoplodnih nosečnosti, bodisi kot posledica prenosa več zarodkov ali delitve zarodka po prenosu v maternico. Mnogoplodna nosečnost pa je povezana s povečanim tveganjem za prezgodnji porod in posledično z večjo obolevnostjo in umrljivostjo novorojenčka. Glede na raziskave je tudi pri enojčkih po OBMP tveganje za prezgodnje rojstvo, nizko porodno težo in zahiranost večje kot pri vrstnikih, rojenih po spontani oploditvi. Pri plodovih in otrocih po oploditvi z metodo neposrednega vnosa semenčice v citoplazmo jajčne celice naj bi bilo več prirojjenih napak, vendar ni dokazov, ali gre za posledico metode same ali za posledico dejavnikov, povezanih z neplodnostjo staršev, ali prepletanja obeh vzrokov. Za nekatere od izidov (pojav redkih epigenetskih okvar, za nekatere bolezni novorojenčka, prirojene napake, retinoblastom in razvojni zaostanek) danes podatki niso zanesljivi, saj niso bili potrjeni z rezultati ciljanih raziskav, ki bi vključevale dovolj veliko število otrok za določen izid. Zelo malo je dokazov, da bi OBMP lahko pomenila večje tveganje za razvoj rakavih in kroničnih bolezni, za učne in vedenjske motnje ali da bi lahko vplivala na kasnejšo plodnost potomcev. Velike, pravilno načrtovane raziskave z dolgotrajnim spremljanjem bodo v prihodnosti omogočile razločevati učinke zdravljenja od vplivov neplodnosti ter pokazale področja, kjer bi lahko postopke OBMP še izboljšali in s tem zmanjšali tveganje za neugoden izid pri otroku.

---

<sup>1</sup> Mag. Lilijana Kornhauser Cerar, dr. med., Klinični oddelek za perinatologijo, SPS Ginekološka klinika, Šljajmerjeva 3, 1525 Ljubljana.

<sup>2</sup> Doc. dr. Eda Vrtačnik Bokal, dr. med., Klinični oddelek za reprodukcijo, SPS Ginekološka klinika, Šljajmerjeva 3, 1525 Ljubljana.

<sup>3</sup> Prof. dr. Tomaž Tomažević, dr. med., Klinični oddelek za reprodukcijo, SPS Ginekološka klinika, Šljajmerjeva 3, 1525 Ljubljana.

<sup>4</sup> Prim. Maja Pestešek, dr. med., Klinični oddelek za perinatologijo, SPS Ginekološka klinika, Šljajmerjeva 3, 1525 Ljubljana.

<sup>5</sup> As. dr. Tanja Premru Sršen, dr. med., Klinični oddelek za perinatologijo, SPS Ginekološka klinika, Šljajmerjeva 3, 1525 Ljubljana.

<sup>6</sup> Sara Korošec, dr. med., Klinični oddelek za reprodukcijo, SPS Ginekološka klinika, Šljajmerjeva 3, 1525 Ljubljana.

**ABSTRACT**

**KEY WORDS:** fertilization in vitro, embryo transfer, pregnancy multiple, infant low birth weight infant mortality, infant newborn diseases

For as long as assisted reproductive technologies (ARTs) have been used, there has been an ongoing concern as to whether they might have an impact on pregnancy course and especially on the outcome of children. Currently, there is convincing evidence that ART treatment may increase the risk of a few adverse outcomes. These include the increased rate of multiple gestation pregnancies due to multiple embryo transfers or to embryo splitting that carries a higher risk of preterm delivery and therefore, of increased morbidity and mortality in newborns. Further, even singletons conceived with all types of ART appear to be at a higher risk of preterm birth and low birth weight. An increase in abnormalities among pregnancies conceived using intracytoplasmic sperm injection (ICSI) has been suggested. However, there are uncertainties whether this is a direct treatment effect or is related to parental infertility factors, or a combination of both. For some other outcomes, such as increased risk for genetic imprinting disorders, specific neonatal morbidities, birth defects, retinoblastoma, and developmental disabilities, data are inconsistent as there were no purposeful study of sufficient size and scope performed. To date, there is no or very little evidence of ART-effects on the childhood cancers, chronic illnesses, learning or behavioural disorders, and reproductive effects. Further large, well-designed, long-term studies are needed to separate treatment effects from infertility effects and to identify areas where ART treatments could be improved in ways that would minimize the risks for some adverse outcomes.

**UVOD**

Louise Brown, prvi otrok po oploditvi z biomedicinsko pomočjo (OBMP) na svetu, se je rodila pred 27 leti (1); 6 let kasneje se je rodil prvi otrok, spočet po tej metodi, tudi v Sloveniji (2). Od tedaj je OBMP postala široko uporabljan in učinkovit način zdravljenja neplodnosti. V državah Evrope rojstva po OBMP predstavljajo 1,0 do 3,8 % vseh rojstev (3), v ZDA je na ta način rojen eden od stotih novorojenčkov (4). V Sloveniji je 3,3 % vseh nosečnosti posledica zdravljenja s pomočjo metod OBMP (5).

Danes OBMP zajema različne postopke, pri katerih do združitve ženske in moške celice pride zunaj telesa. Uveljavljen način, s katerim pomagamo parom z žensko ali nepojasnjeno neplodnostjo, je klasični postopek zunajtelesne oploditve (*in vitro* fertilizacije - IVF) in prenosa zarodka preko materničnega vratu (2). Kot dopolnitev metode je bilo uvedeno podaljšano gojenje zarodkov do razvojne stopnje blastociste, zamrzovanje nadštevlnih zarodkov ter različne tehnike mikromanipulacije (6, 7). Metoda neposrednega vnosa spermija v citoplazmo jajčne celice (ICSI) se uporablja pri parih s hujšo

obliko moške neplodnosti ali v primerih imunološke neplodnosti z visokimi titri protiteles proti semenčicam v izlivu ter v primerih, ko semenčice dobimo z biopsijo oziroma punkcijo mod ali obmodka (8). Umetna oploditev z darovanim semenom (AID) je način zdravljenja moške neplodnosti z azoospermijo brez zrelih spolnih celic ob biopsiji testisa, pri nosilcih hudih genetskih boleznih in pri izosenzibilizaciji (9). Pri ženski neplodnosti uporabljamo darovane jajčne celice v primerih prezgodnje odpovedi jajčnikov ter pri nosilkah hudih genetskih boleznih (9).

Veliko slovstva obravnava tehnične vidike metod OBMP, ki so pripomogli k vse večjemu deležu uspešnih zanositev ter številu živorojenih otrok (10). Precej manj raziskav je bilo posvečenih varnosti teh metod: tako danes še ni enotnega nadzornega programa, ki bi načrtno spremljal pojavnost posameznih neugodnih zdravstvenih ali razvojnih kazalcev v obdobju otroštva in v šolskem obdobju. Večina podatkov izvira bodisi iz raziskav na poskusnih živalih bodisi iz retrospektivnih epidemioloških analiz, ki navajajo dokaze tako za obstoj škodljivih vplivov metod OBMP na otroke kot za njihovo varnost (11-17). Ob kritičnem pregledu poročil iz slovstva lahko

večini očitamo metodološke napake, kot na primer neprimerljivost skupin, vključenih v raziskavo, premajhno količino podatkov, ki bi omogočili razločevanje med vplivi zdravljenja in vplivi dejavnikov neplodnosti staršev, ter nezadostno statistično moč razpoznave določenih posledic, zlasti tistih z nizko pojavnostjo.

## **MNOGOPLODNA NOSEČNOST**

Mnogoplodnost je najpogosteje zabeleženi neugodni vpliv metod OBMP: podatki za ZDA iz leta 2000 kažejo (18), da je pogostnost rojstva dvojčkov v skupini otrok, rojenih s pomočjo OBMP, dvaindvajsetkrat večja kot v splošni populaciji (44 % v primerjavi z 2 %), pogostnost trojčkov pa celo petdesetkrat večja (9 % v primerjavi z 0,18 %). V Sloveniji je med nosečnostmi po OBMP od 12 do 23,1 % mnogoploдных (17, 19, 20), medtem ko je njihova pogostnost v splošni populaciji le 1,2 %. Večplodnost je večinoma posledica prenosa več zarodkov, redkeje (predvsem ob uporabi postopkov mikromanipulacije ter pri podaljšanjem gojenju zarodkov do stopnje blastociste) pa nastane z delitvijo enega samega zarodka (21). Ne glede na način oploditve je mnogoplodnost povezana s povečanim tveganjem za bolezni matere (preeklampsijo, nosečnostno sladkorno bolezen, slabokrvnost, krvavitve pred porodom, med njim in po njem) ter s povečano umrljivostjo mater (22), otroke pa ogroža predvsem prezgodnje rojstvo in z njim povezane bolezni (18). Bistveno so povečani tudi stroški zdravljenja (23).

## **NIZKA PORODNA TEŽA IN NEDONOŠENOST**

Več raziskav je potrdilo (6, 13, 14, 19, 24, 25), da so tudi enojčki, spočeti s pomočjo OBMP, v primerjavi z otroki, spočetimi po naravnih poti, pogosteje rojeni z nizko (manj kot 2500 g) in zelo nizko porodno težo (manj kot 1500 g), pogosteje so zahirani (porodna teža pod 10. percentilo za nosečnostno starost) ali rojeni prezgodaj. Primerjave so bile narejene tako na vzorcu otrok iz posameznih porodnišnic (26), v katerih so enojčke, spočete z OBMP, primerjali s skupino enojčkov

po spontani zanositvi, kot tudi v velikih populacijskih raziskavah (13, 27), v katerih so primerjali pogostnost določenega izida pri enojčkih po OBMP z ugotovljeno pogostnostjo v celotni skupini enojčkov v pokrajini ali državi. Večina kontroliranih raziskav je poleg leta analize med spremljajoče dejavnike, ki lahko vplivajo na izid, vključila starost matere, število predhodnih nosečnosti in porodov, izobrazbo ter družbeni položaj, kajenje, etnično pripadnost, indeks telesne mase ter najpomembnejše porodniške zaplete. Maloštevne študije so se opredelile glede povezave med povečanim tveganjem za neugoden izid in vplivom samega zdravljenja (25) oziroma vplivom dejavnikov neplodnosti staršev (28). Zuppa s sodelavci je dokazal pomembno večjo pogostnost prezgodnjega poroda in nizke porodne teže pri dvojčkih po OBMP v primerjavi z dvojčki po spontani zanositvi (29). Ob enaki nosečnosti starosti in teži so imeli slednji tudi boljšo oceno po Apgarjevi ter manj dihalne stiske. Rezultati naše raziskave so pokazali (20), da izid enoin dvoploodne nosečnosti pri ženskah, ki so zanosile po OBMP, ni bistveno drugačen od poteka nosečnosti po spontani zanositvi. Prav tako ni bilo razlik med skupinama glede porodne teže ali deleža zahirančkov.

## **OBOLEVNOST IN UMRLJIVOST NOVOROJENČKOV**

Večina raziskav, ki so pokazale, da novorojenčke po OBMP zapleti po rojstvu bolj ogrožajo kot novorojenčke po naravni oploditvi, ni dovolj upoštevala dejavnikov, kot so mnogoplodnost, prezgodnje rojstvo ali nizka porodna teža. Posamezne metodološko pravilno izvedene študije so dokazale povezavo OBMP s potrebo po dihalni podpori in po intenzivnem zdravljenju novorojenčka (30, 31), z večjo obporodno umrljivostjo, z nizko oceno po Apgarjevi, z daljšim zdravljenjem v bolnišnici (32), s ponovnimi sprejemi v bolnišnico ter s specifičnimi boleznimi novorojenčka, kot je možganska krvavitev (33). Menimo, da bo njihove rezultate treba preveriti v raziskavah z dovolj velikim številom vključenih otrok ter večjim številom spremenljivk. Glede na rezultate naše raziskave se skupina otrok, rojenih po postopku IVF, ni razlikovala od skupine

otrok po naravni zanositvi v oceni po Apgar-jevi po 1. in 5. minuti, obporodni umrljivosti in obolevnosti ter potrebi po umetnem predihavanju (20).

## PRIROJENE NAPAKE

V osemdesetih letih prejšnjega stoletja je Lancaster s sodelavci prvi opozoril na povečano pogostnost napak v zapiranju nevalne cevi ter transpozicije velikih žil pri otrocih po OBMP (34). Že tedaj je prevladalo mnenje, da je povečano tveganje prvenstveno posledica določenih značilnosti staršev, predvsem višje starosti matere. Večina kasnejših raziskav je pokazala, da pogostnost prirojenih napak ni večja kot v splošni populaciji (35); prav tako ni bilo dokazanih razlik med skupinama otrok, rojenih po IVF in ICSI (36). J. J. Kurinczuk s sodelavci je leta 2004 objavila metaanalizo 26 člankov, ki so primerjali pojavnost prirojenih napak pri otrocih po OBMP v primerjavi z otroki po spontani zanositvi (37). Čeprav je bilo v večini člankov tveganje nekoliko povečano (v 24-ih je bilo razmerje obolevnosti nad 1,0), pa je bilo le v šestih objavljenih raziskavah (30%) tveganje tudi statistično pomembno večje. Pred kratkim je bil objavljen pregledni članek M. Hansen (38): s soavtorji je sistematično analizirala 25 člankov, ki so bili objavljeni do marca 2003 in so obravnavali pogostnost prirojenih napak pri otrocih po IVF in/ali ICSI v primerjavi z otroki po spontani zanositvi objavljenih. V dveh tretjinah od vseh 25 prispevkov je bilo pri otrocih po OBMP tveganje za prirojeno napako povečano za vsaj 25%. Z analizo samo 7 člankov, ki so glede uporabljene metodologije zadostili merilom posebne izvedenske skupine (velike populacijske raziskave z natančno opredelitvijo prirojene napake in primerljivimi skupinami glede značilnosti matere, poroda, spola in števila otrok ter leta analize), pa se je to tveganje povečalo celo za 30–40%. Analiza slovenskih podatkov za obdobje 1987–1997 ni dokazala večjega tveganja za prirojene napake pri otrocih, rojenih s pomočjo IVF (39, 40). Nekoliko večja pogostnost prirojenih nepravilnosti pri otrocih, spočetih s pomočjo postopka ICSI (4,3% večjih in 5,9% manjših prirojenih napak v skupini ICSI v primerjavi z 1,9% večjih in 1,9% manjših napak pri novorojencih

v splošni populaciji), o kateri je poročal B. Zorn s sodelavci (41), bi lahko bila posledica 20-krat večje pogostnosti mnogoplodnosti ter prezgodnjega poroda v skupini ICSI-otrok.

V nekaterih člankih so opozorili, da je pri otrocih po OBMP povečana pogostnost nekaterih specifičnih prirojenih napak, kot na primer hipospadije in drugih prirojenih napak sečil (42–44), prirojenih napak osrednjega živčevja (anencefalija, spina bifida) (43), srca in velikih žil (13, 44), prebavil (atrezija črevesja, omfalokela) (43), mišično-skeletnega sistema in kromosomskih napak (44).

## EPIGENETSKE NAPAKE

Genetsko vtisnjenje (»imprinting«) je kompleksno dogajanje genskega uravnavanja, v katerem se izrazi le ena od starševskih kopij gena. Proces poteka preko metilacije DNA in ima ključno vlogo v embriogenezi in razvoju ploda. Danes so že pri mnogih boleznih dokazali to motnjo kot vzrok za patološko dogajanje. Tudi poskusi na živalskih zarodkih sesalcev so opozorili, da obstaja povezava med gojenjem celic *in vitro* in napako v genetskem vtisnjenju. Zaskrbljenost so povzročile še objave povečane pogostnosti epigenetskega sindroma Beckwith-Wiedemann pri otrocih po OBMP (45, 46). Sindrom je sicer zelo redek (1/15.000 rojstev), njegove značilnosti pa so velik jezik, nepravilnosti v razvoju trebušne stene, prekomerna rast, značilne poteze obraza, nizke vrednosti krvnega sladkorja ter nagnjenost k določenim vrstam raka. Pri otrocih, spočetih s pomočjo ICSI, naj bi bil pogostejši tudi sindrom Angelman, ki nastane zaradi sporadične epigenetske motnje na maternem kromosomu 15 (47, 48).

Število objavljenih primerov epigenetskih okvar po OBMP pa je zaenkrat izjemno majhno. Poleg tega številne raziskave na molekularni ravni niso potrdile vzročne povezave med napakami genetskega vtisnjenja in OBMP, saj v za ICSI odvzetih moških spolnih celicah oziroma v kromosomih otrok, rojenih s pomočjo ICSI, niso dokazali nobenih takšnih sprememb DNA (49, 50).

## RAK V OTROŠTVU

Večina analiz, ki je proučevala pojavnost vseh oblik raka pri otrocih, ni dokazala povečane-

ga tveganja zanj po OBMP (51–53). Izjema je nizozemska epidemiološka študija (54), ki je ugotovila 7-krat večjo pogostnost retinoblastoma med otroci po OBMP v primerjavi s splošno populacijo. Hormoni, ki se uporabljajo za spodbujanje ovulacije, bi po mnenju nekaterih lahko povečali tudi tveganje za kasnejši pojav nevroblastoma pri otrocih (55).

## RAZVOJNE MOTNJE

Večina objavljenih raziskav navaja dokaze, da se otroci, spočeti s pomočjo metod OBMP, normalno razvijajo in so v šoli enako uspešni (6, 56). Mnogim analizam lahko sicer očitamo metodološke omejitve (na primer študije brez primerjalne oziroma z neprimerno izbrano primerjalno skupino, premajhno število vključenih otrok ali velik osip med spremljanjem, nezadostna statistična verodostojnost zaradi premajhnega vzorca), zlasti kadar je bilo spremljanje razvoja zaključeno pred šolskim obdobjem.

Le skupina švedskih avtorjev je ob analizi podatkov iz registra otrok, spočetih s pomočjo OBMP, ugotovila, da je tveganje za motnjo v njihovem nevrološkem razvoju 1,4-krat večje v primerjavi z otroki, rojenimi po spontani zanositvi (57). Po omejitvi analize samo na enojčke ter ob upoštevanju porodne teže pa je bilo tveganje za razvoj cerebralne paralize oziroma suma na zaostanek v razvoju le še malenkostno zvečano.

## LITERATURA

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 12: 366.
2. Tomažević T, Meden Vrtovec H, Virant Klun I, Zorn B, Ribič Pucelj M, Bačar Kermavner L, et al. Kronologija zunajtelesne oploditve na ljubljanski Ginekološki kliniki. In: Meden Vrtovec H, ed. Jubilejni zbornik ob 20-letnici rojstva prvih otrok, spočetih po postopku zunajtelesne oploditve na Ginekološki kliniki v Ljubljani. Ljubljana: Klinični center, Ginekološka klinika, 2004. p. 1–6.
3. Andersen AN, Gianaroli L, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe, 2000. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2004; 19: 490–503.
4. Gibson M. Outcomes with assisted reproductive technology: shooting first, asking questions later. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 1142–3.
5. Tomažević T, Virant Klun I. Balkan situation – all Balkan countries should be included in EIM. In: 2<sup>nd</sup> Symposium on data collection & ART monitoring. Thessaloniki, 2004: 59–60.
6. Olivennes F, Fanchin R, Lédée N, Righini C, Kadoch JJ, Frydman R. Perinatal outcome and developmental studies on children born after IVF. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 117–28.
7. Virant Klun I, Tomažević T, Meden Vrtovec H, Bačar Kermavner L, Vrtačnik Bokal E, Ribič Pucelj M, et al. Gojenje in zamrzovanje blastocist v postopku oploditve z biomedicinsko pomočjo. In: Meden Vrtovec H, ed. Jubilejni zbornik ob 20-letnici rojstva prvih otrok, spočetih po postopku zunajtelesne oploditve na Ginekološki kliniki v Ljubljani. Ljubljana: Klinični center, Ginekološka klinika, 2004: 16–19.
8. Drobnič S, Zorn B, Virant Klun I. Moška neplodnost. In: Meden Vrtovec H, ed. Jubilejni zbornik ob 20-letnici rojstva prvih otrok, spočetih po postopku zunajtelesne oploditve na Ginekološki kliniki v Ljubljani. Ljubljana: Klinični center, Ginekološka klinika, 2004: 28–31.

## DRUGI NEUGODNI IZIDI

Danes je zelo malo zanesljivih dokazov, da bi zanositev s pomočjo OBMP povečala tveganje za razvoj kroničnih bolezni pri otroku ali da bi lahko vplivala na spolno dozorevanje in kasnejšo plodnost (58–60), saj je v večini raziskav čas spremljanja prekratek, da bi takšna predvidevanja lahko potrdili ali ovrgli.

## ZAKLJUČKI

Glede na razpoložljive dokaze lahko danes povežemo OBMP le z redkimi neugodnimi izidi pri plodu in otroku. V prihodnosti naj bi raziskave na molekularno-celični ravni ter na živalih boljše osvetlile morebitno razmnoževalno in razvojno toksičnost določenih metod v postopkih. Velike multicentrične prospektivne raziskave, v katere bi bili neplodni pari vključeni že pred postopkom OBMP, bi omogočile nepristransko spremljanje poteka oploditve, nosečnosti in poroda ter kasnejše vrednotenje zdravja in razvoja otrok. Dokler rezultati še niso na voljo, pa moramo biti do neprijetnih ugotovitev kritični in se ne smemo zadovoljiti z ugotovitvijo, da je razlika statistično nepomembna, in predvidevati, da je vse prav samo zato, ker je  $p > 0,05$ . Samo tako bodočim staršem ne bomo odvzeli pravice do obveščenosti glede možnih vplivov OBMP na njihovo potomstvo.

9. Pinter B, Tomažević T, Meden Vrtovec H, Virant Klun I, Drobnič S, Kolbezzen Simoniti M, et al. Darovanje spolnih celic. In: Meden Vrtovec H, ed. Jubilejni zbornik ob 20-letnici rojstva prvih otrok, spočetih po postopku zunajtelesne oploditve na Ginekološki kliniki v Ljubljani. Ljubljana: Klinični center, Ginekološka klinika, 2004: 39–42.
10. Boyle KE, Vlahos N, Jarow JP. Assisted reproductive technology in the new millenium. *Urology* 2004; 63: 217–24.
11. Khosla S, Dean W, Reik W, Feil R. Epigenetic and experimental modifications in early mammalian development: Part II. Culture of preimplantation embryos and its long-term effects on gene expression and phenotype. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 419–27.
12. Simpson JL, Lamb DJ. Genetic effects of intracytoplasmic sperm injection. *Semin Reprod Med* 2001; 19: 239–49.
13. Koivurova S, Hartikainen AL, Gissler M, Hemminki E, Sovio U, Järvelin MR. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 2002; 17: 1391–8.
14. Schieve LA, Ferre C, Peterson HB, Macaluso M, Reynolds MA, Wright VC. Perinatal outcome among singleton infants conceived through assisted reproductive technology in the United States. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 1144–53.
15. Van Steirteghem A, Bonduelle M, Devroey P, Liebaers I. Follow-up of children born after ICSI. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 111–6.
16. Olivennes F, Rufat P, Andre B, Pourade A, Quiros MC, Frydman R. The increased risk of complication observed in singleton pregnancies resulting from in-vitro fertilization does not seem to be related to the IVF method itself. *Hum Reprod* 1993; 8: 1297–300.
17. Tomažević T, Korošec S, Sršen Premru T, Lovšin B, Talan T, Valentinčič Gruden B, et al. Otroci, rojeni po postopku zunajtelesne oploditve. In: Virant Klun I, Meden Vrtovec H, Tomažević T, eds. *Od nastanka gamet do rojstva*. Radovljica: Didakta 2002. p. 199–207.
18. Adamson D, Baker V. Multiple births from assisted reproductive technologies: a challenge that must be met. *Fertil Steril* 2004; 81: 517–22.
19. Ogrizek Pelkič K, Verdenik I. Prezgodnji porod v skupini nosečnic, ki so zanosile po postopkih oploditve z biomedicinsko pomočjo v Sloveniji 1997–1999. In: Novak Antolič Ž, ed. *Prezgodnji porod in nedonošenček*. 8. Novakovi dnevi z mednarodno udeležbo. Slovensko zdravniško društvo, Združenje za perinatalno medicino, 2001: 54–5.
20. Korošec S, Boc V. Nosečnost in porod dvojčkov po postopku IVF-ET. *Med Razgl* 1999; 38: 49–67.
21. Schieve LA, Rasmussen SA, Buck GM, Schendel DE, Reynolds MA, Wright VC. Are children born after assisted reproductive technology at increased risk for adverse health outcomes? *Obstet Gynecol* 2004; 103: 1154–63.
22. Nowak E, Blickstein I, Papiernik E, Keith L. Iatrogenic multiple pregnancies: do they complicate perinatal care? *J Reprod Med* 2003; 48: 601–9.
23. Lukassen HG, Schönbeck Y, Adam EM, Braat DD, Zielhuis GA, Kremer JA. Cost analysis of singleton versus twin pregnancies after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004; 81: 1240–6.
24. Westergaard HB, Jochansen AM, Erb K, Andersen AN. Danish National In-Vitro Fertilization Registry 1994 and 1995: a controlled study of births, malformations and cytogenetic findings. *Hum Reprod* 1999; 14: 1896–902.
25. Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng C, Wilcox LS. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med* 2002; 346: 731–7.
26. Yeh J, Leipzig S, Friedman EA, Seibel MM. Results of in vitro fertilization pregnancies: experiences at Boston's Beth Israel Hospital. *Int J Fertil* 1990; 35: 116–9.
27. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 551–63.
28. McElrath TF, Wise PH. Fertility therapy and the risk of very low birth weight. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 600–5.
29. Zuppa AA, Maragliano G, Scapillati ME, Crescimbin B, Tortorolo G. Neonatal outcome of spontaneous and assisted twin pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 95: 68–72.
30. Leslie GI, Bowen JR, Arnold JD, Saunders DM. In-vitro fertilisation and neonatal ventilator use in a tertiary perinatal centre. *Med J Aust* 1992; 157: 165–7.
31. Ericson A, Nygren KG, Otterblad Olausson P, Källén B. Hospital care utilization of infants born after IVF. *Hum Reprod Update* 2002; 17: 929–32.
32. Klemetti R, Gissler M, Hemminki E. Comparison of perinatal health of children born from IVF in Finland in the early and late 1990s. *Hum Reprod* 2002; 17: 2192–8.
33. Linder N, Haskin O, Levit O, Klinger G, Prince T, Naor N, et al. Risk factors for intraventricular hemorrhage in very low birth weight infants: a retrospective case-control study. *Pediatrics* 2003; 111: 590–5.
34. Lancaster PA. Congenital malformations after in-vitro fertilization. *Lancet* 1987; 2: 1392–3.
35. Rufat P, Olivennes F, De Mouzon J, Dehan M, Frydman R. Task force report of the outcome of pregnancies and children conceived by in-vitro fertilization. *Fertil Steril* 1994; 61: 324–30.
36. Bonduelle M, Liebaers I, Deketelaere V, Derde MP, Camus M, Devroey P, Van Steirteghem A. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991–1999) and of 2995 infants born after IVF (1983–1999). *Hum Reprod* 2002; 17: 671–94.
37. Kurinczuk JJ, Hansen M, Bower C. The risk of birth defects in children born after assisted reproductive technologies. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004; 16: 201–9.

38. Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects – a systematic review. *Hum Reprod* 2005; 20: 328–38.
39. Korošec S, Kaplan P. Pogostnost kromosomskih nepravilnosti pri otrocih, rojenih z biomedicinsko pomočjo. *Med Razgl* 2001; 40: 3–22.
40. Talan T, Tomažević T, Zorn B, Valentinčič Gruden B, Virant Klun I, Verdenik I, et al. Risk factors for the pathology of live-born infants after IVF and ICSI procedures. In: Meden Vrtovec H, Piric M, Trenkič M, eds. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> international symposium on assisted reproduction. Ljubljana: University medical centre, Department of obstetrics and gynecology, 1999. p. p. 42–5.
41. Zorn B, Virant Klun I, Drobnič S, Tomažević T, Talan T, Peterlin B, et al. Nosečnost in otroci po metodi neposrednega vnosa semenčice v citoplazmo jajčne celice na Ginekološki kliniki v Ljubljani: retrospektivna študija ob rojstvu 101. otroka. *Zdrav Vestn* 2000; 69: 67–73.
42. Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L, Lundin K, Nilsson L, Wikland M, Kallen B. Incidence of congenital malformations in children born after ICSI. *Hum Reprod* 2000; 15: 944–8.
43. Ericson A, Källén B. Congenital malformations in infants born after IVF: a population-based study. *Hum Reprod* 2001; 16: 504–9.
44. Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2002; 346: 725–30.
45. Gicquel C, Gaston V, Mandelbaum J, Siffroi JP, Flahault A, Le Bouc Y. In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCN10T gene. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 1338–41.
46. Sutcliffe AG, D'Souza SW, Cadman J, Richards B, McKinlay IA, Liebermann B. Minor congenital malformations and development in children conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod* 1995; 10: 3332–7.
47. Cox GF, Bürger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, et al. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 162–4.
48. Orstavik KH, Eiklid K, van der Hagen CB, Spetalen S, Kierulf K, Skjeldal O, et al. Another case of imprinting defect in a girl with Angelman syndrome who was conceived by intracytoplasmic sperm injection. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 218–9.
49. Manning M, Lissens W, Liebaers I, Van Steirteghem A, Weidner W. Imprinting analysis in spermatozoa prepared for intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Int J Androl* 2001; 24: 87–94.
50. Manning M, Lissens W, Bonduelle M, Camus M, De Rijcke M, Liebaers I, et al. Study of DNA-methylation patterns at chromosome 15q11-q13 in children born after ICSI reveals no imprinting defects. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 1049–53.
51. Bruinsma F, Venn A, Lancaster P, Speirs A, Healy D. Incidence of cancer in children born after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 2000; 15: 604–7.
52. Klip H, Burger CW, de Kraker J, van Leeuwen FE, for the OMEGA-project group. Risk of cancer in the offspring of women who underwent ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod* 2001; 16: 2451–8.
53. Doyle P, Bunch KJ, Beral V, Draper GJ. Cancer incidence in children conceived with assisted reproduction technology. *Lancet* 1998; 352: 452–3.
54. Moll AC, Imhof SM, Cruysberg JR, Shouten-van Meeteren AY, Boers M, van Leeuwen FE. Incidence of retinoblastoma in children born after in-vitro fertilization. *Lancet* 2003; 361: 309–10.
55. Michalek AM, Buck GM, Nasca PC, Freedman AN, Baptiste MS, Mahoney MC. Gravid health status, medication use, and risk of neuroblastoma. *Am J Epidemiol* 1996; 143: 996–1001.
56. Leslie GI. Mental development of children conceived using intracytoplasmic sperm injection. The current evidence. *Minerva Ginecol* 2004; 56: 247–57.
57. Stromberg B, Dahlquist G, Ericson A, Finnstrom O, Koster M, Stjernqvist K. Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilization: a population-based study. *Lancet* 2002; 359: 461–5.
58. Vogt PH. Risk of neurodegenerative diseases in children conceived by intracytoplasmic sperm injection? *Lancet* 1999; 354: 611–2.
59. Patrizio P. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI): potential genetic concerns. *Hum Reprod* 1995; 10: 2520–3.
60. De Kretser DM. The potential of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) to transmit genetic defects causing male infertility. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7: 137–42.

Prispelo: 26. 11. 2004