



Yardımcı Üreme Teknikleri Gebeliklerinde Perinatal Sonuçlar

Perinatal Outcomes after Assisted Reproductive Technology

Setenay Arzu Yılmaz¹, Özlem Seçilmiş Kerimoğlu¹

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı, Konya, Turkey

ÖZET

Yardımcı üreme teknikleri (YÜT) infertilite tedavinde yaygın olarak kullanılmaktadır. YÜT' lerindeki ilerlemeler gebelik oranının artması ile sonuçlanmıştır. Embriyo dondurulması ve ardından 1992 yılında intrastoplazmik sperm enjeksiyonunun bulunması YÜT başarısında önemli gelişmelerdir. Preimplantasyon genetik tanının gelişmesi genetik olarak anormal embriyonun tanımlanmasını kolaylaştırmasına rağmen oosit, sperm veya embriyoya yapılan manipulasyonlar nedeni ile yeni riskleri de beraberinde getirmektedir. İn Vitro Fertilizasyon'da (IVF) kullanılan farklı teknolojilerin YÜT sonrası doğan çocuklar üzerine etkisi ilk IVF bebeği Louise Brown'un doğumundan beri yıllardır araştırılmaktadır. IVF gebeliklerinin doğal konsepsiyon sonucu olan gebeliklere göre daha büyük risklere maruz kalabileceğini gösteren birçok neden bulunmaktadır. YÜT sonucu çoğul gebelik riskinin artmasına bağlı prematüre riskide artmaktadır. Bununla beraber tek embriyo transferinin günümüzde yaygınlaşması ile çoğul gebelik oranının azalması kötü perinatal sonuçları tamamen elimine etmemektedir. YÜT sonrası doğan tekil gebelikler doğal yollar ile elde edilen gebelikler ile karşılaştırıldığında preterm doğum, düşük doğum ağırlığı, yenidoğan yoğun bakım ünite ihtiyacı, neonatal mortalite riskindeki artış devam etmektedir. Teknik faktörler, maternal yaş ve çiftlerin subinfertil durumu aynı zamanda bu artmış risk ile ilişkilidir fakat maternal yaş, subinfertilite veya çiftlerin özellikleri düzeltildiğinde bile hala ART çocuklarında konjenital malformasyon daha riski yüksektir. Bu derlemenin amacı IVF gebeliklerinde aynı zamanda intrastoplazmik sperm enjeksiyonu, blastosist kültürü ve kriyoprezervasyon gibi farklı teknolojilerde perinatal sonuçları ve konjenital anomali riskini özetlemektir.

Anahtar kelimeler: Yardımcı üreme teknikleri, neonatal sonuçlar, perinatal sonuçlar



ABSTRACT

Assisted reproductive technologies(ART) are widely used in the treatment of infertility. Many advances in ART have resulted in higher pregnancy rates for patients. The introduction of embryo cryopreservation and subsequently intracytoplasmic sperm injection(ICSI) in 1992 were the important developments in ART success. Development of preimplantation genetic diagnosis has facilitated the exclusion of genetically abnormal embryos but every development brought new risks about the manipulation of the oocyte, sperm or the embryo. The effects of different technologies used in in-vitro fertilization(IVF) on children conceived through ART are the topics of interest since the birth of the first IVF baby Louise Brown in 1978 and have been examined for years. There are many reasons why IVF babies might be exposed to greater risks than naturally conceived children. ART carries an increased risk of iatrogenic multiple pregnancies, which are associated with a higher rate of prematurity. However, adverse perinatal outcomes are not totally eliminated with applying single embryo transfer policies in daily practice and by reducing multiple pregnancy rates. Singleton children born after ART are also at risk for preterm delivery, low birth weight, neonatal mortality, and neonatal intensive care unit admission when compared to spontaneously conceived children. Technical factors, maternal age and underlying parental subfertility are likely to correlate to this risk but ART children are also at increased risk of congenital malformations even after adjustment for maternal age, subfertility or the parental characteristics. The aim of this review is to summarize perinatal outcomes and the congenital anomaly risk of IVF pregnancies and also examine the risks of different technologies including ICSI, blastocyst culture, and cryopreservation on this topic.

Key words: Assisted reproductive technologies, neonatal outcomes, perinatal outcomes

Giriş

Yardımla üreme teknikleri olan İn vitro fertilizasyon (IVF) ve intrastoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gebelik elde edemeyen çiftler için son bir umuttur. İlk IVF bebeği Lousia Brown'nun doğumundan bu yana 30 yıllık süreçte yardımcı üreme tekniklerinde ciddi ilerlemeler görülmek ile birlikte günümüzde infertilite tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır¹.

IVF'in yaygın olarak kullanılmasından sonra embriyo dondurulması işlemi ve daha invaziv bir teknik olan ICSI'nin 1992 yılında geliştirilmesi özellikle erkek infertilitesin de de başarının önemli derecede artmasına neden olmuştur². ICSI tek bir spermatozoa'nın direk olarak yumurtanın sitoplazmasına ince bir cam iğne ile enjekte edilmesidir. Şu an preimplantasyon

genetik tanı işleminin kullanıma girmesi ile genetik olarak anormal embriyoların tanısı konulabilmekte fakat bu işlemle embriyoya önemli derecede manipulasyonlar yapılmaktadır³.

YÜT'leri ile elde edilen gebeliklerde, doğal yollar ile elde edilen gebeliklere göre çocuklar bazı risklere daha fazla maruz kalmaktadır. YÜT ile olan gebeliklerde özellikle çoğul gebelik riskinin artması aynı zamanda çoğul gebeliğe bağlı preterm doğum ve düşük doğum ağırlığı riskini beraber getirmektedir⁴. YÜT'lerinden bağımsız olarak bu hasta grubunun bazı özellikleri de YÜT yardımı ile olan çocukların riskinin daha fazla olmasını açıklamada yararlı olabilir. YÜT uygulanan hastaların ortalama yaşları doğal yolla elde edilen gebeliklere göre ortalama 5 yaş daha büyüktür⁵. İleri yaşta gebelik istemi ve çocuk tedavisindeki gelişmeler ile ileri yaşta IVF'a talep daha da artmıştır ama bu yanında bazı olumsuzlukları da beraber getirmektedir. 35 yaş üstü gebeliklerde, IVF gebelikleri ile doğal yollar ile elde edilen gebelikler karşılaştırıldığında, ileri yaş 283 hastada sırası ile sezaryen hızı (39.9% 25.1% p<0.001) preterm doğum hızı (18.7% 10.3% p<0.008) daha yüksek oranda ve ortalama doğum ağırlığı daha düşük olarak bildirilmiştir⁶.

Ebeveynlerden özellikle annenin subfertil durumu, hiçbir tedavi almadan oluşan doğal yollar ile elde edilen gebeliklerinde bile gebelik sürecinde ve doğumda birçok risk faktörü tanımlanmıştır^{7,8}. YÜT'lerindeki teknik işlemler ve tedavi modaliteleri de daha az etkili olabilmekle birlikte YÜT ile doğan çocuklardaki artmış riski açıklayabilir. Bu faktörler ovulasyonun dışarıdan hormonlarla tetiklenmesi, oosit bütünlüğü ve folekül içi hormonal değişiklikler, sperm ve embriyonun invitro ortama maruz kalması olarak sıralanabilir. YÜT' nin 30 yılı aşkın yaygın kullanılmasına rağmen YÜT'leri ile elde edilen gebeliklerdeki çalışmaların çoğu neonatal ve küçük çocuklar üzerindeki etkilerini araştırmışlardır erken ergenlik yaşına kadar çocukları izleyen çok az çalışma mevcuttur.

Bu derlemenin amacı şu an ki kanıtların ışığı altında YÜT ile elde edilen gebeliklerin neonatal ve perinatal sonuçları, konjenital anomali sıklığı açısından doğal yoldan gebe kalanlara göre daha fazla riske sahip olup olmadıklarını özetlemektir.

Çoğul Gebeliklerde Riskler

IVF tedavisi gören kadınlar doğal yollardan elde edilen gebeliklere göre 20 kat artmış ikiz ve 400 kat artmış üçüz gebelik riski altındadır. YÜT'leri ile artan çoğul gebelik oranı medikal, psikolojik ve ekonomik anlamda artmış risk faktörleri ile ilişkilidir. Son 25 yılda YÜT'de olan

gelişmeler, embriyo kültür zamanlarının arttırılması ile 5. günde blastosist transferi ve tek embriyo transferine doğru geçilmesi sonucu önemli değişimler görülmektedir.

1982-2001 yılları arasında IVF tedavisi gören 13261 hasta ile 2001-2006 yılları arasında IVF tedavisi gören 14126 hastanın sonuçlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada 2001-2006 yılları arasında IVF tedavisi olan hastaların %70'ne tek embriyo transferi yapılmıştır. İkinci çalışma grubunda çoğul gebelik preeklampsi ve erken membran rüptürü gibi gebelik komplikasyonları daha az görülürken daha iyi neonatal sonuçlar ve azalmış neonatal mortalite izlenmiştir. Fakat bu çalışmada özellikle blastosist döneminde embriyo transferi yapılan çocuklarda bölünme döneminde uygulanan embriyo transferine göre daha fazla preterm eylem ve konjenital malformasyon rapor edilmiştir⁹.

Çoğul gebelik hızı IVF ve ICSI sonrası Avrupa'da % 22,7 ve Amerika'da %31,7 oranındadır. Çoğul gebeliklerde fetüs sayısı arttıkça preterm doğum riski, düşük doğum ağırlığı riski ve konjenital malformasyon oranı daha yüksektir^{10,11}. Ekonomik boyutu ele alındığında çoğul gebelikler de hem antenatal takipleri daha sık ve masraflı hemde yenidoğan yoğun bakım tedavisi ihtiyacı daha fazladır. Doğal yoldan elde edilen ve YÜT ile elde edilen dikoryonik ikiz gebeliklerde aynı antenatal takibe rağmen YÜT ile elde edilen çoğul gebeliklerde çok erken preterm doğum oranı (32 hafta altı), düşük doğum ağırlığı, neonatal yoğun bakım gereksinimi ve peritaneal mortalite riski daha yüksek oranda bildirilmiştir¹².

Günümüzde tek embriyo transferi oranlarının artması ile çoğul gebelik oranında düşme görülmektedir⁹. İlk olarak İskandinav ülkelerinde uygulamaya konulan ve giderek yaygınlaşan tek embriyo transferi sonucu çoğul gebelik oranı %5'düzeyine indirilmiş ve gebelik başarısında bir azalma gözlenmemiştir^{13,14}. 2009 yılında Pandian ve arkadaşlarının yaptığı Cochrane meta-analizinde iki embriyo transferi ile tek embriyo transferi ve gebelik olmazsa takip eden siklusta donmuş-çözülmüş embriyo transferi karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada gebelik oranı, devam eden gebelik oranı ve abortus oranları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmaz iken çoğul gebelik oranının tek embriyo transferi ile belirgin olarak düştüğü gösterilmiştir. Gebelik başarısını düşürmeden tek embriyo transferi için iyi kurulmuş bir embriyo dondurma sistemi ve bu sistemin işler düzeyde olması başarıyı etkileyen en önemli faktör olarak görülmektedir¹⁵.

Tekil Gebeliklerde Riskler

Tek embriyo transferi, IVF yardımı ile doğan çocuklarda kötü perinatal sonuçları azaltmada tam olarak bir çözüm değildir. Birçok meta-analizde çoğul gebeliklere ve çoğul gebeliklere bağlı olarak gelişen komplikasyonlar dışında YÜT'leri ile elde edilen tekil gebeliklerde de preterm doğum, düşük doğum ağırlığı, neonatal mortalite ve yenidoğan yoğun bakım gereksinimi daha fazla olarak bildirilmiştir^{16,18}. Bu hastaların yaşı ve paritesi düzeltildiğinde bile doğal yollar ile elde edilen gebelikler ve YÜT ile elde edilen gebelikler arasında önemli derecede fark bulunmuştur.

2013 yılında YÜT ile elde edilen tekil gebeliklerde kötü perinatal sonuçların nedenini araştıran bir meta-analizde özellikle gebelik oluşana kadar geçen sürenin 1 yılın üzerinde olması olarak tanımlanan subinfertilitenin kötü perinatal sonuçları açıklayan en önemli faktör olduğunu bildirmiştir¹⁹.

Konjenital Malformasyonlar

Konjenital anomalilerin birçoğunun nedeni tam olarak bilinmemektedir. Konjenital anomalilerin yaklaşık %14 ünün tek gen mutasyonu ve major kromozom anomalisi sonucunda, yaklaşık %5'inin çevresel faktörlerle (enfeksiyon ve toksinler) ve %20 kadarının çevresel ve genetik faktörlerin kombine etkisi ile oluştuğu gösterilmekte ancak geri kalan %60'nın nedeni hala bilinmemektedir²⁰. Birçok meta-analizde konjenital anomalilerin YÜT'leri yardımı ile doğan çocuklarda %30-40 oranında daha fazla olduğu bildirilmiştir^{18,21-23}. Bu durum anne ve baba adaylarına etkili bir danışmanlık verilmesinin önemini artırmaktadır. Hansen ve arkadaşlarının 1989-2003 yılları arasındaki 25 çalışmanın meta-analizinde odds oranı 1.29 olarak bildirilmiştir (%95 güven aralığı 1,21-1,37). Bu çalışmada hem IVF hem de ICSI olguları da çalışmaya dahil edilmiştir²².

Kallen ve arkadaşlarının İsveç'te yapılan 2001-2006 yılları arasında 31850 hastayı kapsayan çalışmasında ise, total malformasyon hızı YÜT sonrası doğan çocuklarda %5,3, genel popülasyonda ise %4,4 olarak bildirilmiştir ve konjenital malformasyon prevalansının zaman içinde azaldığını fakat artmış riskin %15 olarak hala var olduğunu bildirilmiştir²⁴.

ART ilişkili konjenital anomaliler arasında anensefali, spina bifida, kardiyovasküler defektler, yarı dudak-damak ve gastrointestinal kanal atrezileri yer alır²². ICSI'de tek bir spermatozoa direk olarak yumurtanın stoplazmasına ince bir cam iğne ile enjekte edildiğinden dolayı IVF'a

göre daha invaziv bir tekniktir. Düşük sperm sayısı, kötü sperm kalitesi ve/veya sperm motilitesi az olan erkeklerde ICSI tedavisi kullanılmakta ve birçok ciddi erkek infertilite nedeni aşılabilir. IVF ile ICSI uygulamaları karşılaştırıldığında major anomali riskinde bir fark izlenmemiştir²⁵.

Kötü sperm kalitesi olan erkeklerde Y kromozom delesyonları ve diğer kromozomal anomalilerin insidansı daha fazladır²⁶. Birçok çalışmada ICSI yardımı ile doğan çocuklarda kalıtsal ve de novo kromozomal aberasyonlar daha fazla bildirilmiştir^{25,27,28}. Ürogenital malformasyonlardan özellikle primer hipospadias erkek infertilitesi ile ilişkilidir ve erkek infertilitesine bağlı ICSI uygulanan hastalarda daha yüksek oranda izlenmiştir^{24,29}. YÜT yardımı ile doğan çocuklarda genital organ malformasyonu subfertil olup fakat daha sonra kendiliğinden elde edilen gebeliklere göre de önemli derecede yüksek olarak bildirilmiştir³⁰. İsveç çalışmasında ICSI uygulanan hastalardaki bu artmış hipospadias riskinin zamanla kaybolduğu bildirilmiştir²⁴. Bu riskin azalmasını özellikle son yıllarda ICSI'nun şiddetli erkek faktörü dışında da daha geniş endikasyonlar ile yaygın kullanılmasına bağlanabileceği açıklanmıştır.

1995-2009 yılları arasında 466 epididimal ve testiküler sperm, 8967 ejaküle sperm ile ICSI tedavisi uygulanan, 17592 IVF tedavisi uygulanan ve 63854 doğal konsepsiyon sonrası doğan çocuklarda neonatal sonuçları karşılaştıran bir çalışmada, tekil gebeliklerde 4 grup arasında perinatal ve neonatal mortalite açısından herhangi bir fark izlenmemiştir. Total konjenital malformasyon hızında da bir fark izlenmez iken epididimal ve testiküler sperm sonrası ICSI uygulanan hastalarda IVF uygulaması sonrası doğan çocuklara göre kardiyak anomali oranı daha fazla bildirilmiştir³¹.

ICSI ile standart IVF uygulamasını karşılaştıran bir meta-analizde major doğum defeklerinin ICSI' de önemli derecede artmadığı bildirilmiştir³². YÜT ile ilişkili spesifik konjenital kalp hastalıklarını araştıran bir çalışmada fallot tetralojisi riski YÜT sonrası doğan çocuklar ile kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında YÜT ile elde edilen gebeliklerde artmış oranda izlenmiştir. YÜT' lerinde maternal ve paternal özellikler düzeltildiğinde bile fallot tetralojisi riskinde 2,4 kat artış bulunmuştur (OR:2.4 %95 güven aralığı1.5-3.7). Fallot tetralojisi riski ICSI uygulanan hastalarda en yüksek olarak bulunmuştur. Diğer konjenital kalp hastalıklarından, sol hipoplastik kalp sendromu, büyük arter transpozisyonu ve aort koarktasyonunda her hangi bir artış izlenmemiştir³³.

Yeni çalışmalar YÜT ile imprinting bozukluklarının da arttığını ileri sürmüşlerdir. Imprinting bozuklukları, mayotik ve mitotik olarak aktarılan DNA sekansında açıklanamayan gen fonksiyon değişiklikleri tarafından oluşturulurlar. Angelman sendromu, Beckwith Weidemann sendromu YÜT sonrası arttığı iddia edilen etkilenmiş genlerin neden olduğu sendromlardır^{34,35}. İlk olarak 1963 yılında Beckwith daha sonra 1964 yılında Weidemann tarafından tanımlanan sendromun insidansı yaklaşık 1:14000'dir³⁶. Beckwith Weidemann sendromunda Pankreas Langerhans adacıklarında beta hücre hiperplazi vardır. İnsulin ve insülin benzeri büyüme faktörü olan (IGF) yapımındaki artış nedeni ile hiperinsülinemik hipoglisemi gelişir. IGF'ün artışı nedeni ile bebeğin uzun ve iri olması (gigantizm) ve iç organların büyük olması (organomegali) bu hastalığın karakteristik özelliğidir. Makroglossi gigantizm ve karın ön duvar defekti en önemli bulgularıdır. Angelman sendromu bebeğin neşeli görünüşü ve kesintili hareketleri nedeni ile mutlu kukla olarak bilinen nörolojik bir hastalıktır. Imprinting bozukluklarındaki artış klinik olarak çok anlamlı olmasa da toplum sağlığı için önemlidir ve nadir olarak görüldüklerinden hastaya dayalı çalışmalar gerekmektedir.

Blastosist Kültürü

Embriyo transferi oosit toplanmasını takiben iki ile beşinci günler arasında yapılır. Son 30 yılda insan embriyosu için daha fizyolojik kültür ortamlarının geliştirilmesi ile insan embriyosu blastosist dönemine kadar kültür edilmeye başlanılmıştır. İnsan embriyosunun yarıklanma evresinin ötesine yani embriyonik genom aktivasyonunu kazandıktan sonraki döneme kadar kültüre edilmesinin implantasyon oranını arttırdığı bildirilmiştir³⁷.

Blastosist transferi ile yarıklanma döneminde embriyo transferini karşılaştıran Kallen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 1311 tekil gebelikte blastosist ve yarıklanma döneminde embriyo transferi karşılaştırıldığında blastosist döneminde embriyo transferi yapılanlarda total konjenital anomali oranının önemli derecede arttığı gösterilmiştir (OR=1.43; %95 güven aralığı 1.14–1.81)³⁸.

Fresh ve Dondurulmuş Embriyo Transferi

Embriyo kriyoprezervasyonu fertilitate korunması amacı ile kullanılan etkinliği kanıtlanmış bir yöntemdir. Embriyo dondurulması sonrası ilk bebek 1884 yılında, oosit dondurulması sonucu ilk bebek ise 1986 yılında doğmuştur^{39,40}. Embriyo kriyoprezervasyonu fazla embriyoların korunması ve ovaryan hiperstimülasyon sendromu riski yüksek olan hastalarda bir sonraki

siklusta kullanılmak amacı ile yıllardır kullanılmaktadır. Oosit kriyoprezervasyonu ise kanser olan hastalarda fertilitenin prezervasyonu için kullanılmaktadır. Günümüzde ise eğer embriyo sayısı az ise direk transfer edilirken embriyo sayısı çok ise fazla sayıdaki embriyo dondurulmaktadır.

Kriyoprezervasyon işleminde ve çözülme esnasında önemli hücresel değişikliklerin olabileceği, dondurma tekniklerinin artması ve farklı dondurma tekniklerinin kullanıma girmesi ile teorik olarak neonatal sonuçlar ve bu çocukların takibinde bu tekniklerin ne kadar güvenli olduğu açısından sorgulanmaya başlanmıştır. En yaygın olarak kullanılan dondurma tekniklerinden olan yavaş dondurma tekniğinin sonuçlarını araştıran bir çalışmada yavaş dondurulmuş embriyo transferi sonrası doğan çocuklar ile fresh embriyo transferi sonrası doğan çocuklar arasında konjenital malformasyon oranı benzer oranda hatta obstetrik sonuçlar yavaş dondurulmuş embriyo transferi sonrası doğan çocuklarda daha az izlenmiştir⁴¹⁻⁴⁵. Diğer bir dondurma yöntemi olan vitrifikasyon sonrası bütün canlı doğan infantlarda doğum defekti %1.3 oranında bildirilmiş ve doğal yolla elde edilen çocuklar ile aynı oranda olduğu bildirilmiştir⁴⁶.

Tek merkezli 103 vitrifiye, 199 taze ve 194 yavaş dondurulmuş blastosist kültürü sonrası embriyo transferi sonrası konjenital anomali oranında artma izlenmemiştir⁴⁷. 3.5 milyon ICSI/IVF yardımı ile doğan çocuklarda 2009 yılında yapılan bir meta-analizde erken bölünme döneminde taze ve dondurulmuş embriyo transferleri karşılaştırıldığında dondurulmuş embriyo transferlerinde preterm doğum ve düşük doğum ağırlığı gibi obstetrik sonuçların en az taze embriyo transferi kadar başarılı olduğu bildirilmiştir⁴¹. Blastosist'in yavaş dondurulması, erken bölünme dönemindeki embriyo, blastosist ve oositin vitrifikasyonu ile çalışmalar yetersiz olduğu için neonatal sonuçlar net bilinmemektedir. 2012 yılında 11 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde ise IVF ve ICSI yardımı ile elde edilen gebeliklerde dondurulmuş-çözülüş embriyo transferi ile taze embriyo transferlerinin perinatal sonuçları değerlendirildiğinde antepartum kanama, preterm doğum ve perinatal mortalite dondurulmuş-çözülüş embriyo transferi yapılan hastalarda daha düşük olarak bildirilmiştir⁴².

Sonuç

Tek embriyo transferi, IVF yardımı olan çocuklarda kötü perinatal sonuçları azaltmada tam olarak bir çözüm değildir. Çoğul gebeliklere ve çoğul gebeliklere bağlı gelişen

komplikasyonlar dışında YÜT'leri ile elde edilen tekil gebeliklerde de preterm doğum, düşük doğum ağırlığı, neonatal mortalite ve yenidoğan yoğun bakım gereksinimi daha fazladır. Birçok çalışma ve meta-analizde YÜT sonrası doğan çocukların, spontan gebe kalanlara göre artmış konjenital anomali riski taşıdığı öne sürülmektedir. Bu artmış doğumsal riskin nedeni şu an için net bilinmemektedir. Subinfertilite, ovulasyon indüksiyonu, YÜT laboratuvar teknikleri bu riski arttıran faktörler olarak suçlanmaktadır. Klinisyenler ailelere danışmanlık yaparken doğumsal defekt prevelansının toplumdaki normal prevelansa göre %30-40 oranında daha fazla olduğunu bildirmelidirler. Bu gebeliklerde bir perinatolog tarafından detaylı antenatal görüntüleme ile dikkatle takip edilmeleri tavsiye edilmelidir

Kaynaklar

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 1978;2:366.
2. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 1992;340:17-8.
3. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RM. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*. 1990;344:768-70.
4. Fauser BC, Devroey P, Macklon NS. Multiple birth resulting from ovarian stimulation for subfertility treatment. *Lancet*. 2005;365:1807-16.
5. Katalinic A, Rosch C, Ludwig M. Pregnancy course and outcome after intracytoplasmic sperm injection: a controlled, prospective cohort study. *Fertil Steril*. 2004;81:1604-16.
6. Tomic V, Tomic J. Neonatal outcome of IVF singletons versus naturally conceived in women aged 35 years and over. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;284:1411-6.
7. Gray RH, Wu LY. Subfertility and risk of spontaneous abortion. *Am J PublicHealth*. 2000;90:1452-4.
8. Lambert RD. Safety issues in assisted reproductive technology: aetiology of health problems in singleton ART babies. *Hum Reprod*. 2003;18:1987-91.
9. Finnström O, Källén B, Lindam A, Nilsson E, Nygren KG, Olausson PO. Maternal and child outcome after in vitro fertilization--a review of 25 years of population-based data from Sweden. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2011;90:494-500.
10. Andersen AN, Goossens V, Ferraretti AP, Bhattacharya S, Felberbaum R, de Mouzon J et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2004. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*. 2008;23:756-71.
11. Wright VC, Chang J, Jeng G, Macaluso M. Assisted reproductive technology surveillance – United States, 2005. *MMWR Surveill Summ*. 2008;57:1-23.

12. Moini A, Shiva M, Arabipoor A, Hosseini R, Chehrazi M, Sadeghi M. Obstetric and neonatal outcomes of twin pregnancies conceived by assisted reproductive technology compared with twin pregnancies conceived spontaneously: a prospective follow-up study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012;165:29-32.
13. Bergh C. Single embryo transfer: a mini-review. *Hum Reprod.* 2005;20:323-7.
14. Bergh C, Kjellberg AT, Karlstrom PO. Single-embryo fertilization in vitro. Maintained birth rate in spite of dramatically reduced multiple birth frequency. *Lakartidningen.* 2005;102:3444-7.
15. Pandian Z, Bhattacharya S, Ozturk O, Serour G, Templeton A. Number of embryos for transfer following in-vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009 15;CD003416
16. Helmerhorst FM, Perquin DA, Donker D, Keirse MJ. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. *BMJ.* 2004;328:261.
17. 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.
18. McDonald SD, Murphy K, Beyene J, Ohlsson A. Perinatal outcomes of singleton pregnancies achieved by in vitro fertilization: a systematic review and metaanalysis. *J Obstet Gynaecol Can.* 2005;27:449-59.
19. Pinborg A, Wennerholm UB, Romundstad LB, Loft A, Aittomaki K, Söderström-Anttila V, Nygren KG, Hazekamp J, Bergh C. Why do singletons conceived after assisted reproduction technology have adverse perinatal outcome? Systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2013;19:87-104.
20. Sutcliffe AG. *Healty and welfare of ART children.* London, Taylor Francis, 2006
21. Rimm AA, Katayama AC, Diaz M, Katayama KP. A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. *J Assist Reprod Genet.* 2004;21:437-43.
22. 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.
23. Wen J, Jiang J, Ding C, Dai J, Liu Y, Xia Y et al. Birth defects in children conceived by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a metaanalysis. *Fertil Steril.* 2012;97:1331-7.
24. Kallen B, Finnstrom O, Lindam A, Nilsson E, Nygren K-G, Otterblad PO. Congenital malformations in infants born after in vitro fertilization in Sweden. *Birth Defects Res.* 2010;88:137-43.
25. 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.
26. Jensen TK, Jacobsen R, Christensen K, Nielsen NC, Bostofte E. Good semen quality and life expectancy: a cohort study of 43,277 men. *Am J Epidemiol.* 2009;170:559-65.

27. Aboulghar H, Aboulghar M, Mansour R, Serour G, Amin Y, Al-Inany H. A prospective controlled study of karyotyping for 430 consecutive babies conceived through intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2001;76:249-53.
28. Gjerris AC, Loft A, Pinborg A, Christiansen M, Tabor A. Prenatal testing among women pregnant after assisted reproductive techniques in Denmark 1995–2000: a national cohort study. *Hum Reprod.* 2008;23:1545–52.
29. Bonduelle M, Van Assche E, Joris H, Keymolen K, Devroey P, VanSteirteghem A et al. Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters. *Hum Reprod.* 2002;17:2600–14.
30. Zhu JL, Basso O, Obel C, Bille C, Olsen J. Infertility, infertility treatment, and congenital malformations: Danish national birth cohort. *BMJ.* 2006;333:679.
31. Fedder J, Loft A, Parner ET, Rasmussen S, Pinborg A. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after ICSI with testicular or epididymal sperm: a controlled national cohort study. *Hum Reprod.* 2013;28:230-40.
32. Lie RT, Lyngstadaas A, Ørstavik KH, Bakketeig LS, Jacobsen G, Tanbo T. Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. *Int J Epidemiol.* 2005;34:696-701.
33. Tararbit K, Lelong N, Thieulin AC, Houyel L, Bonnet D, Goffinet F, Khoshnood B; EPICARD Study Group. The risk for four specific congenital heart defects associated with assisted reproductive techniques: a population-based evaluation. *Hum Reprod.* 2013;28:367-74.
34. Horsthemke B, Ludwig M. Assisted reproduction: the epigenetic perspective. *Hum Reprod Update.* 2005;11:473-82.
35. Sutcliffe AG, Peters CJ, Bowdin S, Temple K, Reardon W, Wilson L et al. Assisted reproductive therapies and imprinting disorders—a preliminary British survey. *Hum Reprod.* 2006;21:1009-11.
36. Chang AS, Moley KH, Wangler M, Feinberg AP, Debaun MR. Association between Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproductive technology: a case series of 19 patients. *Fertil Steril.* 2005;83:349-54.
37. Plachot M, Belaisch-Allart J, Mayenga JM, Chouraqui A, Serkine AM, Tesquier L. Blastocyst stage transfer: the real benefits compared with early embryo transfer. *Hum Reprod.* 2000;15:24-30.
38. Kallen B, Finnstrom O, Lindam A, Nilsson E, Nygren KG, Olausson PO. Blastocyst versus cleavage stage transfer in in vitro fertilization: differences in neonatal outcome? *Fertil Steril.* 2010;94:1680-3.
39. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet.* 1986;1:884-6.
40. Zeilmaker GH, Alberda AT, van Gent I, Rijkman CM, Drogendijk AC. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil Steril.* 1984;42:293–6.

41. Wennerholm UB, Söderström-Anttila V, Bergh C, Aittomäki K, Hazekamp J, Nygren KG et al. Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome data. *Hum Reprod.* 2009;24:2158–72.
42. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2012;98:368–77.
43. Pinborg A, Loft A, Aaris Henningsen AK, Rasmussen S, Andersen AN. Infant outcome of 957 singletons born after frozen embryo replacement: the Danish National Cohort Study 1995–2006. *Fertil Steril.* 2010;94:1320–7.
44. Pelkonen S, Koivunen R, Gissler M, Nuojua-Huttunen S, Suikkari AM, Hyden-Granskog C et al. Perinatal outcome of children born after frozen and fresh embryo transfer: the Finnish cohort study 1995–2006. *Hum Reprod.* 2010;25:914–23.
45. Sazonova A, Kallen K, Thurin-Kjellberg A, Wennerholm UB, Bergh C. Obstetric outcome in singletons after in vitro fertilization with cryopreserved/thawed embryos. *Hum Reprod.* 2012;27:1343–50.
46. Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online* 2009;18:769–76.
47. Wikland M, Hardarson T, Hillensjö T, Westin C, Westlander G, Wood M, et al. Obstetric outcomes after transfer of vitrified blastocysts. *Hum Reprod.* 2010;25:1699–707

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Setenay Arzu Yılmaz
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Konya
e-mail: setenayarzu@hotmail.com