



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

[SÍLVIA MARGARIDA PINELAS RIJO SILVA ACHAS]

***[COMPLICAÇÕES DAS TÉCNICAS DE
REPRODUÇÃO MEDICAMENTE ASSISTIDA: A
TÉCNICA, A GRAVIDEZ E O FETO]***

[ARTIGO DE REVISÃO]

ÁREA CIENTÍFICA DE GINECOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
[PROFESSORA DOUTORA MARIA ISABEL RIBEIRO REIS TORRAL
DIAS COSTA]**

[MARÇO/2015]

Índice:

| | |
|--|----|
| 1. Resumo | 2 |
| 1. <i>Abstract</i> | 2 |
| 2. Introdução | 3 |
| 3. Materiais e Métodos | 5 |
| 4. Resultados | 5 |
| 5. As Técnicas de PMA | 6 |
| 5.1. Etapas comuns a todas as técnicas de PMA | 6 |
| 5.1.1. Indução da Ovulação | 6 |
| 5.2. Etapas específicas das técnicas de PMA | 9 |
| 5.2.1. Inseminação Artificial | 9 |
| 5.2.2. Fecundação “in vitro” | 9 |
| 5.2.3. Injeção Intracitoplasmática de Espermatozóide | 11 |
| 5.2.4. Doação de gâmetas ou embriões | 11 |
| 6. Complicações das técnicas de PMA | 13 |
| 6.1. Complicações do tratamento farmacológico | 13 |
| 6.1.1. Síndrome de hiperestimulação Ovárica | 13 |
| 6.2. Complicações dos procedimentos invasivos | 15 |
| 6.2.1. Rotura de um vaso – Hemoperitoneu | 15 |
| 6.2.2. Infecção | 16 |
| 7. Complicações da Gravidez | 17 |
| 7.1. Aborto espontâneo / nados mortos | 17 |
| 7.2. Gravidez extra-uterina | 17 |
| 7.3. Gravidez Múltipla | 18 |
| 7.4. Parto pré-termo | 20 |
| 7.5. Baixo peso ao nascer | 21 |
| 8. Complicações para o Feto | 22 |
| 8.1. Anomalias Cromossômicas | 23 |
| 8.2. Malformações Congénitas | 24 |
| 8.3. Patologia Metabólica | 26 |
| 8.4. Patologia Cardiovascular | 27 |
| 8.5. Patologia Respiratória | 28 |
| 8.6. Neurodesenvolvimento | 29 |
| 9. Conclusão | 30 |
| 10. Agradecimentos | 32 |
| 11. Referências | 33 |

1. Resumo

As técnicas de procriação medicamente assistida (PMA) são cada vez mais procuradas devido ao aumento das taxas de infertilidade.

Como em qualquer procedimento médico, há risco de surgirem complicações, que podem ser organizadas em três grupos: as complicações da técnica per se, as complicações que poderão surgir durante a gravidez e as complicações que poderão vir a afectar a criança concebida por técnicas de PMA.

Torna-se então necessário rever as ditas complicações e apurar se existe ou não uma relação directa entre elas e as técnicas de PMA, sendo estes os objectivos deste artigo de revisão.

Palavras Chave: “Procriação Medicamente Assistida”; “Complicações”; “Infertilidade”; “FIV”; “ICSI”; “gravidez” ; “Crianças concebidas por PMA”

1. Abstract

The Artificial reproduction techniques (ART) are much more in demand due to the increase in the infertility rates.

As in any medical procedure, there is risk of complications, which can be organized into three groups: complications of the ART itself, complications that may occur during pregnancy and the complications that may affect the child conceived by ART.

Then, it becomes necessary to review these complications and investigate if there is a relation or not between them and the ART procedure, being these the objectives of this review.

Key-words: *“Assisted Reproduction Techniques”; “Complications”; “Infertility”; “FIV”; “ICSI”; “Pregnancy”; “ Children conceived by ART”*

2. Introdução

Desde o nascimento de Louise Brown em 1978 [1,2,3], a percentagem de nascimentos como consequência de uma técnica de reprodução medicamente assistida tem vindo a aumentar, estimando-se que hoje seja de 1-4% de todos os nascimentos [4,5,6], com maior incidência nos países industrializados. O aumento da procura destes métodos de reprodução reflecte um aumento das taxas de infertilidade, definida pela OMS como a ausência de gravidez após 12 meses de relações sexuais regulares e desprotegidas.

As técnicas de reprodução medicamente assistida (PMA) têm sofrido alterações ao longo dos anos, à luz das constantes descobertas científicas das últimas décadas. Actualmente as PMA variam desde a simples estimulação ovárica, até à técnica mais invasiva: a injeção intracitoplasmática de espermatozóides (ICSI).

Devido a esta grande procura, é necessário termos consciência de que estas técnicas podem acarretar riscos, não só para a mulher que se submete aos procedimentos, mas também para a gravidez e o feto que tanto se deseja.

Neste sentido, torna-se necessário rever as diversas técnicas e suas eventuais complicações, assim como as possíveis complicações da gravidez que delas resulta e das que poderão afectar feto que se desenvolverá quando todo o processo tem sucesso.

No âmbito do protocolo a seguir, poderemos depararmo-nos com situações de intolerância ou reacções adversas aos diversos fármacos utilizados, com situações de infecção secundária aos procedimentos mais invasivos ou ocorrência de situações emergentes que podem pôr em risco a vida da mulher como o síndrome de hiperestimulação do ovário, entre outros.

Quando a gravidez é conseguida, pode ser ela mesma sede de complicações, que podem ser associadas ao método não biológico que a gerou. Estas intercorrências não são diferentes das duma gravidez conseguida por métodos naturais, apenas parecem surgir mais frequentemente nos casos de gravidezes por PMA, como se poderá verificar, por exemplo, com as percentagens de gravidez extra uterina, partos pré-termo, baixo peso ao nascer, gravidez múltipla e aborto espontâneo.

Relativamente ao produto da concepção, o embrião / feto pode apresentar anomalias que surgem em maior número quando se utilizam técnicas de reprodução medicamente assistida. Estas anomalias podem variar de anomalias cromossómicas a malformações congénitas, principalmente defeitos do tubo neural, que podem pôr em risco a sobrevivência do feto e a sua qualidade de vida.

Finalmente, quando a gravidez chega ao seu terminus e o feto nasce, há ainda que considerar os problemas patológicos de que este pode padecer ou vir a padecer ao longo da sua vida, alguns dos quais ainda são desconhecidos. Tenta-se aqui também estabelecer uma relação entre as ocorrências patológicas deste novo ser e o processo

que deu início à sua vida. Aqui, concretamente, focam-se principalmente patologias crónicas como a Hipertensão, Obesidade e Asma.

3. Materiais e métodos

Efectuou-se uma pesquisa bibliográfica utilizando a base de dados bibliográfica PubMed com as palavras “reprodução medicamente assistida”, “infertilidade”, “complicações”, “FIV”, “ICSI”, “gravidez” e “crianças concebidas por PMA” seleccionando-se os artigos publicados nos últimos 10 anos (2004-2014), nas línguas portuguesa e inglesa.

Deste grupo de artigos foram escolhidos aqueles cujo tema mais se adequava aos objectivos deste trabalho, bem como as suas referências mais importantes obtendo-se assim uma selecção de 38 artigos.

4. Resultados

Dos artigos analisados, 26 são artigos originais e 11 Artigos de Revisão.

Dentro dos artigos originais, 2 têm uma amostra com menos de 100 indivíduos, 8 têm uma amostra entre 100 - 1 000 indivíduos, 8 têm uma amostra entre 1 000 – 10 000 indivíduos e 8 têm uma amostra com mais de 10 000 indivíduos.

Relativamente às complicações das técnicas de PMA, 6 artigos abordavam este tema, sendo que 4 deles apresentavam soluções para as minimizar.

Para as complicações que surgem durante a gravidez, foram consultados 21 artigos, 11 dos quais abordavam mais do que uma das complicações exploradas.

No que diz respeito às complicações da criança, 19 artigos referiam-se a este aspecto das técnicas de PMA.

5. As Técnicas de PMA

No vasto mundo da procriação medicamente assistida, existem diferentes técnicas que podem ser utilizadas, cada uma com as suas especificidades, as quais se adequam melhor a uns casos do que a outros.

Todas partilham as etapas iniciais de indução da ovulação e manipulação laboratorial de gâmetas femininos e/ou masculinos, antes da transferência de gâmetas ou embriões para o sistema reprodutor feminino [1].

5.1. Etapas comuns a todas as técnicas de PMA

5.1.1. Indução da Ovulação

Fora do contexto das técnicas de PMA a Indução da Ovulação tem por objectivo a obtenção de um ovócito maduro e fecundável, para que a gravidez ocorra

espontaneamente. Em PMA tem como objectivo a obtenção do maior número de ovócitos possível.

Pode ser efectuada recorrendo a indutores químicos e em casos especiais, a “drilling” dos ovários após o tratamento farmacológico.

De entre os indutores químicos disponíveis destacam-se:

a. Citrato de Clomifeno (CC) - O CC é um composto anti-estrogénico, com uma estrutura semelhante a este e que bloqueia os receptores de estrogénios do hipotálamo. Altera assim a libertação pulsátil de GnRH, induzindo uma descarga de FSH, por retrocontrolo positivo em muitos dos casos suficiente para reestabelecer um ciclo ovulatório. É utilizado numa dose de 50-150mg id durante 5 dias, iniciando-se entre o 2º e 5º dia de uma menstruação espontânea ou induzida.

b. Inibidores da Aromatase - São supressores da síntese de estrogénios e bloqueiam a enzima aromatase que converte os androgénios em estrogénios. Deste modo diminuem os níveis de estrogénios e libertam, temporariamente, o hipotálamo do seu feedback negativo, dando origem a uma descarga de FSH.

c. Metformina - Tem uma acção directa nas células teca dos folículos diminuindo a produção de androgénios locais. Com menos androgénios a serem convertidos em estrogénios, em última instância, leva a uma descarga de FSH. Este fármaco é administrado numa dose de 1500 – 2500mg id. e só é utilizado em situações de Síndrome de Ovário Poliquístico com aumento da resistência à insulina.

d. Gonadotrofinas (FSH / LH / hCG) - São uma fonte exógena de FSH e/ou FSH + LH, produzidas através da técnica de DNA recombinante ou extraídas e purificadas da urina de mulheres em menopausa. Têm a mesma acção que as FSH e LH endógenas e são utilizadas para produzir os mesmos efeitos. Neste tipo de tratamentos normalmente associa-se terapêutica com agonistas da GnRH.

Esta estimulação requer um grande controle sobre o eixo hipotálamo – hipófise – ovários, pelo que se começa por suprir as funções pituitárias com agonistas da GnRH. Os Agonistas actuam causando uma hiperestimulação da pituitária que vai originar a sua dessensibilização. Assim, de início, ocorrerá um pico de gonadotrofinas seguido de uma supressão da produção destas mesmas hormonas quando a hipófise estiver dessensibilizada.

Inicia-se então a administração das gonadotrofinas. A FSH dá início ao desenvolvimento dos folículos durante a fase folicular do ciclo ovárico. Quando os folículos atingem o tamanho adequado, é administrada uma dose única de hCG que tem como função estimular a maturação final dos folículos e desencadear a ovulação, função esta que num ciclo fisiológico seria responsabilidade da LH. Finalmente a LH é administrada durante a fase lútea do ciclo ovárico para manutenção do corpo lúteo, fundamental para a primeira fase da gravidez.

“Drilling” dos ovários – por via laparoscópica e com recurso a sonda de electrocauterização, são efectuadas 4–10 perfurações com 2–4 mm de profundidade no córtex de cada ovário. Estas perfurações irão diminuir o estroma do ovário e consequentemente os níveis de testosterona e LH e permitir um aumento da FSH,

criando condições para que o ciclo seguinte seja um ciclo ovulatório. Este procedimento é utilizado principalmente em mulheres com Síndrome do Ovário Poliquístico, que com outras medidas e fármacos continuam sem ter ciclos ovulatórios.

5.2. Etapas específicas das técnicas de PMA

5.2.1. Inseminação Artificial

Nesta técnica, o sémen é introduzido na cavidade uterina através de um cateter. Pode ser utilizado imediatamente após a sua colheita ou pode ser previamente colhido e tratado em laboratório: sendo seleccionados os espermatozóides moveis e normais. A inseminação é coordenada temporalmente com a indução da ovulação a que a mulher foi sujeita, de modo a coincidir com a altura da ovulação, o que se consegue com recurso a monitorização ecográfica da evolução dos folículos ováricos, ocorrendo a fecundação no interior do corpo da mulher.

Este tipo de procedimento adequa-se a casos em que os gâmetas masculinos têm dificuldade em chegar ao ovócito, seja por reduzida mobilidade, por haver uma produção insuficiente, ou ainda por haver incompatibilidade com o muco cervical.

5.2.2. Fecundação “in vitro”

Esta é a primeira técnica de procriação medicamente assistida em que a fecundação ocorre em meio laboratorial. Nesta técnica apenas se facilita o encontro entre os gâmetas feminino e masculino, esperando que a fecundação ocorra de forma natural.

É escolhida quando a infertilidade é de causa feminina, devido a uma anomalia tubar, que impede o contacto do espermatozóides, com o ovócito, ou quando o factor de infertilidade é de causa masculina devido a número reduzido de espermatozóides, baixa mobilidade, ou alterações anatómicas no tracto genital masculino, que impedem a passagem dos gâmetas.

A mulher é sujeita a estimulação ovárica, com o objectivo de desenvolver vários folículos, cujo crescimento é controlado por ecografia e através dos níveis de estrogénio séricos. Quando pelo menos três folículos atingirem o diâmetro de 17-18mm é administrada hCG para a maturação final dos folículos, cujos ovócitos serão colhidos por via transvaginal, com recurso a sedação e guiada por ecografia.

Os gâmetas masculinos podem ser colhidos no próprio dia da fecundação “in vitro” ou podem ser colhidos com antecedência e criopreservados. Têm ainda de passar por diversos processos laboratoriais. Os gâmetas são então colocados no mesmo ambiente e após ocorrer a fecundação, os embriões são transferidos para o organismo feminino. A transferência do(s) embrião(ões) é feita com recurso a um catéter que penetra o canal cervical para depositá-lo(s) na cavidade uterina.

O protocolo não termina com a transferência dos produtos de concepção, uma vez que é necessário dar à mulher um suporte hormonal semelhante ao da fase lútea do ciclo fisiológico com LH exógena que estimula a produção de progesterona, hormona fundamental para manter os estádios iniciais da gravidez. Adicionalmente é também administrada progesterona por via vaginal ou oral nas 12 semanas seguintes à transferência.

5.2.3. Injeção intracitoplasmática de Espermatozóide

Nesta técnica, o protocolo a seguir para a obtenção dos gametas é sobreponível ao protocolo para a fecundação “in vitro”. Apenas no que toca à fecundação em si, esta é assistida por meios humanos, pois como o seu nome indica requer que, um único espermatozóide seja inserido no citoplasma de um ovócito. Uma vez concluída a fecundação o processo de transferência e terapêutica a instituir é comum com a fecundação “in vitro”.

A ICSI é utilizada principalmente quando a infertilidade é masculina e foi inicialmente desenvolvida para as situações em que o espermatozóide não consegue fecundar o ovócito, seja por ter uma forma anormal, ou por não conseguir atravessar as diversas camadas que envolvem o ovócito. É também aplicada a outras situações como a oligozoospermia, presença de anticorpos anti-espermatozóide, situações de ejaculação retrógrada, alterações anatómicas do tracto genital masculino ou pós vasectomia, neste caso tem de se realizar uma biopsia testicular, para a obtenção dos espermatozóide.

A ICSI é a técnica a ser utilizada quando tentativas anteriores com FIV convencional falharam, quando se pretende utilizar esperma criopreservado, ou quando a reserva ovárica da mulher se encontra diminuída obtendo-se 4 ou menos ovócitos após a estimulação hormonal.

5.2.4. Doação de gametas ou embriões

A doação de gametas reserva-se para quando o casal que pretende engravidar não produz gametas femininos e/ou masculinos em quantidade e/ou qualidade suficiente

para que a técnica de PMA tenha sucesso ou por haver risco de transmissão de determinada doença genética.

A doação de gâmetas e embriões é anónima e altruísta, uma vez que não há lugar a qualquer compensação monetária em troca dos gâmetas ou embriões.

Na doação de gâmetas pode utilizar-se apenas o gâmeta feminino ou masculino doado, sendo o outro gâmeta do próprio casal, ou utilizar-se os dois gâmetas de doadores. Nestes casos as técnicas de PMA que se utilizam são a FIV e a ICSI.

A doação de embriões recorre a embriões excedentários e criopreservados de outro casal que demonstre a sua vontade de os doar, abdicando assim de todos os direitos que tinha sobre eles.

Pode recorrer-se à doação de gâmetas/embriões quando se verifica uma infertilidade feminina devido a menopausa natural ou falência precoce dos ovários, digenesia das gonadas, falência sucessiva das técnicas de FIV/ICSI com os próprios ovócitos, reserva ovárica muito diminuída ou a presença de doenças hereditária ligada ao cromossoma X. Em relação à infertilidade masculina, são as situações de Azoospermia, a má qualidade do esperma e a presença de doenças hereditárias que justificam o recurso a gâmetas/embriões doados.

6. Complicações das técnicas de PMA:

Relativamente às complicações decorrentes das técnicas de PMA, estas podem relacionar-se com a utilização dos fármacos (principalmente na indução da ovulação) ou com os procedimentos invasivos para colheita de ovócitos.

6.1. Complicações do tratamento farmacológico

6.1.1. Síndrome de Hiperestimulação Ovária (SHO)

Como factores de risco para o desenvolvimento deste síndrome consideram-se mulheres com idades inferiores a 35 anos, elevadas concentrações de gonadotrofinas e estrogénios no decurso do tratamento de infertilidade e mulheres com Síndrome do Ovário Poliquístico [7].

A SHO resulta de uma não regressão dos folículos ovários durante a fase lútea do ciclo ovário. Nas técnicas de PMA, quando é administrada a hCG para induzir a ovulação, esta hormona também pode ter o efeito de perpetuar o crescimento dos folículos ovários e alterar a permeabilidade dos vasos capilares ovários. Este efeito agrava-se quando uma gravidez tem lugar e a placenta começa a produzir hCG endógena [1].

Este síndrome pode ser classificado em leve, moderado ou grave de acordo com a sua apresentação clínica.

Esta situação, embora potencialmente grave, tem um bom prognóstico quando o tratamento é instituído numa situação moderada. Devido a esse facto as mulheres sujeitas a este tipo de tratamentos devem ser alertadas para a possibilidade de

ocorrência deste síndrome, assim como quanto à importância de procurar ajuda médica logo que surjam os sintomas iniciais.

Como medidas preventivas desta situação encontramos:

➤ Utilização de doses mínimas eficazes das hormonas que constituem os protocolos;

Ao utilizar as doses mínimas eficazes para cada mulher, estamos a reduzir a possibilidade de estimular em demasia os ovários.

➤ Uso de leuprolida em substituição da hCG para a maturação final dos folículos;

Relativamente à leuprolida, este fármaco é um Análogo da LHRH, que após as primeiras doses, produz um pico de gonadotrofinas antes de estabelecer o bloqueio do eixo hormonal a nível da pituitária. Este efeito inicial pode ser utilizado como forma de mimetizar o pico de LH que ocorre antes da ovulação e estimula a maturação dos oócitos. Assim obtemos o mesmo efeito que obteríamos com a administração da hCG, sem os seus potenciais efeitos a nível da vasculatura capilar [8,9].

➤ Uso de Cabergolina para prevenção da acumulação de fluidos no espaço extra-vascular.

A cabergolina, um análogo da dopamina, tem como outras funções a inibição da fosforilação do receptor do VEGF (VEGFR-2). O VEGF é produzido maioritariamente nos ovários em relação com os níveis séricos de estrogénios e número de folículos em desenvolvimento. Sendo esta molécula um dos principais responsáveis pelo aumento da permeabilidade capilar, facilmente compreendemos a relação entre o OHSS e a fuga de fluidos para o espaço extra-vascular. A administração de cabergolina, ao inibir os

receptores do VEGF vai diminuir a sua actividade a nível da permeabilidade dos capilares, prevenindo a fuga de fluidos [10].

Nas técnicas mais invasivas que requerem a colheita de ovócitos e transferência de gâmetas ou embriões, podem surgir complicações relacionadas com estes procedimentos.

6.2. Complicações dos procedimentos invasivos

6.2.1. Rotura de um vaso - Hemoperitoneu;

Aquando da colheita de ovócitos por punção transvaginal, um processo guiado por ecografia, pode levar à punção de estruturas anexas como vasos sanguíneos cujo sangramento pode originar um hemoperitoneu. Estima-se que 0.03-0.5% das recolhas de ovócitos originem uma hemorragia major [11].

A utilização de ecodoppler transvaginal a cores pode auxiliar no processo de recolha de ovócitos, permitindo visualizar os vasos através da identificação dos seus fluxos e assim orientar a passagem da agulha. Quanto a estruturas próximas como os ureteres e a bexiga o ecodoppler a cores não permite distingui-los e, nesse caso, seria a qualidade da imagem ecográfica que teria de ser melhorada [12]. O cruzamento de imagens ecográficas horizontais e transversais permite também uma melhor identificação das estruturas e assim ajudar a limitar as punções iatrogénicas. Limitando o número de picadas a efectuar no processo de colheita, este risco também seria reduzido, não havendo porém um consenso acerca do número de punções com melhor razão benefício/risco [12].

6.2.2. Infecção

As situações de Infecção são muito raras (0.02% dos casos [11]) devido às condições de assepsia hoje existentes e sob as quais todo este processo ocorre.

Quando ocorrem, as infecções devem-se a inoculação de flora bacteriana vaginal ou microorganismos fúngicos na cavidade peritoneal durante a punção para colheita dos ovócitos. A bactéria mais frequentemente identificada nestes casos é a E. coli [11]. Sendo também de considerar os Enterococcus, os Bacterióides, os Streptococcus e as bactérias anaeróbias. Na área dos fungos, o género Cândia é o que mais vezes se encontra [11], embora as infecções fúngicas sejam muito mais raras que as bacterianas, já em si extremamente raras.

Quando ocorre uma infecção esta pode complicar-se, dando origem à formação de um Abscesso ou à presença de múltiplos focos infecciosos se a mulher sofrer de endometriose, uma vez que o tecido endometrial com localização ectópica é um excelente meio de cultura para este microorganismos. [11].

Como meio de controlar a ocorrência de infecções utiliza-se profilacticamente terapêutica antibiótica. A utilização de desinfectantes vaginais ou antibióticos sistémicos é um tema ainda muito controverso, em que se espera haver desenvolvimentos num futuro próximo, tanto no tipo de profilaxia a utilizar como no protocolo a seguir [11].

7. Complicações da Gravidez:

Uma vez atingido o objectivo de engravidar, a mulher deve continuar a ser vigiada, pois existem intercorrências da gravidez que não sendo específicas da gravidez com recurso a técnicas de PMA, parecem surgir com mais frequência nestas.

7.1. Aborto espontâneo / nados mortos;

Como em qualquer gravidez, o risco de aborto espontâneo é maior nas primeiras 12 semanas de gestação, mas como já vários estudos demonstraram, não há um risco aumentado de aborto espontâneo relacionado com as técnicas de PMA [13].

Já no que se refere a nados mortos, um estudo encontrou um risco de nado morto 2 - 4 vezes superior nas gravidezes por FIV e ICSI [14,15,16]. O risco parece estar apenas associado a estas técnicas específicas pois a comparação entre as gravidezes por outras técnicas de PMA e as gravidezes concebidas de modo natural em casais com tempo para engravidar superior a 1 ano não produziu resultados estatisticamente significativos, apoiando a hipótese de que este risco aumentado se relaciona com as técnicas FIV / ICSI em si e não com a infertilidade [14].

7.2. Gravidez extra uterina;

A implantação de embriões fora da cavidade uterina ocorre com uma maior frequência nas gravidezes por técnicas de reprodução medicamente assistida, em comparação com as gravidezes da população em geral e, dentro deste grupo, o risco varia de acordo com a técnica [17].

Os motivos por detrás deste aumento são variados. A mais frequente será a patologia tubar, que também pode estar na origem da infertilidade e que impede o embrião de se implantar no local correcto devido a disfunções da musculatura tubar.

Numa tentativa de se minimizar o efeito das altas doses de hormonas que se verificam no processo de estimulação ovárica, tem-se recorrido a um protocolo de FIV / ICSI em que a transferência de embriões não é feita logo após o ciclo de estimulação ovárica. Os embriões são criopreservados, enquanto a mulher completa um ciclo com doses baixas de hormonas para obter um ambiente uterino óptimo à recepção do embrião [18].

Este tipo de conduta tem vantagens também para as mulheres com risco aumentado de síndrome de hiperestimulação do ovário [18], pois sendo a gravidez deferida da estimulação ovárica, permite que os níveis de hCG e LH utilizados nos ciclos sejam menores.

7.3. Gravidez Múltipla;

Como é fácil de entender, a percentagem de gravidezes gemelares é superior nas gravidezes por técnicas de PMA [1,6,15] devido ao número de embriões que é transferido. Enquanto numa gravidez por meios naturais a regra é haver libertação de apenas um ovócito que quando fecundado originará um embrião, nas técnicas de PMA são transferidos para o organismo materno um número de embriões igual ou superior a dois em casos excepcionais, de acordo com a idade materna, o número de tratamentos anteriores e as orientações do centro de reprodução medicamente assistida.

Os vários estudos sobre este tema encontram taxas de gravidez gemelar 14 – 25 vezes superior nas gravidezes por técnicas de PMA e uma taxa 54 vezes superior de gravidez com três fetos [2,19], sendo que cerca de 30-50% de todas as gravidezes múltiplas são o resultado de uma técnica de PMA [6].

Nestes casos a maioria das gravidezes é diamniótica e dicoriónica, pois resulta da implantação de dois embriões totalmente diferentes.

Este tipo de gravidez já é por si uma gravidez com uma vigilância diferente em que muitos dos pontos aqui referidos como complicações da gravidez ocorrem com maior frequência, como por exemplo o parto pré-termo, pois os gémeos concebidos por PMA têm um risco de 60% de um nascimento prematuro[2].

Como tentativa de reduzir estas diferenças tão grandes entre a gemelaridade numa gravidez convencional e uma gravidez após técnicas de reprodução medicamente assistida, têm-se promovido a transferência de um único embrião, procedimento conhecido como SET (*single embryo transfer*), em oposição à transferência de vários embriões [6,20,21].

Claro que a escolha do número de embriões a transferir continua dependente de algumas características maternas, como a idade e a reserva ovárica da mulher.

Em qualquer gravidez múltipla pode ocorrer a morte “in útero” de um dos fetos e sobrevivência do outro. Quando acontece este desaparecimento de um gémeo durante a gravidez (gravidez com “gémeo fantasma”), os riscos associados à gravidez múltipla não desaparecem. Cerca de 10% dos nascimentos simples que decorrem de uma técnica de reprodução medicamente assistida são o resultado de uma gravidez múltipla com “gémeo fantasma” [22] e quanto mais tarde na gravidez este desaparecimento acontece (após as 8 semanas de gestação) maior o risco de complicações para o feto

sobrevivente, como por exemplo o parto pré-termo [23], quando comparado com gravidezes simples desde o início.

7.4. Parto pré termo;

Define-se como o parto que ocorre entre as 24 e as 37 semanas de gestação, uma altura em que o feto já terá algumas competências para sobreviver fora do ambiente uterino, mas em que ainda não atingiu maturidade suficiente para o fazer de forma autónoma.

Este tipo de ocorrências verifica-se com maior frequência nas gravidezes após técnicas de procriação medicamente assistida [1,2,3,6,15,16] e, dentro deste grupo, se a gravidez for gemelar o risco sofre novo aumento.

Técnicas como a FIV e a ICSI apresentam maior risco de parto pré-termo [13], sendo que entre estas duas técnicas, um estudo atribui maior risco à FIV [13] e outro à ICSI [24].

Vários estudos têm sido realizados, comparando as diferentes técnicas e factores externos à técnica, que possam justificar esta maior incidência de parto pré-termo.

Vários estudos encontraram um risco de parto pré termo mais baixo quando se efectua a transferência de embriões criopreservados, em comparação com os “frescos” [21,23,24] e um risco maior para a transferência no estadio de blastocisto [21,22,23].

No entanto, não há ainda uma justificação para estes resultados.

Ainda assim, os factores com mais impacto na incidência desta “complicação” continuam a ser as características maternas como a idade e o peso materno antes de engravidar.

Uma meta-análise concluiu que o procedimento PMA em si tem alguma influência na incidência de parto pré-termo [24], reforçado por outros que encontram uma relação directa entre a FIV e a ocorrência de parto pré-termo [2].

7.5. Baixo peso ao nascer;

São classificados com baixo peso ao nascer todos os fetos com menos de 2500g na altura do parto, independentemente da idade gestacional. Esta classificação pode ainda ser desdobrada em muito baixo peso e extremo baixo peso com os limites superiores de 1500g e 1000g respectivamente.

Nesta análise apenas consideraremos o grupo de baixo peso (<2500g) uma vez que estaremos a englobar todos os outros subgrupos.

Também neste campo se tentou encontrar uma relação entre estas ocorrências e as gravidezes concebidas por PMA, uma vez que se registam incidências de baixo peso ao nascer 2 a 3 vezes superiores nos fetos concebidos por PMA [1,2,3,13,15,25].

Segundo vários autores, o risco de um bebé ter baixo peso ao nascer é maior numa gravidez após indução da ovulação, quando comparado com a população em geral [24], atribuindo à estimulação ovárica controlada um efeito negativo independente.

Pensa-se que as elevadas concentrações hormonais produzidas pela estimulação ovárica terão repercussões no processo de placentação, quer por influenciarem as capacidades adesiva e invasiva do trofoblasto quer por alterarem factores imunológicos maternos que modulam a invasão trofoblástica [26].

Comparando a FIV com a ICSI, este último tem um menor impacto no peso do feto ao nascer [13,24].

Quando na equação são introduzidos os casos de doação de ovócitos e maternidade de substituição, os primeiros apresentam resultados desfavoráveis, enquanto os segundos apresentam resultados bastante positivos, realçando que o ambiente uterino tem maior influência no peso do feto do que a qualidade dos ovócitos [2,24].

Vários estudos [2,20,24] encontraram uma influência positiva da transferência de embriões criopreservados e da transferência de embriões na fase de blastocisto sobre a taxa de fetos de baixo peso, embora o impacto deste último seja muito subtil.

Não devemos no entanto esquecer que a história de infertilidade e o tempo para engravidar continuam a ser factores de risco muito importantes [1,23,25].

8. Complicações para o Feto

Depois da gravidez e do parto, as preocupações não acabam, pois sendo uma área da medicina muito recente, em que o ser humano mais velho concebido com recurso a técnicas de PMA tem apenas 36 anos de idade, há ainda muito a descobrir sobre a saúde ou patologias destes indivíduos e a sua relação com o modo da sua concepção.

As grandes preocupações são as malformações congénitas e anomalias cromossómicas numa fase inicial da vida destas crianças e a sua maior predisposição para patologias crónicas numa fase mais avançada das suas vidas.

É importante termos sempre em mente que estas crianças são descendentes de casais que por uma qualquer razão, muitas vezes desconhecida, não conseguiram engravidar espontaneamente. Assim, o problema que impediu a ocorrência de uma gravidez natural, pode ser o mesmo que origina estas alterações na criança.

8.2. Anomalias Cromossómicas;

As anomalias cromossómicas podem ser numéricas ou estruturais. No primeiro caso dividem-se em anomalias do tipo Euploidia ou Aneuploidia, consoante o material genético em falta ou em excesso se refere a cromossomas individuais ou a todo o conjunto do genoma. Quanto às anomalias cromossómicas estruturais, referem-se a partes dos cromossomas que podem ter sido duplicadas, eliminadas, invertidas ou translocadas para outro cromossoma.

Para efeitos desta análise vão ser considerados todos os tipos de anomalias cromossómicas sem diferenciação dos diversos subtipos.

Quando uma anomalia deste tipo se encontra num, ou em ambos os elementos do casal com infertilidade, esta anomalia pode por si só ser a origem da infertilidade.

Contornando este problema com recurso a técnicas de PMA, esta alteração pode ser passada à geração seguinte, verificando-se assim um aumento da frequência destas situações na população de crianças concebidas com recurso a PMA, especialmente no caso das técnicas que requerem uma manipulação laboratorial dos gâmetas e que podem funcionar como um bypass à selecção natural dos mesmos [2].

Estima-se que estas ocorrências têm uma probabilidade de se verificar na população concebida por técnicas de PMA 2 a 3 vezes superior à probabilidade de ocorrências na

população em geral [15,27,28], principalmente quando as técnicas em uso são a FIVE e ICSI [15].

8.3. Malformações Congénitas;

A classificação de malformações congénitas pode ser feita de acordo com a 10ª Classificação Internacional de Doenças (ICD-10), que define 9 malformações major, ou de acordo com o órgão/ sistema afectado, englobando assim malformações major e minor.

As técnicas de PMA associam-se a uma incidência 1.28 a 3 vezes superior de malformações congénitas [2,3,6,15,16,27,29], chegando a afectar 33% das crianças concebidas por PMA, ou 7% se contabilizarmos apenas as malformações major [30].

Analisando os sistemas de órgãos individualmente, verificamos que em alguns destes sistemas, estas malformações são mais frequentes. Apesar de tudo a frequência destas varia de acordo com a população que está a ser estudada.

Tabela 1 – Diferenças na incidência de malformações congénitas consuante o tamanho da amostra e a população em estudo.

| | Ramin Mozafari, 2012 | Michael J Davis, 2012 |
|--|--------------------------------------|---|
| Tamanho da Amostra/ População em Estudo | 400 crianças / População Iraniana | 308.974 Crianças / População Australiana |
| Malformações Cutâneas | 10% | - |
| Malformações Urogenitais | 6.2% | 2.5% |
| Malformações Gastrointestinais | 5.2% | 0.9% |
| Malformações Visuais | 3.25% | - |
| Malformações Cardiovasculares | 2% | 1.8% |

| | | | |
|------------------------------|----------|---|------|
| Malformações esqueléticas | Musculo- | - | 2.5% |
|------------------------------|----------|---|------|

Podemos então questionar se o tipo de malformações congénitas não estará mais relacionado com as características dos progenitores e com a população em que se inserem, do que com as técnicas de PMA.

Sendo as malformações cardiovasculares um dos tipos de malformações congénitas mais importantes, foi estudada a sua possível relação com as técnicas de PMA numa amostra significativa de 9340 indivíduos, concluindo-se que existe um maior número de malformações cardiovasculares no subgrupo de crianças concebidas com recurso a técnicas de PMA, em particular a FIV e a ICSI. Este estudo sugere ainda a possibilidade de existir uma relação específica entre diferentes técnicas de PMA e as subcategorias malformações cardiovasculares [31].

Dentro das diferentes técnicas de PMA, não há diferenças significativas entre a FIV e a ICSI [28]. Já relativamente à Inseminação Intra-uterina parece haver um incremento do risco para as malformações cardiovasculares superior ao verificado para as técnicas com manipulação laboratorial de gâmetas [28].

Foi também encontrada uma associação específica entre as técnicas de PMA e malformações decorrentes do período da blastogénese e que corresponde às primeiras 4 semanas de gestação. Nesta categoria incluem-se os defeitos do tubo neural e da parede abdominal, atresia do esófago e atresia anal, que outros estudos já provaram estar aumentados na população de crianças concebidas por técnicas de PMA [29].

Outros casos, como o das anencefalopatias, a sua incidência parece estar aumentada na população de crianças concebidas com recurso a PMA, mas este aumento está

associado ao aumento do número de gravidezes múltiplas, esse sim, o grande factor de risco para estas malformações [32].

Também nestes casos, a Infertilidade que motiva o procedimento de PMA tem uma influência importante na incidência de malformações congénitas [6].

8.4. Patologia Metabólica;

Patologias como a Hipertensão Arterial, Obesidade, Diabetes Mellitus, patologias da Tiróide, entre outras, têm um grande impacto no modo de vida dos doentes, requerendo adopção de estilos de vida por vezes restritivos, com regulares monitorizações e administração de fármacos de forma crónica. São patologias cuja prevalência na população global têm vindo a aumentar e que representam verdadeiros desafios para as gerações mais jovens. Gerações essas constituídas por um número considerável de indivíduos concebidos com recurso a técnicas de PMA e, acerca dos quais, ainda pouco se sabe sobre a sua saúde a longo prazo. Por este motivo, questiona-se se não contribuíram as técnicas de PMA para um aumento da incidência destas patologias neste subgrupo da população.

No que toca à distribuição da adiposidade nestas crianças, um pequeno estudo belga concluiu que os indivíduos do sexo feminino concebidas com recurso a ICSI apresentavam um aumento geral da adiposidade, reflectido num IMC mais elevado relativamente aos indivíduos do mesmo sexo concebidos espontaneamente, enquanto os indivíduos do sexo masculino apenas apresentavam um aumento da adiposidade periférica nos estádios pubertários mais avançados [16,33].

Este poderá ser o ponto de partida para que outras patologias do foro metabólico se verifiquem mais nestes subgrupos, pois como é bem conhecido, tanto a Hipertensão Arterial como a Diabetes Mellitus têm uma estreita relação com a Obesidade.

Outros estudos já foram também realizados para avaliar as diferenças entre a pressão arterial de crianças concebidas por técnicas de PMA e crianças concebidas espontaneamente, concluindo que nas crianças concebidas por PMA os valores de Pressão Arterial são em média ligeiramente mais elevados [16]. No entanto são necessários mais estudos para saber se estas diferenças se continuam a verificar na Idade Adulta e se assumem valores considerados patológicos.

Relativamente às patologias da tiróide, os dados disponíveis são ainda insuficientes para se poderem extrapolar conclusões, mas há indícios de que certas técnicas de PMA, principalmente a fecundação “in vitro”, conferem uma susceptibilidade para este tipo de patologia [16].

8.5. Patologia Cardiovascular

Como já foi referido, a preocupação com as patologias cardiovasculares é grande, especialmente no subgrupo da população concebido com recurso a técnicas de PMA, motivo pelo qual se tenta estabelecer uma relação entre estas e as referidas técnicas.

Um pequeno estudo suíço detectou anomalias funcionais na circulação sistémica e pulmonar, com disfunção endotelial e aumento da espessura da íntima da artéria carótida, em crianças concebidas por técnicas de PMA [5] e tentou esclarecer os motivos subjacentes a esta condição. Estas alterações foram observadas em crianças aparentemente saudáveis sem alterações da ficha lipídica ou do metabolismo dos

glicídios. Não encontraram relação com características dos progenitores nem com os altos níveis de hormonas a que a mãe foi sujeita durante os protocolos de PMA, restando então a hipótese de haver uma relação directa com as técnicas de PMA em si [5].

Um outro estudo obteve os mesmos resultados em relação à disfunção vascular e associa-lhes também alterações a nível cardíaco [4]. Este estudo demonstra ainda que estas remodelações ocorrem precocemente na vida fetal.

Especificamente a nível cardíaco demonstraram a existência de corações maiores, com espessamento do miocárdio e aurículas dilatadas. Estas alterações detectadas “in útero” mantêm-se após o nascimento e afectam mais a metade direita do coração. Manifestam-se por pressão arterial elevada [4].

8.6. Patologia Respiratória

Do foro respiratório, a Asma é a patologia mais prevalente em idade pediátrica e por esse motivo, a que mais questões coloca quanto à sua relação com as técnicas de PMA.

Sabe-se que existem determinadas situações como a prematuridade e baixo peso ao nascer que, por si só, constituem factores de risco para o desenvolvimento de Asma [16], situações essas que ocorrem com maior frequência numa gravidez após PMA e que podem inflacionar o número de crianças asmáticas, quando comparado com a população em geral.

Um estudo a nível nacional no Reino Unido tentou responder a essa questão com um follow-up de um grande número de crianças aos 5 e 7 anos de idade. Encontraram um risco 2.5 vezes superior de Asma em crianças concebidas por PMA, com base no

recurso a cuidados de saúde e à toma frequente de medicação anti-asmática. Uma possível explicação para este fenómeno é o excesso de procura de cuidados de saúde por parte dos pais que se sujeitaram a técnicas de PMA para terem os seus filhos e que esse excesso de procura levaria a um excesso de diagnósticos que de outra forma não seria feito [34].

Um outro factor a ter em conta é o efeito anovulatório da medicação anti-asmática. Sendo assim, a percentagem de mães asmáticas seria maior no grupo de crianças concebidas por PMA e, tendo em conta o componente genético desta patologia, o número de crianças asmáticas também seria maior neste grupo, mas ajustando a análise estatística para este factor, a incidência de Asma neste subgrupo de crianças permanece superior [34].

No entanto existem variados estudos onde esta relação não foi encontrada [16]. É mais uma área onde os estudos existentes são insuficientes para se tirarem as devidas conclusões.

8.7. Neurodesenvolvimento

O neurodesenvolvimento e as capacidades cognitivas das crianças concebidas por técnicas de PMA são um tema que inquieta os casais que se submetem a estes procedimentos e que carece de devidos esclarecimentos.

Nesta área, os diferentes estudos existentes são concordantes em concluir que as crianças concebidas por PMA apresentam resultados equiparáveis às crianças concebidas espontaneamente quando aplicados os diversos testes de avaliação do desenvolvimento psicomotor e comportamental [35,36,37].

Especificamente para as patologias do espectro do autismo também não foi encontrada nenhuma associação com as técnicas de PMA em geral. Existe sim uma relação com situações de parto pré-termo, que por si, se verificam com maior incidência após uma técnica de PMA [38].

Estudos mais detalhados com individualização das técnicas são necessários para se obterem resultados mais robustos [38].

9. Conclusão

Apesar desta área ser relativamente recente na História da Medicina, já alguma associações conseguiram ser estabelecidas entre as técnicas de PMA e algumas complicações que se manifestam durante a gravidez que se segue ou na criança por elas concebida.

As situações decorrentes do procedimento técnico em si, são muito raras, e muitas delas conseguem ser evitadas recorrendo aos avanços tecnológicos e científicos que constantemente se verificam.

Quanto às intercorrências que ocorrem com maior frequência numa gravidez após uma técnica de PMA e as que afectam o feto, os mecanismos pelas quais se verificam não estão completamente esclarecidos pelo que são necessários mais estudos e investigações, tanto para os esclarecer como para fortalecer estas associações.

Um outro ponto importante e que não pode ser desprezado, é o papel que a infertilidade do casal tem na ocorrência de todas estas complicações, pois muitos

autores continuam a referir que as características maternas e a infertilidade em si, têm uma grande influência na incidência destas intercorrências.

Finalmente, para certas complicações como o risco de gravidez múltipla, de prematuridade ou de malformações congénitas, cuja associação com as técnicas de PMA já foi verificada em diversos estudos, deve haver uma reflexão entre o casal que pretende submeter-se a técnicas de PMA e o médico que os acompanhará nesse processo, de modo a que todos estejam esclarecidos quanto aos riscos que estas técnicas poderão acarretar.

Do ponto de vista científico, mais estudos e pesquisa são necessários para apurar, os mecanismos que estão na origem destas complicações, para que num futuro próximo, a ocorrência dessas mesmas complicações seja reduzida, pelo menos para valores semelhantes aos verificados numa gravidez natural.

O surgimento das técnicas de PMA é marco histórico não só para a comunidade Científica, mas também para toda a população, pois com recurso a estas mais de 5 milhões de crianças já nasceram, tornando realidade os sonhos de muitos casais, que sem recorrerem às técnicas de PMA não teriam descendência.

Nota: Este Trabalho não foi elaborado de acordo com o novo acordo ortográfico.

10. Agradecimentos

Agradeço à Professora Doutora Maria Isabel Ribeiro Reis Torgal Dias Costa pela simpatia, disponibilidade, partilha de conhecimentos, assim como infindável apoio em todas as fases de elaboração deste trabalho.

Agradeço à minha família, especialmente aos meus pais Afonso e Beatriz, pelo apoio incondicional e compreensão em todas as fases do meu percurso académico.

Um especial obrigado ao Gildo, por estar presente em todos os momentos e me dedicar tanto amor e carinho.

11. Referências

- [1] – Grafodatskaya, D., Cytrynbaum, C. & Weksberg, R.. The health risks os ART. EMBO reports, 2013, 14 (2), 129 – 134.
- [2] – Kalra, S.K. & Barnhart, K.T.. In Vitro Fertilization and Adverse Childhood Outcomes: What We Know, Where We Are Going, and How Will We Get There? A Glimpse into What Lies Behind and Beckons Ahead. Fertil Steril, 2011, 95 (6), 1887 – 1889.
- [3] – Williams, C., Sutcliffe, A. & Sebire, N.J.. Congenital malformations after assisted reproduction: risks and implications for prenatal diagnosis and fetal medicine. Ultrasound Obstet Gynecol, 2010, 35, 255 – 259.
- [4] – Valenzuela-Alcaraz, B. et al. Assisted Reproductive Technologies Are Associated With Cardiovascular Remodeling In Utero That Persists Postnatally. Circulation, 2013, 128, 1442 – 1450.
- [5] – Scherrer, U. et al. Systemic and Pulmonary Vascular Dysfunction in Children Conceived by Assisted Reproductive Technologies. Circulation, 2012, 125, 1890 - 1896.
- [6] – Savage, T., Peek, J., Hofman, P.L. & Cutfield, W.S.. Childhood outcomes of assisted reproductive technology. Human Reproduction, 2011, 26 (9), 2392 – 2400.
- [7] – MedlinePlus Trusted Health Information for You. Ovarian hyperstimulation syndrome. *MedlinePlus Trusted Health Information for You Web site* [updated 16,

Março, 2015]. Acedido em 18, Fevereiro, 2015, em <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/007294.htm>

[8] – Engman, L., DiLuigi, A., Schmidt, D., Nulsen, J., Maier, D. & Benadiva, C.. The use of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce oocyte maturation after cotreatment with GnRH antagonist in high-risk patients undergoing in vitro fertilization prevents the risk of ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective randomized controlled study. *Fertility and Sterility*, 2008, 28, 84 – 91.

[9] – Castillo, J.C., Dolz, M., Bienvenido, E., Abad, E., Casañ & Bonilla-Musoles, F.. Cycles triggered with GnRH agonist: exploring low-dose HCG for luteal support. *Reproductive BioMedicine Online*, 2010, 20, 175 – 181.

[10] – Hosseini, M.A., Aleyasin, A., Mahdavi, A., Nezami, R., Safdarian, L. & Fallahi, P.. The Effectiveness of Cabergoline for the prevention of Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *Iran J Med Sci*, 2011, 36, 207 – 212.

[11] – Sarhan, A. & Muasher, S.J.. Surgical complications of in vitro fertilization. *Middle East Fertility Society Journal*, 2007, 12 (1).

[12] – Rísquez, F. & Confino, E.. Can Doppler ultrasound-guided oocyte retrieval improve IVF safety?. *Reproductive BioMedicine Online*, 2010, 21, 444 – 445.

[13] – Farhi, A., Reichman, B., Boyko, V., Hourvitz, A., Ron-El, R. & Lerner-Geva, L.. Maternal and neonatal health outcomes following assisted reproduction. *Reproductive BioMedicine Online*, 2013, 26, 454 – 461.

[14] – Wisborg, K., Ingerslev, H.J. & Henriksen, T.B.. IVF and stillbirth: a prospective follow-up study. *Human Reproduction*, 2010, 25, 1312 – 1316.

- [15] – Neuman, G & Koren, G.. Reproductive outcomes after assisted conception. *Canadian Family Physician*, 2013, 59, 33 – 36.
- [16] – Hart, R. & Norman, R.J.. The longer-term health outcomes for children born as a result of IVF treatment: Part I – General health outcomes. *Human reproduction Update*, 2013, 19 (3), 232 – 243.
- [17] – Wrigth V.C.. Ectopic pregnancy risk with assisted reproductive technology procedures. *Obstet Gynecol*, 2006, 107, 595 – 604.
- [18] – Decler, W., Osmanagaoglu, K., Meganck, G. & Devroey, P.. Slightly lower incidence of ectopic pregnancies in frozen embryo transfer cycles versus fresh in vitro fertilization-embryo transfer cycles: a retrospective cohort study. *Fertility and Sterility*, 2014, 101 (1), 162 – 165.
- [19] – Al-Fifi, S., et al. Congenital anomalies and other perinatal outcomes in ICSI vs. naturally conceived pregnancies: a comparative study. *J Assist Reprod Genet*, 2009, 26, 377 – 381.
- [20] – Ishihara, O., Araki, R., Kuwahara, A., Itakura, A., Saito, H. & Adamson, G.A.. Impacto of frozen-thawed single-blastocist transfer on maternal and neonatal outcome: na analysis of 277,042 single-embryo transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan. *Fertility and Sterility*, 2014, 101 (1), 128 – 133.
- [21] – Dar, S., Librach, C.L., Gunby, J., Bissonnette, F. & Cowan, L. on behalf of the IVF Directors Group of the Canadian Fertility and Andrology Society. Increased risk of preterm birth in sigletons pregnancies after blastocyst versus Day 3 embryo transfer: Canadian ART Register (CARTR) analysis. *Human Reproduction*, 2013, 28 (4), 924 – 928.

- [22] – Pinborg, A., Lidegaard, Ø., Freiesleben, N.C. & Andersen, A.N.. Consequences of vanishing twins in IVF/ICSI pregnancies. *Human reproduction*, 2005, 20 (10), 2821 – 2829.
- [23] – Sazonova, A., Källen, K., Thurin-Kjellberg, A., Wennerholm, U. & Bergh, C.. Factors affecting obstetric outcome of singletons born after IVF. *Human Reproduction*, 2011, 26 (10), 2878 – 2886.
- [24] – Pinborg, A., et al. Why do singletons conceived after assisted reproduction technology have adverse perinatal outcome? Systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 2013, 19 (2), 87 – 104.
- [25] – Cooper, A.R., et al. Smaller fetal size in singletons after infertility therapies: The influence of technology and the underlying infertility. *Fertil Steril*, 2011, 96 (5), 1100 – 1106.
- [26] – Kalra, S.K., Ratcliffe, S.J., Coutifaris, C., Molinaro, T. & Barnhart, K.T.. Ovarian Stimulation and Low Birth Weight in Infants Conceived Through In Vitro Fertilization. *Obstet Gynecol*, 2011, 118 (4), 863 – 871.
- [27] – Davies, M.J., et al. Reproductive Technologies and the Risk of Birth Defects. *The New England Journal of Medicine*, 2012, 366 (19), 1803 – 1813.
- [28] – Sagot, P., et al. Similarly increased congenital anomaly rates after intrauterine insemination and IVF technologies: a retrospective cohort study. *Human Reproduction*, 2012, 27 (3), 902 – 909.
- [29] – Halliday, J.L., et al. Increased risk of blastogenesis birth defects, arising in the first 4 weeks of pregnancy, after assisted reproductive technologies. *Human Reproduction*, 2010, 25 (1), 59 – 65.

- [30] – Kermani, R.M., et al. Congenital Anomalies in Infants Conceived by Assisted Reproductive Techniques. *Archives of Iranian Medicine*, 2012, 15 (4), 228 – 231.
- [31] – Tararbit, K., et al. Risk of congenital heart defects associated with assisted reproductive technologies: a population-based evaluation. *European Heart Journal*, 2011, 32, 500 – 508.
- [32] – Ben-Ami, I., Edel, Y., Barel, O., Vaknin, Z., Herman, A. & Maymon, R.. Do assisted conception twins have an increased risk of anencephaly?. *Human Reproduction*, 2011, 26 (12), 3466 – 3471.
- [33] – Belva, F., Painter, R., Bonduelle, M., Roelants, M., Devroey, P. & Schepper, J.D.. Are ICSI adolescents at risk for increased adiposity?. *Human Reproduction*, 2012, 27 (1), 257 – 264.
- [34] – Carson, C., Sacker, A., Kelly, Y., Redshaw, M., Kurinczuk, J.J. & Quigley, M.A.. Asthma in children born after infertility treatment: findings from the UK Millenium Cohort Study. *Human Reproduction*, 2013, 28 (2), 471 – 479.
- [35] – Hart, R. & Norman, R.J.. The longer-term health outcomes for children born as a result of IVF treatment: Part II – Mental health and development outcomes. *Human Reproduction Update*, 2013, 19 (3), 244 – 250.
- [36] – Berry, K.A., Baron, I.S., Weiss, B.A., Baker, R., Ahronovich, M.D. & Litman, F.R.. In vitro fertilization and late preterm preschoolers' neuropsychological outcomes: the PETIT study. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 2013, 209, 356e1 – 356e6.
- [37] – Wagenaar, K., van Weissenbruch, M.M., Knol, D.L., Cohen-Kettenis, P.T., Delemarre-van de Waal, H.A. & Huisman, J.. Information processing, attention and

visual-motor function of adolescents born after in vitro fertilization compared with spontaneous conception. *Human Reproduction*, 2009, 24 (4), 913 – 921.

[38] – Lyall, K., Pauls, D.L., Spiegelman, D., Santangelo, S.L. & Ascherio, A.. Fertility Therapies, Infertility and Autism Spectrum Disorders in the Nurses' Health Study II. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 2012, 26 (4), 361 – 372.