J. GUIBERT, C. DAVY, F. OLIVENNES
Unité de Médecine de la Reproduction,
Service de Gynécologie-Obstétrique II,
Hôpital Cochin, PARIS.

Le suivi des enfants nés par assistance médicale à la procréation

Dans les pays développés, 2 à 3 % des naissances surviennent après une insémination ou une fécondation in vitro. Le suivi de ces enfants est indispensable à l'information des couples qui sollicitent une AMP. C'est en France une obligation inscrite dans les lois de Bioéthique.

L'immense majorité de ces enfants est en bonne santé et a un développement normal.

Le risque principal provient des grossesses multiples, associées à des paramètres périnatals moins bons que les grossesses uniques. Les malformations congénitales semblent augmentées après FIV ou ICSI et les anomalies chromosomiques après ICSI, le contexte de l'infertilité étant sans doute autant en cause que les techniques elles-mêmes.

Le devenir à long terme reste mal connu et son évaluation reste à organiser.

Environ 100 000 enfants naissent chaque année dans le monde au terme d'une grossesse obtenue par Assistance Médicale à la Procréation (AMP). En France, ils représentent environ 2 à 3 % des naissances, et sont actuellement âgés de 0 à 23 ans.

L'AMP est définie par la manipulation de gamètes en vue d'une insémination intra-utérine (IIU) de sperme ou d'une fécondation in vitro (FIV), classique ou par micro-injection de spermatozoïdes (ICSI : intra-cytoplasmic sperm injection). Les inductions simples de l'ovulation ne font pas partie de l'AMP, bien qu'elles constituent la majorité des cycles traités. Elles ne font l'objet d'aucune déclaration et ne peuvent donc donner lieu à aucun suivi des enfants qui en sont issus.

L'AMP est dotée, dans la plupart des pays européens, d'un cadre réglementaire strict. Il s'agit en France des lois dites de Bioéthique du 27 juillet 1994, révisées du 6 août 2004. C'est au milieu des années 90, notamment grâce au débat sur l'ICSI, qu'on observe une prise de conscience que l'analyse du devenir des enfants est la condition exclusive de la crédibilité de l'AMP, donc de son développement. Le suivi des enfants est alors inscrit dans la loi de 1994.

Cependant, le projet est ardu, car il s'inscrit dans la durée (au moins jusqu'à l'âge adulte), obstacle principal à sa réalisation satisfaisante. C'est un projet lourd et coûteux, dont les modalités mêmes ne sont guère définies par la réglementation :
– doit-on privilégier un suivi exhaustif prospectif, un suivi d'échantillonnage sur la base du volontariat des parents, un suivi potentiel par la mise en place de registres accessibles pour des études spécifiques ?
– quelle attitude avoir vis-à-vis du secret qui entoure souvent la conception des enfants par AMP ?
– ces choix sont maintenant en France entre les mains de l'Agence de Biomédecine, qui devra donner un cadre concret au devoir de suivi.

Nous faisons ici la revue des principales études existantes sur le suivi des enfants nés après AMP.

DEVENIR PERINATAL DES ENFANTS DE L'AMP

De nombreuses études semblent montrer que les grossesses obtenues chez les patientes infertiles sont plus à risque de complications périnatales, quelle que soit la méthode utilisée [1]. La majeure partie de ces complications semble liée à l'augmentation des grossesses multiples [2] et concerne la prématurité, l'hypotrophie fœtale et la mortalité périnatale. D'autres facteurs de risque, tels que l'âge maternel élevé, l'infertilité elle-même, les antécédents d'avortement, le stress ou l'environnement socio-économique, sont sans doute impliqués [3].

Plusieurs difficultés s'élèvent pour établir l'incidence exacte de ces complications : les pratiques obstétricales sont très variables d'un pays à l'autre, le suivi des grossesses issues de l'AMP hors FIV (inséminations) n'est pas sujet à la même attention que la FIV et le risque de grossesse multiple est très variable d'une équipe à l'autre, selon leur politique en matière de nombre d'embryons replacés et de réduction embryonnaire. Divers facteurs influencent ces politiques, techniques (taux de réussite), juridiques (réduction embryonnaire, recommandations sur le nombre d'embryons à replacer), culturels et économiques (couverture par une assurance-maladie).

1. – Devenir périnatal des singletons

Depuis 1985, de nombreuses études ont montré que les taux de complications périnatales étaient plus élevés après FIV : prématurité (19 % vs 6 % en Australie [4], 12,2 % vs 5,6 % en France), hypotrophie (15 % vs 10 % en France), mortalité périnatale (18,6 ‰ vs 12,3 ‰), mortalité infantile (14,3 ‰ vs 9,7 ‰) [5]. Cependant, la comparaison de grossesses FIV et de grossesses naturelles appariées pour des critères pouvant eux-mêmes influencer le devenir périnatal (âge maternel, parité, origine ethnique, conditions de prise en charge obstétricale) semble faire diminuer cette différence [6]. La comparaison des grossesses FIV aux grossesses obtenues par simple stimulation de l'ovulation permet également d'atténuer le rôle intrinsèque de la FIV sur le devenir périnatal en tenant compte notamment du facteur "infertilité" dans le déroulement des grossesses et les conduites obstétricales [7].

Enfin, quelques études se sont intéressées au devenir périnatal des enfants issus du transfert d'embryons congelés, sans montrer de complication périnatale notable [8]. Certaines montrent même de meilleurs paramètres périnatals avec les embryons congelés qu'avec les embryons frais [9], ce qui fait discuter le rôle joué par l'hyperstimulation ovarienne dans le devenir de la grossesse.

2. – Devenir périnatal des jumeaux

S'il est clairement établi que le risque de complication périnatale est plus élevé chez les jumeaux que chez les singletons, peu d'études comparent le devenir des grossesses gémellaires obtenues après AMP et hors AMP. Le taux de complications périnatales ne semble pas significativement différent, mais certains montrent une diminution du poids de naissance moyen, une diminution de l'âge gestationnel à l'accouchement et une augmentation des maladies pulmonaires [10]. De plus, la contribution des grossesses gémellaires issues d'AMP à la grande prématurité est beaucoup plus importante, car leur nombre est plus élevé, même si l'incidence de la prématurité y est plus faible [11].

3. – Devenir périnatal des triplés et plus

Les études comparant grossesses triples après AMP et naturelles sont rendues difficiles par l'extrême rareté de ces dernières (1/10000 grossesses), mais les grossesses triples restent une complication grave et presque exclusive de l'AMP. Si l'incidence est relativement faible en France (2 %), elle est plus importante aux USA (4 à 13 %), où il semble notamment que l'aspect économique intervienne dans la politique du nombre d'embryons replacés [12]. Le devenir périnatal est très lourd : la mortalité périnatale passe de 18,6 ‰ (singletons issus de FIV) à 81,9 ‰ (triplés issus de FIV), la prématurité de 12,2 % à 83,9 % (avant 32 SA de 2,1 % à 17,9 %), l'hypotrophie de 15 % à 62,4 % [5]. La fréquence très élevée de ces complications est en diminution, mais a conduit à proposer une réduction embryonnaire en cas de grossesse multiple de rang supérieur à 2.

4. – Devenir périnatal après réduction embryonnaire

L'incidence réelle de la pratique des réductions embryonnaires n'est pas connue, car elles ne sont pas systématiquement rapportées. Les complications périnatales et psychosociales d'une grossesse quadruple ou plus justifient sans doute pleinement le recours à la réduction [13]. Du fait des progrès récents dans la prise en charge obstétricale des grossesses multiples et de la réanimation néonatale, cela reste plus controversé pour les grossesses triples réduites à deux. Les études ne montrent pas toutes clairement un bénéfice obstétrical, et les faibles effectifs sur lesquels elles portent ne permettent pas de conclure sur les complications pédiatriques graves de faible incidence (prématurité extrême, mortalité périnatale) [14]. La prématurité semble plus fréquente chez les jumeaux issus de grossesses triples réduites que chez les

▶

jumeaux "initiaux" [15]. Finalement, le bilan risque/bénéfice de la réduction embryonnaire doit toujours être évalué selon le risque de fausse couche, le contexte obstétrical et l'environnement psychologique et socio-économique du couple. La décision doit prendre en considération les difficultés liées à l'accueil de 3 enfants à la fois, parfois soumis à un lourd suivi médical, mais aussi le traumatisme, parfois insurmontable, de la réduction [16].

MALFORMATIONS CONGENITALES ET RISQUES GENETIQUES

L'étude des malformations congénitales liées à l'AMP se heurte à de nombreuses difficultés : fausses couches tardives non documentées, pratiques très différentes des interruptions médicales de grossesse selon les pays, définitions variables des malformations mineures et majeures, influence de la prématurité sur l'incidence de certaines malformations, changement de lieux entre le suivi de l'AMP, le suivi de grossesse, le diagnostic anténatal éventuel, le suivi pédiatrique. De plus, aucune analyse des conséquences congénitales de l'AMP ne peut se passer de données fiables sur l'anamnèse parentale (maladies génétiques, malformations, pathologies liées ou non à l'infertilité, caryotype), qui manquent le plus souvent. Les données de l'expérimentation animale sont contradictoires et peu extrapolables à l'Homme. Elles concernent essentiellement les petits rongeurs et sont globalement rassurantes.

1. – Enfants nés hors FIV (IIU)

En l'absence de données sur les grossesses obtenues après insémination, on peut citer les études rapportant le suivi des enfants issus de l'insémination artificielle de sperme de donneur, qui ne relèvent pas d'augmentation de la fréquence des malformations congénitales [17].

2. – Enfants nés après FIV

Malgré la confusion des données de l'expérimentation animale et malgré les arguments théoriques pour douter de l'innocuité de la culture embryonnaire in vitro, il n'y a guère d'études contrôlées sur les enfants nés de la FIV depuis 1978. Initialement, la majorité des articles portant sur la FIV classique entre 1985 et 1999 a conclu à l'absence d'augmentation significative des malformations [3]. Depuis 2000, une étude a retrouvé un risque trois fois plus élevé de non-fermeture du tube neural, d'atrésie de l'œsophage et d'omphalocèle, après correction des facteurs de confusion [18], et une étude de comparaison avec l'ICSI montre en FIV classique un odds-ratio à 2 (1,5-2,9) pour l'existence d'une malformation majeure à l'âge de 1 an par rapport à la population générale [19]. Une autre étude de comparaison avec l'ICSI et la population générale ne montre pas d'augmentation des malformations en FIV [20].

3. – Enfants nés après ICSI

Les années 1995-2000 sont marquées par la controverse sur les conséquences éventuelles de l'ICSI. Des études prospectives de suivi des enfants [21] sont initiées et font discuter deux types de risques théoriques, ceux liés à la technique de l'ICSI et ceux liés à ses indications. Les risques liés à la technique seraient en rapport avec les dommages ovocytaires, pouvant conduire à des anomalies chromosomiques ou génétiques. Les risques liés à ses indications concerneraient la baisse de pression de sélection sur les spermatozoïdes non fécondants in vivo et potentiellement génétiquement déficients. Les inquiétudes principales portent sur la transmission d'anomalies génétiques viables ayant conduit à l'infertilité masculine paternelle, et pouvant se manifester chez la descendance par une anomalie plus grave : azoospermie et anomalies chromosomiques équilibrées, mucoviscidose à forme génitale pure, etc.

Les études rétrospectives concluent soit à l'absence d'augmentation des malformations majeures, soit à une augmentation modérée (odds-ratio à 1,8 [1,1-2,9]) des malformations majeures à 1 an. Certains auteurs rapportent une augmentation du risque d'hypospadias, probablement en relation avec des facteurs génétiques paternels. En revanche, on retrouve plus d'anomalies chromosomiques mais pas plus de malformations en ICSI chez les enfants dont le père a une oligospermie. Cette augmentation est discutée pour les ICSI avec sperme chirurgical lorsque l'azoospermie est d'origine obstructive ou non obstructive, le problème essentiel étant l'effectif très faible des échantillons étudiés.

Une étude a comparé les enfants nés après ICSI avec les enfants nés par FIV et la population générale, et trouve un risque relatif augmenté à 2,77 (IC 95 % : 1,4-5,4) de malformations après ICSI, essentiellement urogénitales, chez les garçons [20]. Elle n'a, comme auparavant [22], pas retrouvé d'augmentation d'anomalies physiques dans la petite enfance, bien que les enfants semblent avoir plus de maladies infantiles et recourir davantage à des soins médicaux.

Au total, si le risque de malformations ou d'anomalies chromosomiques semble augmenté en ICSI, l'implication de la technique de micro-injection en elle-même paraît de moins en moins en question, au profit du contexte génétique paternel associé à l'indication d'ICSI. Il n'y a actuellement pas d'indication à proposer systématiquement un diagnostic prénatal chromosomique aux femmes enceintes après ICSI.

4. – Risques génétiques

Le développement des techniques de biologie moléculaire et de l'intérêt pour l'empreinte génomique a conduit très récemment à envisager les risques génétiques de la FIV (avec ou sans ICSI) : les gènes sous empreinte sont très impliqués dans le développement embryonnaire et fœtal, qui pourrait lourdement pâtir de la modification de cette empreinte par l'exposition des gamètes et des embryons aux conditions de culture in vitro.

En 2002 et 2003, différents auteurs ont rapporté une incidence plus importante de grossesses obtenues par AMP chez des enfants atteints de syndrome d'Angelman, de Beckwith-Wiedemann [23] et de rétinoblastomes [24], maladies liées à des anomalies de l'empreinte génomique. Une étude portant sur le registre danois des enfants nés après AMP (FIV ou ICSI) ne relève aucune augmentation des maladies d'empreinte par rapport aux enfants conçus naturellement [25]. L'extrême rareté de ces maladies rend l'interprétation de ces données encore très délicate, notamment pour en attribuer la responsabilité aux techniques d'AMP ou au contexte d'infertilité.

5. – Enfants nés après cryopréservation embryonnaire

Une étude rétrospective en 1995 montre que les enfants nés après transfert d'embryons congelés (TEC) ont un taux identique de malformations mineures et majeures que des enfants conçus normalement. L'étude de FIVNAT en 1994 trouve des résultats similaires en comparant les enfants nés après TEC et après transfert d'embryons frais. Ces études concernent essentiellement des embryons issus de FIV classique [26].

II DEVELOPPEMENT PSYCHOMOTEUR ET SANTE DES ENFANTS

L'étude du développement psychomoteur est également nécessaire pour affirmer que les techniques d'AMP sont sans danger pour les enfants qui en sont issus, au-delà des constatations périnatales. Au fur et à mesure que l'enfant s'éloigne dans le temps de l'AMP, le lien entre les deux est d'autant plus sujet aux perturbations de l'environnement et aux biais d'interprétation.

Les difficultés qui existaient déjà pour analyser le devenir périnatal et l'incidence des malformations sont ici majorées par l'extrême diversité des facteurs qui président au développement psychomoteur de la petite enfance, aux performances scolaires et à une bonne santé. L'étude du devenir psychologique des individus nés après AMP se heurtera à ces mêmes obstacles, amplifiés par la variété des déterminants. Seules des études contrôlées rendent possible cette interprétation, bien qu'elles pâtissent de la difficulté à ne pas perdre de vue les couples traités.

1. – Enfants nés après FIV ou ICSI

Une étude s'est intéressée aux difficultés comportementales rencontrées par les parents et les enfants après AMP (FIV ou ICSI) et conclut à une majoration de ces difficultés en cas de naissance gémellaire par rapport aux naissances uniques [27].

Concernant la santé des enfants nés après AMP (FIV ou ICSI), une étude faite sur registre en Suède a comparé la morbidité à long terme chez 16000 enfants nés après FIV avec celle de tous les enfants nés [28]. Celle-ci est plus élevée en général, notamment reflétée par une consommation hospitalière supérieure jusqu'à l'âge de 6 ans. Elle semble liée essentiellement aux naissances prématurées, mais également à des caractéristiques maternelles plus défavorables (âge, morbidité associée). Cependant, une différence de comportement parental dans les soins apportés aux enfants nés après AMP est peut-être à prendre en considération. Aucune différence n'a pu être établie concernant le risque de développer un cancer.

L'étude danoise faite sur le registre des enfants nés après AMP est similaire : 6052 enfants uniques conçus après AMP ont été suivis pendant 4,1 ans et comparés à 442349 enfants uniques conçus naturellement pendant la même période et suivis pendant 4,5 ans. L'étude ne relève pas d'augmentation de la fréquence des maladies d'empreinte, des cancers de l'enfant, des maladies mentales, des malformations congénitales et des troubles du développement. Elle rapporte en revanche un risque relatif de 1,8 pour l'infirmité motrice cérébrale (IC 95 % : 1,2-2,8) et de 2 pour les troubles du sommeil (IC 95 % : 1,2-3,3). Ces pathologies sont probablement en relation avec les naissances prématurées [25].

Enfin, une étude de comparaison des enfants issus de FIV, d'ICSI et d'une conception naturelle retrouve que les enfants

nés après AMP auraient plus de maladies infantiles et nécessiteraient davantage de soins médicaux dans la petite enfance, malgré un développement physique identique [20].

2. – Enfants nés après FIV

Une dizaine d'études rapportent des tests de développement psychomoteur identiques chez les enfants conçus par FIV et naturellement, mais la plupart de ces études, sauf deux, souffrent d'un nombre important de perdus de vue (20 à 35 %), et de la difficulté à éliminer les facteurs de confusion (âge des parents, facteurs socio-économiques et culturels, rang dans la fratrie, contexte périnatal) [3]. La longueur du suivi varie de 1 à 10 ans. De nouvelles cohortes sont actuellement en cours, notamment sur l'évolution scolaire des enfants nés avant 1985, qui sont maintenant majeurs. Quelques études portant sur le devenir psychologique ont été publiées, et ne rapportent pas d'incidence pathologique notable, mais elles mettent en évidence les particularités de la relation parents/enfants lorsque le désir d'enfant a mis de longues années à être comblé [29].

Certains auteurs rapportent l'incidence comparée des cas de cancer dans une population d'enfants nés après FIV et après grossesse naturelle, et ne retrouvent pas de différence [30]. Dans les perspectives d'études de suivi à long terme, on retient celle du développement pubertaire et génital des enfants nés après stimulation ovarienne, peut-être soumis pendant le début de l'organogenèse à un environnement hormonal inhabituel. L'étude de la fécondité de la génération issue de l'AMP est bien sûr pour le moment prématurée.

3. – Enfants nés après ICSI

Les mêmes difficultés se retrouvent pour l'ICSI, bien que les couples et les enfants soient en moyenne plus suivis qu'en FIV classique. Quelques études publiées depuis 1998 montrent en général un développement psychomoteur semblable chez les enfants conçus en ICSI et ceux conçus en FIV ou naturellement [31]. Une revue récente analyse ces études selon leur puissance statistique et conclut à l'absence d'augmentation du risque de troubles du développement psychomoteur [32]. Le suivi à long terme des enfants de l'ICSI est en France un projet prioritaire de l'association FIVNAT.

4. – Enfants nés après cryopréservation embryonnaire

Quelques études rapportent le suivi à long terme des enfants issus de TEC, et ne montrent aucune anomalie du développement staturo-pondéral et psychomoteur, ni des performances scolaires. Une seule étude a comparé les enfants issus de TEC et de grossesse naturelle, sans noter de différence dans la croissance, l'incidence des pathologies chroniques, les handicaps mineurs et les acquisitions [33].

Il faut noter qu'une expérimentation animale a rapporté que les souris obtenues après cryopréservation embryonnaire ont à l'âge adulte un poids supérieur et moins de capacités d'apprentissage [34]. Ces résultats n'ont jamais été confirmés chez l'Homme, mais le recul manque, car la congélation des embryons surnuméraires n'existe que depuis 1985.

POINTS FORTS

- **Le suivi des enfants se heurte à des difficultés méthodologiques (registres, critères), pratiques (suivi des adresses, mode de recueil) et éthiques (traçabilité des individus suivant leur mode de conception, secret qui entoure l'AMP).**
- **Le risque essentiel qui pèse sur les enfants est celui d'être issu d'une grossesse multiple (25 % des naissances).**
- **Les malformations congénitales semblent augmentées en FIV et en ICSI (risque multiplié par 2 environ). En ICSI les malformations urogénitales dominent, probablement liées au contexte de l'infertilité paternelle.**
- **Les anomalies chromosomiques semblent augmentées en ICSI et il existe peut-être un risque accru de maladies de l'empreinte parentale en FIV comme en ICSI.**
- **Le développement psychomoteur ne semble pas perturbé après AMP.**

CONCLUSION

Près d'un million d'enfants de l'AMP sont nés et l'incidence des naissances augmente chaque année. 1 à 3 % des enfants nés dans le monde occidental viennent de l'AMP. Les importantes questions soulevées par les risques qu'ils encourent à venir au monde malgré l'infertilité de leurs parents ne doivent pas faire oublier que ces enfants sont normaux dans l'immense majorité des cas, ce qui a fait le succès de ces techniques.

Le risque principal est celui des grossesses multiples, qui représentent encore environ 25 % des grossesses, la majorité d'entre elles étant des grossesses gémellaires. Le devenir périnatal des enfants de l'AMP est largement dépendant de ce taux très élevé, alors que les singletons, à contexte familial comparable, ont un devenir sensiblement égal hors AMP et en AMP. Les difficultés à évaluer les conséquences psychologiques de la réduction embryonnaire et les questions éthiques qu'elle soulève en font un moyen inadapté de prévention des grossesses multiples de haut rang, bien que le devenir périnatal après réduction soit correct.

Les autres risques sont les malformations congénitales, dont le risque semble augmenté après FIV et après ICSI, et les anomalies chromosomiques après ICSI. Sans doute le contexte génétique parental, voire l'infertilité elle-même, sont plus en cause que la technique d'AMP elle-même. Enfin, le développement ultérieur ne semble pas différent de celui des enfants conçus naturellement, mais il existe encore peu d'études. Le suivi des enfants à long terme reste à organiser, suivant une méthodologie encore non définie. On peut s'interroger sur la légitimité qu'il y a à identifier les enfants de l'AMP comme une population à étudier, vis-à-vis des parents comme vis-à-vis des enfants. Les registres peuvent apporter une aide pour l'étude de pathologies spécifiques sans nécessiter de suivi.

Attendre un enfant comporte des risques, que chaque couple qui procrée assume plus ou moins consciemment. Que l'AMP majore ce risque peut être acceptable, si l'on se donne les moyens de savoir combien, si l'on contribue à sa diminution quand c'est possible, et si les couples en sont clairement informés : organiser le suivi des enfants de l'AMP, éviter les grossesses multiples et parfois renoncer à certains risques génétiques pour l'enfant sont les enjeux de cette assistance médicale. ■

Bibliographie

1. 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 (IVF) does not seem to be related to the IVF method itself. *Hum Reprod,* 1993 ; 8 : 1297-300.

2. Miyake A, Kurachi H, Wakimoto H, Hirota K, Terakawa N, Aono T, Tanizawa O. Second pregnancy with spontaneous ovulation following clomiphene- or gonadotropin-induced pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol,* 1988 ; 27 : 1-5.

3. Olivennes F, Fanchin R, Ledee N, Righini C, Kadoch IJ, Frydman R. Perinatal outcome and developmental studies on children born after IVF. *Hum Reprod Update,* 2002 ; 8 : 117-28. Review.

4. High incidence of preterm births and early losses in pregnancy after in vitro fertilisation. Australian in vitro fertilisation collaborative group. *Br Med J (Clin Res Ed),* 1985 ; 291 : 1160-3.

5. Rufat P, Olivennes F, de Mouzon J, Dehan M, Frydman R. Task force report on the outcome of pregnancies and children conceived by in vitro fertilization (France : 1987 to 1989). *Fertil Steril,* 1994 ; 61 : 324-30.

6. Reubinoff BE, Samueloff A, Ben-Haim M, Friedler S, Schenker JG, Lewin A. Is the obstetric outcome of in vitro fertilized singleton gestations different from natural ones? A controlled study. *Fertil Steril,* 1997 ; 67 : 1077-83.

7. Bergh T, Ericson A, Hillensjo T, Nygren KG, Wennerholm UB. Deliveries and children born after in-vitro fertilisation in Sweden 1982-95 : a retrospective cohort study. *Lancet,* 1999 ; 354 : 1579-85.

8. Wada I, Macnamee MC, Wick K, Bradfield JM, Brinsden PR. Birth characteristics and perinatal outcome of babies conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod,* 1994 ; 9 : 543-6.

9. Comparison of pregnancies issued from frozen embryo transfers and pregnancies issued from fresh embryo transfers in fertilization in vitro. FIVNAT. *Contracept Fertil Sex,* 1994 ; 22 : 287-91.

10. Zuppa AA, Maragliano G, Scapillati ME, Crescimbini B, Tortorolo G. Neonatal outcome of spontaneous and assisted twin pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol,* 2001 ; 95 : 68-72.

11. Blondel B, Kogan MD, Alexander GR, Dattani N, Kramer MS, Macfarlane A, Wen SW. The impact of the increasing number of multiple births on the rates of preterm birth and low birthweight : an international study. *Am J Public Health,* 2002 ; 92 : 1323-30.

12. Reynolds MA, Schieve LA, Jeng G, Peterson HB. Does insurance coverage decrease the risk for multiple births associated with assisted reproductive technology? *Fertil Steril,* 2003 ; 80 : 16-23.

13. Feldberg D, Laufer N, Dicker D, Goldman JA, DeCherney A. Quadruplet pregnancy in IVF. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol,* 1986 ; 23 : 101-6.

14. Kadhel P, Olivennes F, Fernandez H, Vial M, Frydman R. Are there still obstetric and perinatal benefits for selective embryo reduction of triplet pregnancies? *Hum Reprod,* 1998 ; 13 : 3555-9.

15. Lipitz S, Uval J, Achiron R, Schiff E, Lusky A, Reichman B. Outcome of twin pregnancies reduced from triplets compared with nonreduced twin gestations. *Obstet Gynecol,* 1996 ; 87 : 511-4.

16. Schreiner-Engel P, Walther VN, Mindes J, Lynch L, Berkowitz RL. First-trimester multifetal pregnancy reduction : acute and persistent psychologic reactions. *Am J Obstet Gynecol,* 1995 ; 172 : 541-7.

17. Thepot F, Mayaux MJ, Czyglick F, Wack T, Selva J, Jalbert P. Incidence of birth defects after artificial insemination with frozen donor spermatozoa : a collaborative study of the French CECOS Federation on 11,535 pregnancies. *Hum Reprod,* 1996 ; 11 : 2319-23.

18. Ericson A, Kallen B. Congenital malformations in infants born after IVF : a population-based study. *Hum Reprod,* 2001 ; 16 : 504-9.

19. 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.

20. Bonduelle M, Wennerholm UB, Loft A, Tarlatzis BC, Peters C, Henriet S, Mau C, Victorin-Cederquist A, Van Steirteghem A, Balaska A, Emberson JR, Sutcliffe AG. A multi-centre cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization, and natural conception. *Hum Reprod,* 2005 ; 20 : 413-9.

21. Ludwig M, Katalinic A. Malformation rate in fetuses and children conceived after ICSI : results of a prospective cohort study. *Reprod Biomed Online,* 2002 ; 5 : 171-8.

22. 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.

23. DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. *Am J Hum Genet,* 2003 ; 72 : 156-60.

24. Moll AC, Imhof SM, Cruysberg JR, Schouten-van Meeteren AY, Boers M, van Leeuwen FE. Incidence of retinoblastoma in children born after in-vitro fertilisation. *Lancet,* 2003 ; 361 : 309-10.

25. Lidegaard O, Pinborg A, Andersen AN. Imprinting diseases and IVF: Danish National IVF cohort study. *Hum Reprod,* 2005 ; 20 : 950-4.

26. Sutcliffe AG, D'Souza SW, Cadman J, Richards B, McKinlay IA, Lieberman B. Outcome in children from cryopreserved embryos. *Arch Dis Child,* 1995 ; 72 : 290-3.

27. Olivennes F, Golombok S, Ramogida C, Rust J, Follow-up Team. Behavioral and cognitive development as well as family functioning of twins conceived by assisted reproduction : findings from a large population study. *Fertil Steril,* 2005 ; 84 : 725-33.

28. Kallen B, Finnstrom O, Nygren KG,Olavsson PO. In vitro fertilization in Sweden : child morbidity including cancer risk. *Fertil Steril,* 2005 ; 84 : 605-10.

29. Levy-Shiff R, Vakil E, Dimitrovsky L, Abramovitz M, Shahar N, Har-Even D, Gross S, Lerman M, Levy I, Sirota L, Fish B. Medical, cognitive, emotional, and behavioral outcomes in school-age children conceived by in-vitro fertilization. *J Clin Child Psychol,* 1998 ; 27 : 320-9.

30. 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.

31. Van Steirteghem A, Bonduelle M, Devroey P, Liebaers I. Follow-up of children born after ICSI. *Hum Reprod Update,* 2002 ; 8 : 111-6. Review.

32. Leslie GI. Mental development of children conceived using intracytoplasmic sperm injection. The current evidence. *Minerva Ginecol,* 2004 ; 56 : 247-57. Review.

33. Wennerholm UB, Hamberger L, Nilsson L, Wennergren M, Wikland M, Bergh C. Obstetric and perinatal outcome of children conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod,* 1997 ; 12 : 1819-25.

34. Dulioust E, Toyama K, Busnel MC, Moutier R, Carlier M, Marchaland C, Ducot B, Roubertoux P, Auroux M. Long-term effects of embryo freezing in mice. *Proc Natl Acad Sci USA,* 1995 ; 92 : 589-93.