

人类辅助生殖技术对子代生存质量影响的研究进展

乐芳,金帆 综述

(浙江大学医学院附属妇产科医院生殖中心,浙江 杭州 310006)

[摘要] 当前人类辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)对子代生存质量影响的研究主要集中在围产期的结局及短期的跟踪,包括多胎率、单胎的出生低体重及早产、先天性出生缺陷疾病、印记基因疾病、神经系统发育、身体和心理健全,以及癌症的发生风险等。为评价 ART 的安全性,有必要对 ART 子代生存质量研究进展作一综述。

[关键词] 生殖技术,辅助; 婴儿,出生时低体重; 婴儿,早产; 妊娠,多胎; 神经心理学; 生活质量

[中图分类号] R 711.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2011)03-0338-06

Research progress on living quality of children conceived by assisted reproductive technology

LE Fang, JIN Fan (*Centre of Reproductive Medicine, Women's Hospital, College of Medicine Zhejiang University, Hangzhou 310006, China*)

[Abstract] With the development of assisted reproductive technique (ART), children born following ART now form a sizeable subgroup of the population, so assessment for the safety of ART becomes more urgent than ever before. The health problems about living quality of children conceived by ART mainly focus on perinatal outcome and short-term follow-up study, including multiple pregnancies, low birth weight and prematurity in singleton births, congenital malformations, imprinting disorders, neurodevelopmental outcome, neonatal outcomes, physical and mental health, as well as cancer risks. In this review, we will discuss the health problems of these children, to provide data for further study.

[Key words] Reproductive techniques, assisted; Infant, low birth weight; Infant, premature; Pregnancy, multiple; Neuropsychology; Quality of Life

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2011,40(3):338-343.]

自 1978 年第一例体外受精 (*in vitro* fertilization, IVF) 婴儿 Louise Brown 诞生以来,通过 ART 出生的婴儿数量已超过 300 万^[1]。然而,人类辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)的应用范围越广泛,可能出现的相应风险越大^[2]。人为地促排卵和穿刺取卵可能影响到卵巢的激素分泌及卵巢结构的改

变;精子及胚胎暴露于体外、冻存操作等可能改变它们原始的结构以及增加表遗传风险;卵泡

收稿日期:2010-06-29 修回日期:2010-10-26

基金项目:国家重点基础研究发展计划(2007CB948104)。

作者简介:乐芳(1985-),女,博士研究生。

通讯作者:金帆(1958-),男,博士生导师,教授,从事生殖内分泌研究;E-mail: jinfan@zju.edu.cn

浆内单精子注射技术 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) 过程跨越了自然选择过程,存在将精子的缺陷遗传给子代的危险;胚胎植入前遗传学诊断 (preimplantation genetic diagnosis, PGD) 虽然将传统的产前诊断提前到了妊娠发生之前,有着极其广泛的应用前景,但是 PGD 的高度创伤性操作,其对胚胎在各水平的损伤都是有可能的。除了这些辅助生殖技术本身的影响,各种外界影响导致的不孕不育因素本身可能与早产、新生儿死亡、脑瘫也有着一定的联系^[3]。

随着全世界由 ART 产生的子代人数超过百万,关注这些 ART 孩子和自然受孕的孩子在生存质量存在的差异已成为严峻的任务,本综述主要从 ART 子代的健康情况进行总结分析。

1 ART 导致多胎妊娠的发生

1.1 ART 多胎妊娠的高发率 为了保证 ART 的成功率,临床上常植入多个受精卵至宫腔内,多胎妊娠率被认为是 ART 的主要风险之一。Schieve 等^[4]将美国 42 463 例 ART 孩子同自然出生 (naturally conceived, NC) 的 3 389 098 例孩子进行比较,结果显示 ART 孩子中双胎妊娠率高达 43%,三胎妊娠率占 12%,四胎及更多胎率也达到 1%,明显高于 NC 的孩子。同样 Koivurova 等^[5]对芬兰北部 1990 ~ 1995 年出生的 306 名 IVF 新生儿进行研究,其中 154 例为单胎妊娠,仅占总数的 50.3%,而双胎 123 例、三胎 25 例和四胎 4 例,其比例分别为 40.2%、8.2%、1.3%。另外,Pinborg 等^[6]统计了丹麦 8 602 名 ART 婴儿,也发现 ART 子代中双胎率高达 40%。

1.2 多胎妊娠相关的风险 多胎妊娠同许多生育风险因素相关,包括早产、低出生体重、新生儿疾病、先天性畸形等,如双胎导致早产比率高达 44%,而单胎只有 6%^[7]。有研究示双胎的死亡率是单胎的 6 倍^[8]。针对这个问题,最近几年许多生殖中心主要通过减少移植子宫的胚胎数,达到降低多胎妊娠及减少相应的生育风险。Kallen 等^[9]对从 1982 年 - 2007 年出生的 31 850 例的 IVF 子代进行调查研究,结果显示:在减少胚胎移植数后,IVF 子代的多胎妊娠

率由 30% 降到了 5%,但是先天性出生缺陷的发病率却没有明显改变。单胚胎移植与双胚胎移植比较,有着相同的怀孕率,但减少多胎妊娠的发生并不能完全减少 ART 子代围产期的风险,ART 单胎同自然单胎比较,同样存在早产、出生低体重及先天性出生缺陷等高风险几率。

2 ART 子代体重改变及其引起相关的风险

大量调查数据显示:ART 子代与 NC 子代 (6 个月 ~ 12 岁) 在生长发育包括体重、身高、头围上没有明显的差异^[10-12];PGD 子代与 NC 子代 (3 个月到 4 岁) 在生长发育上也没有发现明显差异^[13]。与这些研究相反的另一一些研究认为,与 NC 子代相比,IVF 子代的出生低体重发生率明显增高^[14]。Makhoul 等^[15]对 1995 年 - 1999 年出生的 6 ~ 10 岁的出生低体重儿童进行研究,发现 IVF 及促排卵儿童的身高明显高于 NC 儿童。最近,新西兰的一篇报道显示:5 ~ 6 岁 IVF 或 ICSI 儿童的身高显著高于同龄 NC 儿童,并且血清中有高水平的 IGF1 及 IGFII^[16]。Ceelen 等^[17]观察了出生到 4 岁的 IVF 子代的生长发育,发现在 3 个月及 6 个月时,IVF 子代体重/身高低于 NC 子代;但在 3 个月到 1 岁期间,IVF 婴儿的体重/身高的增长速度比正常婴儿更快。另外,IVF 儿童生长至 8 ~ 18 岁时较 NC 同龄儿童有着更高的血压及血糖,同时皮下脂肪量也较多。IVF 子代早期体重的异常可能与心血管疾病密切相关,但是需要更多的研究去追踪 IVF 子代到成年期。

3 ART 子代出生缺陷的发生率

3.1 一般出生缺陷 IVF 子代的出生缺陷的发生率早在 1980 年初就已被关注,在 ICSI 技术出现后则更受重视。ART 子代在排除不孕因素影响后,出生缺陷发生率仍较 NC 子代增加 40%^[18]。Agarwal 等^[19]报道,ICSI 出生婴儿的先天畸形发生率高达 7.9%,高于 NC 婴儿的 2.7%。Reefhuis 等^[20]对美国 ART 子代进行研究时发现,ART 子代心脏中隔缺陷、唇裂、食管闭锁及肛门闭锁的发生率较 NC 子代增加。瑞典对 2001 年到 2007 年出生的 15 570 例 IVF 单胎与 5 689 157 例 NC 单胎进行比较,排除出生

年龄、父母年龄、胎产次、吸烟等因素影响,研究结果显示:在心血管畸形、肢复位缺陷、神经管缺陷、食管闭锁等方面上 IVF 子代发生风险较 NC 子代增高^[21]。另外,德国对 4~6 岁的 276 例 ICSI 足月单胎儿与 273 例 NC 单胎进行比较时,发现 ICSI 男孩有高比例的隐睾^[22]。有关 ART 技术本身与出生缺陷的发生关系目前尚不清楚,由于大多数接受 ART 治疗的孕妇都有不孕病史,且经历了许多针对不孕症的治疗,这些 ART 婴儿的出生缺陷究竟是孕妇的原发病导致的还是其后各种治疗引起的,仍需要大量的资料来加以证实。

3.2 基因印迹缺陷 印迹基因是指只表达亲本一方的遗传信息,而另一方处于关闭状态的一类基因。印迹基因参与胚胎发育、胎盘功能和神经发育,印迹基因表达异常与人类多种疾病、发育异常和恶性肿瘤有关,常见的有:安吉曼综合征(angelman syndrome, AS)、脐疝-巨舌-巨大发育综合征(beckwith-Wiedemann syndrome, BWS)和普-威综合征(prader-Willi syndrome, PWS)等。近年来,有观点认为 ART 可能带来表观遗传改变,但是具体的机制尚不清楚,可能包括:不孕因素、促排卵相关激素、体外操作及体外培养^[23-24]。

大部分动物实验显示:胚胎体外培养可导致印迹基因改变;欧洲、美国、澳大利亚的研究显示:ART 与 BWS 密切相关,ART 出生的患 BWS 子代超过 90% 有印迹基因缺陷,而非 ART 出生的患 BWS 子代只有 40%~50%;同样,有关 ART 与 AS 的发生率研究中,大部分 ART 出生患 AS 子代中有印迹基因缺陷^[25]。ART 子代印迹基因疾病的分子遗传学研究提示,ART 的操作过程可能导致卵子 SNRPN DMR 和 KvDMR1 的印迹中心甲基化建立受损或已建立的甲基化丢失^[11]。另外,动物研究还发现促排卵获得的小鼠胎盘中有 IGF2 高表达^[26],体外培养小鼠胚胎后导致印迹基因 IGF2 及 H19 高表达^[27]。由于绝对的印迹基因疾病发生概率很小($<1/12\ 000$),所以有关印迹基因缺陷疾病仍需要对 ART 子代进行大样本的研究。

4 ART 对其子代的神经系统发育影响

4.1 认知发育 ART 出生儿与 NC 出生儿在神经系统发育上是否存在差异,一直被学者们所关注。较多学者认为,ART 出生儿与 NC 出生儿在神经系统发育方面不存在差异。Sutcliffe^[28]对 1~2 岁 ICSI 单胎与同龄 NC 单胎比较,未发现他们神经发育有差异。Koivurova^[9]等对 299 例 IVF 子代与 588 例 NC 子代,年龄层包括 12 个月、18 个月、2 岁、3 岁,两者在神经运动发展方面也没有发现差异。另外,由 5 个欧洲国家合作,收集了 5 岁的 ART 儿童,其中 ICSI 511 例、IVF 424 例、NC 488 例,发现这三者在认知与运动发展评估之间并没有差异^[13]。其它关于 4~6 岁、10 岁 ICSI 单胎在认知及运动发展上也没有显著性差异。PGD 子代的神经发展方面的研究有着类似的结果,Nekkebroeck^[29]对 2 岁单胎儿包括 541 例 PGD、535 例 ICSI 及 NC 553 例,他们在神经发育、社会感情上及语言学习上并无差异。

但是,一些研究则认为 ICSI 及 IVF 子代与 NC 子代相比,更易出现发育延迟;IVF 子代在视-知觉及与运动相关的精细调控神经,较 NC 子代存在更多风险,而这些可能与 ART 相关的早产及低出生体重导致的大脑损伤有关^[30]。另外,荷兰研究者调查后发现,与 NC 同龄单胎儿童相比,ICSI 5~8 岁单胎儿童他们的平均 IQ 相对较低^[12]。

4.2 脑性瘫痪的发病率 Stromberg^[31]等对 1982 年到 1995 年在瑞典出生的 5 680 例 IVF 子代进行研究,发现 IVF 婴儿患脑性瘫痪(cerebral palsy, CP)的风险是 NC 子代的 3.7 倍,其中单胎妊娠的 IVF 子代患 CP 的风险达到 NC 单胎子代的 2.8 倍,而 IVF 双胎同 NC 双胎患 CP 的风险并无明显差异。Pinborg 等^[6]观察了丹麦 1995 年~2001 年出生的 ART 单胎儿 6 052 例,发现 ART 儿童患 CP 的风险较正常儿增加了 80%。Hvidtjorn^[32]等进一步比较了丹麦 1995 年~2003 年出生的 9 255 例 IVF 胎儿、394 713 例 NC 胎儿,在排除了母亲年龄、性别、胎次、教育水平的影响,IVF 患 CP 的风险仍是正常儿的 1.57 倍,但是,在去除早产儿或多胎

妊娠儿后,两者之间并没有差异,加入两者之一,又出现显著差异,因此 ART 相关的早产及多胎妊娠可能是影响 CP 发生率的重要因素之一。

4.3 癫痫的发生率 ART 出生儿是否增加了患癫痫的风险率存在较多争议。Kallen^[33]发现 IVF 子代患癫痫风险较 NC 子代明显增加。Sun^[34]等对丹麦 1996 年-2002 年出生的 0~6 岁之间子代研究发现:低生育能力夫妇的单胎儿癫痫患病率是正常夫妇的单胎儿的 1.5 倍,而不孕夫妇经 ART 治疗后患病风险提升到 1.71 倍,但排除早产儿时,这些数据失去了统计学意义。由此可见,除父母的低生育能力外,早产也是 ART 增加癫痫风险的可能因素之一。

5 ART 子代心理发育情况

与自然妊娠相比,不孕夫妇在接受不孕治疗时需要承受更多的心理压力和焦虑,这些因素可能使他们不能很好地适应做父母的角色,而父母与小孩之间的关系间接影响着小孩的行为发育和感情健康。由多个欧洲国家合作的一项研究,比较了 4~5 岁的 436 例 IVF、540 例 ICSI 及 542 例 NC,三者在父母压力、婚姻问题、感情及行为问题上没有明显差异^[33]。另一项研究,跟踪 4~8 岁 IVF 儿童到 12 岁,在精神、行为学问题上未发现异常;相反,IVF 子代的母亲与 NC 子代的母亲相比有着更少的压力^[34]。Ponjaert-Kristoffersen 等^[22]认为,ICSI 子代同 NC 子代相比,有更少行为问题,更少的来自父母的压力。Banerjee 等^[13],最近做了一项关于 PGD 后儿童的社会心理学研究,PGD 出生的儿童的行为和心理发育也没有明显的异常。由于受一些条件的限制,有关各种类型 ART 出生儿的心理学发育情况仍需要更大样本及长期的跟踪随访研究。

6 ART 子代患癌症风险

有关 ART 出生儿患癌症风险的报道并不多。瑞典研究者对 1982 年-2005 年出生的 26 692 例 IVF 出生儿进行随访,发现有 53 例患癌症,为 NC 子代的 1.42 倍,包括 18 例血癌(其中 15 例急性淋巴细胞白血病)、17 例眼或

中枢神经癌、12 例实体癌及 6 例朗格汉斯细胞组织细胞增多病。研究认为,这些可能与早产及新生儿窒息有关^[35]。Moll 等^[36]在 2000 年到 2002 年期间的出生的 IVF 子代中,发现了 5 例视网膜母细胞瘤患者,与自然妊娠儿比其危险性增加 5~7 倍。同样,对从 1995 年到 2007 年丹麦出生的 40 330 例 IVF 子代的研究,发现 IVF 子代较 NC 子代患视网膜母细胞瘤明显增加^[37]。另外,Kallen^[38]等也在 16 280 例 IVF 儿中发现了 5 例朗格汉斯细胞组织细胞增多病,是正常人的 0.9 倍(但无统计学差异)。由于这些恶性肿瘤的发生率非常低,而且大部分癌症发生于成年,对于 ART 子代相关的癌症风险的研究仍非常有限。

综上所述,随着逐渐发现的 ART 出生缺陷病例,有关 ART 技术可能存在影响生殖健康隐患日益引起人们的关注。由于受各种条件的限制及方法学上的一些缺陷,在生长发育、体格健康、神经发育学、先天性出生缺陷等方面仍存在着较多争议^[39]。目前,对 ART 子代的研究也只限于较小的年龄,高血压、糖尿病及其它心血管疾病一般是在成年后出现,一些疾病特别是大部分癌症,也都是在中老年时期发生,所以长期跟踪随访成为必要。另外,关于 ART 子代的生育能力的研究很少,似需要更多的实验研究及长期的随访。

References:

[1] BASETEMRU E, SUTCLIFFE A. Follow-up of children born after ART [J]. **Placenta**, 2008, 29 (Suppl B): 135-140.

[2] WANG Xue, ZHEN Jing-ran, SUN Zheng-yi, et al (王雪,甄璟然,孙正怡,等). The birth outcome of the assisted reproduced technologies [J]. **Journal of International Reproductive Health/Family Planning** (国际生殖健康/计划生育杂志), 2010, 29(1):30-33(in Chinese).

[3] MIDDELBURG K J, HAADSMA M L, HEINEMAN M J, et al. Ovarian hyperstimulation and the in vitro fertilization procedure do not influence early neuromotor development: A history of subfertility does [J]. **Fertil Steril**, 2010, 93 (2): 544-553.

- [4] SCHIEVE L A, MEIKLE S F, FEREE C, et al. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology [J]. **N Engl J Med**, 2002, 346 (10): 731-736.
- [5] KOIVUROVA S, HART-SIKAINEN A L, SOVIO U, et al. Growth, psychomotor development and morbidity up to 3 years of age in children born after IVF [J]. **Hum Reprod**, 2003, 18 (11): 2328 - 2336.
- [6] PINBORG A, LOFT A, SCHMIDT L, et al. Neurological sequelae in twins born after assisted conception: controlled national cohort study [J]. **BMJ**, 2004, 329(7461): 302-303.
- [7] WANG Qian-qian, ZHU Yi-rain, WU Ming-yua(王倩倩,朱依敏,吴明远), Health status of mothers undergoing offspring [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报: 医学版), 2009, 38(5): 515-520. (in Chinese)
- [8] WILLIAMS C, SUTCLIFFE A. Infant outcomes of assisted reproduction [J]. **Early Hum Dev**, 2009, 85(11): 673-677.
- [9] KALLEN B, FINNSTROM O, LINDAN A, et al. Trends in delivery and neonatal outcome after in vitro fertilization in Sweden: data for 25 years [J]. **Hum Reprod**, 2010, 25(4): 1026-1034.
- [10] SUTCLIFFE A G, BASATEMUR E, SHEVLIN M. Growth of children conceived by IVF and ICSI up to 12 years of age [J]. **Reprod Biomed Online**, 2010, 20(1): 144-149.
- [11] DOORNBOS M E, MAAS S M, MCDONNELL J, et al. Infertility, assisted reproduction technologies and imprinting disturbances: a Dutch study [J]. **Hum Reprod**, 2007, 22(9): 2476-2480.
- [12] KNOESTER M, HELMERHORST F M, VANDENBROUCKE J P, et al. Perinatal outcome, health, growth, and medical care utilization of 5- to 8-year-old intracytoplasmic sperm injection singletons [J]. **Fertil Steril**, 2008, 89(5): 1133-1146.
- [13] BANERJEE I, SHEVLIN M, TARANISSI M, et al. Health of children conceived after preimplantation genetic diagnosis: A preliminary outcome study [J]. **Reprod Biomed Online**, 2008, 16(3): 376-381.
- [14] MCDONALD S D, HAN Z, MULLA S, et al. Preterm birth and low birth weight among in vitro fertilization twins: A systematic review and meta-analyses [J]. **EUR J OBSTET GYN R B**, 2010, 148(2): 105-113.
- [15] MAKHOUL I R, TAMIR A, BADER D, et al. In vitro fertilization and use of ovulation enhancers may both influence childhood height in very low birthweight infants [J]. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed**, 2009, 94(5): 355-359.
- [16] LUDWIG A K, KATALINIC A, THYEN U, et al. Physical health at 5.5 years of age of term-born singletons after intracytoplasmic sperm injection: results of a prospective, controlled, single-blinded study [J]. **Fertil Steril**, 2009, 91(1): 115-124.
- [17] MANON C, MIRJAM M, JUDITH J, et al. Growth during infancy and early childhood in relation to blood pressure and body fat measures at age 8-18 years of IVF children and spontaneously conceived controls born to subfertile parents [J]. **Hum Reprod**, 2009, 24(11): 2788-2795.
- [18] HANSEN M, BOWER C, MILNE E, et al. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects-a systematic review [J]. **Hum Reprod**, 2005, 20(2): 328-338.
- [19] SUTCLIFFE A G, LUDWIG M. Outcome of assisted reproduction [J]. **Lancet**, 2007, 370 (9584): 351-359.
- [20] REEFHUIS J, HONEIN M A, SCHIEVE L A, et al. Assisted reproductive technology and major structural birth defects in the United States [J]. **Hum Reprod**, 2009, 24(2): 360-366.
- [21] KALLEN B, FINNSTROM O, LINDAM A, et al. Congenital malformations in infants born after In vitro fertilization in Sweden [J]. **Birth Defects Res A Clin Mol Teratol**, 2010, 88(3): 137-143.
- [22] PONJAERT-KRISTOFFERSEN I, BONDUELLE M, BARNES J, et al. International collaborative study of intracytoplasmic sperm injection-conceived, in vitro fertilization-conceived, and naturally conceived 5-year-old child outcomes: cognitive and motor assessments [J]. **Pediatrics**, 2005, 115(3): 283-289.
- [23] AMOR D J, HALLIDAY J. A review of known imprinting syndromes and their association with

- assisted reproduction technologies [J]. **Hum Reprod**, 2008, 23(12):2826-2834.
- [24] GAO Min-zhi, ZHAO Xiao-ming, ZHANG Hui-qin (高敏芝, 赵晓明, 张慧琴). Epigenetics and female reproduction and assisted reproductive technology [J]. **Journal of Reproductive Medicine** (生殖医学杂志), 2009, 18(1):661-669 (in Chinese).
- [25] MANIPALVIRATN S, DECHERNEY A, SEGARS J, et al. Imprinting disorders and assisted reproductive technology [J]. **Fertil Steril**, 2009, 91(2):305-315.
- [26] FAUQUE P, JOUANNET P, LESAFFRE C, et al. Assisted reproductive technology affects development kinetics, H19 imprinting control region methylation and H19 gene expression in individual mouse embryos [J]. **BMC Dev Biol**, 2007, 18(7):116.
- [27] RIVERA R M, STEIN P, WEAVER J R, et al. Manipulations of mouse embryos prior to implantation result in aberrant expression of imprinted genes on day 9.5 of development [J]. **Hum Mol Genet**, 2008, 17(1):1-14.
- [28] LEUNENS L, CELESTIN-WESTREICH S, BONDUELLE M, et al. Follow-up of cognitive and motor development of 10-year-old singleton children born after ICSI compared with spontaneously conceived children [J]. **Hum Reprod**, 2008, 23(1):105-111.
- [29] NEKKEBROECK J, BONDUELLE M, DESMYTTERE S, et al. Mental and psychomotor development of 2-year-old children born after preimplantation genetic diagnosis/screening [J]. **Hum Reprod**, 2008, 23(7):1560-1566.
- [30] ANDERSON P J, DOYLE L W. Cognitive and educational deficits in children born extremely preterm [J]. **Semin Perinatol**, 2008, 32(1):51-58.
- [31] STROMBERG B, DAHLQUIST G, ERICSON A, et al. Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilization: a population-based study [J]. **Lancet**, 2002, 359(9305):461-465.
- [32] HVIDTJORN D, GROVE J, SCHENDEL D E, et al. Multiplicity and early gestational age contribute to an increased risk of cerebral palsy from assisted conception: A population-based cohort study [J]. **Hum Reprod**, 2010, 25(8):2115-2123.
- [33] KALLEN B, FINNSTROM O, NYGREN K G, et al. *In vitro* fertilization in Sweden: child morbidity including cancer risk [J]. **Fertil Steril**, 2005, 84(3):605-610.
- [34] SUN Y, VESTERGAARD M, CHRISTENSEN J, et al. Epilepsy and febrile seizures in children of treated and untreated subfertile couples [J]. **Hum Reprod**, 2007, 22(1):215-220.
- [35] KALLEN B, FINNSTROM O, LINDAM A, et al. Cancer risk in children and young adults conceived by in vitro fertilization [J]. **Pediatric**, 2010, 126(2):270-276.
- [36] MOLL A C, IMHOF S M, CRUYSEBERG J R, et al. Incidence of retinoblastoma in children born after in-vitro fertilization [J]. **Lancet**, 2003, 361(9354):309-310.
- [37] MAREES T, DOMMERING C J, IMHOF S M, et al. Incidence of retinoblastoma in Dutch children conceived by IVF: An expanded study [J]. **Hum Reprod**, 2009, 24(12):3220-3224.
- [38] BARNES J, SUTCLIFFE A G, KRISTOFFERSEN I, et al. The influence of assisted reproduction on family functioning and children's socio-emotional development: Results from a European study [J]. **Hum Reprod**, 2004, 19(6):1480-1487.
- [39] CARSON C, KURINCZUK J, SACKER A, et al. Cognitive development following ART: effect of choice of comparison group, confounding and mediating factors [J]. **Hum Reprod**, 2010, 25(1):244-252.

[责任编辑 黄晓花]