난임 치료와 선천성 기형

차 선 화

단국대학교 의과대학 제일병원 산부인과

Infertility Treatment and Congenital Malformations

Sun-Hwa Cha

*Department of Obstetrics and Gynecology, Cheil General Hospital and Women's Healthcare Center,
Dankook University College of Medicine, Seoul, Korea*

Over the past 30 years, fertility treatments including fertility enhancing drugs, artificial insemination and in vitro fertilization (IVF) have been revolutionized. Thus, worldwide, more than 5 million children have been born after assisted reproductive technology (ART) and domestically, it was announced that 2.83% of all births in 2011 were associated with financial support from the National Supporting Program for the Subfertile (NSPS) administered by the Korean Ministry of Health and Welfare (KMHW). As more women seek for fertility treatment, there is growing concern about the safety of the methods. In this review, we aim to summarize the literature on the association between fertility treatment and congenital malformations with respect to subfertility, fertility enhancing medications, and different ART methods. To sum up, although ARTs are associated with slight increase in some malformations, it appears that the increase in congenital malformations is due less to ART methods per se than to the biological perturbations that generated the infertility necessitated ART to achieve pregnancy. And no particular organ system seems disproportionately affected. It is often instructive to remind all couples attempting pregnancy that the baseline malformation rate is 2~3%, compared with 3~4% in ART.

Key Words: congenital malformations, infertility, in vitro fertilization, artificial insemination

서 론

2013년에 발표한 한국 보건사회 연구원의 자료에 따르면, 우리나라 난임 진단자 수는 2005년도부터

2011년도 사이에 연 평균 7.7% (여성 6.2%, 남성 15.6%) 증가했고 2012년 기준 약 19만 명에 이르는 것으로 보고하였다. 여성의 사회진출 및 결혼 연령의 지연으로 임신을 계획하는 여성의 나이가 고령화되고 난임 치료에 대한 사회인식의 변화와 2006년부터 시행된 정부의 <불임(난임) 부부 지원사업>을 통한 인공수정 및 체외수정 시술의 경제적 지원 등으로 국내에서 난임 진단 및 치료에 대한 요구가 증가하고 있다. 한편 난임 치료에 필요한 약물 및 의학적 기술, 예컨대 인공수정 시술(intrauterine insemination, IUI) 및 체외

교신저자: 차선화, 서울시 중구 서애로 1길 17
단국대의대 제일병원 산부인과
전화번호: 02-2000-7549, 팩스번호: 02-2000-7790
E-mail: chaaa92@naver.com

접수일자: 2016년 4월 30일, 수정일자: 2016년 6월 29일
게재확정일자: 2016년 6월 29일

Copyright © 2016 by The Korean Society of Maternal and Child Health

수정 기술(in vitro fertilization-Embryo transfer, IVF-ET), 무정자증에서 미세수술의 발달로 인한 체외수정 기술의 성공 등 비약적 발전으로 인해 전 세계적으로 이미 5백만 명 이상의 신생아가 체외수정 기술로 출생한 것으로 알려져 있고, 국내에서도 2011년 출생아의 약 2.83%가 정부지원의 난임 기술과 관련되어 있다(Lee et al., 2016). 그러나 이런 약물이나 기술로 인한 태아에 대한 안정성 특히 기형아 출산에 대한 두려움은 여전히 난임 치료를 결정할 때 걸림돌이 되기도 한다.

1978년 최초로 체외수정 기술이 성공한 이래 체외수정 기술의 안정성에 대한 관심이 지속되어왔다. 지금까지의 문헌에 따르면 체외수정 기술 후 출생한 아이에서 자연임신에 비해 선천성 기형이 발견될 확률이 다소 높은 것으로 알려진다. 이는 모체의 연령이 자연임신에 비해 높고, 다태 임신과 조산으로 인한 미숙아의 출생이 상대적으로 많아서 이와 관련된 질환 예를 들면, 심장의 중격결손증(Cardiac septum defects)과 동맥관 개존증(Patent ductus arteriosus) 등의 발생빈도에 미미한 차이가 있는 것으로 보고되기 때문이다. 그룹에도 불구하고 아직까지 보조생식술과 선천성 기형의 발생에 대한 연관성, 인과관계 및 가능한 기전에 대해 밝혀진 것은 없고 다만 다인성(multifactorial) 인자에 의한 것으로 추측하고 있다.

이에 본 종설에서는 문헌 고찰을 통해 난임 치료 후 출생한 신생아의 선천성 기형의 빈도 및 형태의 차이가 있는지와 난임 치료에 흔하게 사용되는 배란 유도제 및 보조생식술 기술 과정에서 기술 방법 자체, 배양의 차이, 난자내 정자 주입술, 배아의 동결보존술 등이 직접 태아의 기형을 유발할 수 있을지 여부에 대해 알아보고자 한다.

본 론

1. 난임(Subfertility, Infertility)과 선천성 기형

일반적으로 난임 기간이 길수록 모체의 연령은 증가

하고 고령 임신일수록 선천성 기형의 빈도는 증가하는 것으로 알려져 있다. 일례로 미국의 인구기반 연구에 따르면 여성의 나이가 26세일 때 태아 기형은 약 2.7%임에 반해 37세의 연령에서는 약 3.4%로 모체 연령이 중요한 요인으로 간주된다(Croen & Shaw, 1995).

특별한 난임 치료 없이 자연 임신된 경우에도 1년 이내에 임신된 단태아에 비해 난임 기간이 1년 이상이었던 부부에서 태어난 단태아에서 선천성 기형의 위험률이 20% 정도 더 높았다는 보고가 있다(HR 1.20; 95% CI 1.07~1.35). 이 연구에서는 난임 기간이 길수록 기형의 유병률도 증가한다고 하였다(Zhu et al., 2006). Källén 등(2005)은 스웨덴의 국가등록연구에서 체외수정 기술 후 출생한 신생아의 약 5%에서 심각한 기형을 보고하지만, 모체의 연령, 난임 기간, 출산력, 흡연 등을 고려하면 기술 자체로 인한 위험률은 차이가 없다고 보고하였다(aOR 1.12, 95% CI 0.99~1.28). 따라서 보조생식술 후 기형의 증가는 기술 자체에 의한 것뿐만 아니라 난임 치료가 필요한 부모의 잠재되어있는 불임의 유전적 혹은 본질적 원인이 함께 작용한다고 고려된다. 최근 한 메타분석 연구에서는 이렇듯 난임 자체로 인해 약 40%의 기형이 초래된다고 간주하고 보정하였을 때 보조생식술 후 선천성 기형의 위험률은 29% (HR 1.29, 95% CI 1.01~1.67)에서 1% (HR 1.01, 95% CI 0.82~1.23)로 감소한다고 발표하였다(Rimm et al., 2011).

기형의 형태로는 정상 가임군과 1년 이상의 난임 기간을 갖는 난임 부부에서 자연임신 된 경우를 비교하였을 때 난임군에서 특히 복벽 기형(aOR 2.43, 95% CI 1.05~5.62), 요도하열(penosacral hypospadias, aOR 9.83, 95% CI 3.58~27.04), 심장기형(right ventricular outflow tract obstruction, aOR 1.77, 95% CI 1.06~2.97), 유전체 각인(Imprinting disorder, aOR 13.49, 95% CI 2.93~62.06)의 빈도가 의미 있게 높았다(Seggers et al., 2015).

2. 배란유도 약물; 클로미펜(Clomiphene citrate)과 페마라 정(Letrozole)

클로미펜은 체내에서 에스트로겐의 길항제 역할로 뇌하수체에 작용하여 생식샘 자극 호르몬(Gonadotropin) 분비를 촉진하는 약으로 배란 장애에 의한 불임증을 치료하거나 두 개 이상의 난포를 성장하도록 유도하여 원인불명의 난임을 치료하는데 일차적으로 사용되는 약물이다. 간에서 대사되며 약 85%는 복용 후 6일 만에 대변으로 배출되고 소량은 6~8주 후에도 혈중에서 검출되는 것으로 되어있다. 이는 작용시간이 짧고 배란유도 작용이 강한 Enclomiphene과 약물작용이 약하면서 체내 오랫동안 남아있는 Zuclomiphene이 3대 2의 비율로 혼합되어 있기 때문인데 이로 인해 가끔 체내 축적되는 성분이 초기 임신시 태아발달에 영향을 끼치지 않을까 우려되기도 한다. 과거의 몇몇 연구에서는 클로미펜 복용과 신경관 결손(Greenland et al., 1995) 및 요도하열(Sørensen et al., 2005; Meijer et al., 2006)의 연관성을 보고하기도 하였으나 최근 미국 CDC에서 발표한 논문에서는 클로미펜 복용군에서 대조군에 비해 심혈관계 기형과 식도폐쇄(esophageal atresia), 제대탈장(omphalocele) 등 다양한 선천성 기형이 발견되지만, 기존의 논문과 다른 형태의 기형들에 연관성이 보이므로 난임 자체에 의한 것인지 클로미펜에 의한 영향인지 구분하기가 어렵다고 하였다(Reefhuis et al., 2011). 따라서 현재까지의 문헌으로 미국불임학회(The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2013)에서는 클로미펜의 사용으로 선천성 기형이 유발된다는 근거는 없다고 결론지었다.

페마라 정은 난소 내에서 에스트로겐의 합성에 필요한 효소인 방향화 효소(aromatase)를 억제하는 약물로 혈중 에스트로겐 농도를 낮춰 체내 생식샘 자극 호르몬 분비를 자극하고 배란을 유도하는 작용을 한다. 다낭성 난소 증후군과 같은 배란장애에서 클로미펜에 효과가 없는 경우 사용되며, 클로미펜보다 자궁내막의 두께

에 끼치는 영향이 적고 단일 난포 성장을 유도하므로 쌍태아의 위험이 적은 장점이 있다. 하지만 초기 태아 발달 시기에 필요한 정상적인 방향화 효소(aromatase)의 기능에도 방해가 되어 기형을 유발하지 않을까 우려하기도 하였다. 2005년에 Biljan 등에 의해 처음 제기된 바로 letrozole을 복용한 군에서 정상 자연 임신군에 비해 심장기형과 골격계 기형의 위험률이 높았으나 전체적인 주요기형(major anomaly)의 발병에는 차이가 없다고 보고하였다. 그러나 이후에 발표된 여러 논문에서는 선천성 기형의 발생률을 비교한 결과, 자연 임신군에서는 2.9~3.2%, letrozole을 복용한 군에서는 2.4~3.6%, 클로미펜을 복용한 군에서는 2.6~4.8%로 세 군간의 차이가 없다고 보고한다(Tulandi et al., 2006; Diamond et al., 2015). letrozole의 반감기는 약 45시간(30~60시간)으로 짧아 배란유도의 목적으로 생리 초기에만 복용하는 경우(대개 생리 시작 3일째부터 5일간만 복용) 배아의 착상기 이전에 체내에서 모두 배출되고, 활성 대사산물이 없기 때문에 선천성 기형을 유발하지 않는 것으로 보인다.

3. 과배란유도 및 인공수정(intrauterine insemination, IUI)

배란유도에 사용되는 약물의 종류와 용량은 매우 다양하며 동일한 방법에도 약물의 효과 즉, 과배란 정도가 다르므로 과배란에 따른 선천성 기형에 대한 연관성을 밝히기는 쉽지 않다. 하지만 대부분의 논문에서 배란유도 후 태어난 아이들이 조산이나 저체중아, 다태임신 등 더 불량한 주산기 예후를 갖는다고 보고한다. 선천성 기형의 측면에서 보면, 정상 자연 임신군에 비해서는 높은 유병률을 나타내지만 체외수정 시술아에 비해 낮게 나타나는데 Klemetti 등(2005)이 발표한 선천성 기형률은 자연 임신군 2.85% (756/26,489), 배란유도/인공수정 후 3.52% (138/3,926), 체외수정 후 4.27% (125/2,930)로 자연임신에 비해 배란유도/인공수정의 경우 1.2배(aOR 1.21, 95% CI 1.02~1.44), 체외수정 후에 1.31배(aOR 1.31, 95% CI

1.10~1.57) 더 높았다. 비슷하게 El-Chaar 등(2009)은 자연임신 1.86%, 배란유도 2.35%, 배란유도 후 인공수정 2.89%, 체외수정 3.45%로 발표하였고, Sagot 등(2012)은 자연임신 2.1%, 인공수정 3.6%, 체외수정 4.2%로 보고하였다. 기형의 형태 분석에서는 배란유도/인공수정 군에서 자연임신에 비해 척추이분증(spina bifida, 0.05% vs. 0.02%, RR 2.89), 척수이상(0.05% vs. 0.02%, RR 3.01), 폐동맥판막협착(atresia or stenosis of the pulmonary valve, 0.07% vs. 0.03%, RR 2.61), 요도하열(0.50% vs. 0.39%, RR 1.27), 요관 및 신우의 이상(0.41% vs. 0.30%, RR 1.37)이 더 높은 빈도를 보였다(Heisey et al., 2015). 그러나 이들은 정상 가임 임신군과 비교한 것으로 앞서 언급한 난임 부부가 갖는 유전적 혹은 환경적 요인에 대한 부분이 고려되지 않은 연구 결과이므로 파배란/인공수정 시술에 의한 직접적인 효과라고 단정 짓기는 어렵다고 고려된다.

4. 체외수정 시술(in vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)

메타분석 연구에 따르면 정상 자연임신 군에 비해 체외수정 시술 후에 태어난 신생아에서 선천성 기형의 위험도가 20~40% 정도 더 높았다. 이중 스웨덴의 코호트 연구에 따르면 2001년 이전(1982~2000년)에 태어난 신생아에서 기형률은 체외수정 5.0%, 정상 가임군 4.0%로 약 1.33배(95% CI, 1.24~1.43)임에 비해 2001년 이후(2001~2006년)에 태어난 신생아에서는 각각 5.3% 대 4.4%로 약 1.15배(95% CI, 1.07~1.24) 위험성이 감소한 것으로 발표하였다(Källén et al., 2005; Källén et al., 2010). 최근 다른 나라에서도 체외수정 시술 후 기형 발생률이 초기 연구들보다 더 낮은 빈도로 발표되는데 이는 아마도 과거에 비해 체외수정 시술이 보편화되면서 난임 자체에 의한 요인 즉 유전적, 환경적 위험성이 비교적 낮아졌을 가능성과 체외수정 기술의 발달, 배양액과 배양조건 등의 발달, 배란유도시 난소의 저자극 요법으로 호르몬의 변화를 적게

하는 노력 등에 의한 영향으로 추측된다.

1) IVF (conventional In vitro fertilization) vs. ICSI (Intracytoplasmic sperm injection)

1990년대에 미세수정술(Intracytoplasmic sperm injection, ICSI)이 체외수정 시술에 적용되면서 무정자증과 같은 심각한 남성 요인의 불임에서도 임신이 가능하게 되었다. 심각한 정자 감소증 혹은 무체 이상이 잘 발견되고 유전됨으로써 미세수정술 후 선천성 기형의 가능성이 더 크다는 연구결과도 있다(Aboulghar et al., 2001; Gjerris et al., 2008). 체외수정시 수정방법에 따른 선천성 기형을 비교한 메타 분석 연구에서 Lie 등(2005)은 미세수정술 후 태아에서 고식적 체외수정(IVF)에 비해 RR 1.12 (95% CI, 0.97~1.28), Wen 등(2012)은 RR 0.95 (95% CI, 0.83~1.10)로 양군간의 통계적 차이는 없다고 보고하였다. 한편 덴마크의 코호트 연구에서는 체외수정시 이용된 정자의 채취방법 및 수정방법에 따른 선천성 기형률을 비교하였는데 고환 조직/부고환 정자 채취술(testicular sperm extraction, TESE/percutaneous epididymal sperm aspiration, PESA)을 통한 정자를 이용한 미세수정술 후 7.73%, 사정정자(ejaculated sperm)를 이용한 미세수정술 후 9.48%, 고식적 체외수정(conventional IVF) 후 8.34%, 자연임신에서 8.05%로 전체 기형의 발생빈도에는 차이가 없었으나, 남성불임의 정도가 심할수록 단태 남아에서 심장기형(자연임신 1.05%, IVF 1.36%, ICSI with ejaculate 1.73%, ICSI with TESE/PESA 3.62%) 및 요도하열, 잠복고환(자연임신 0.38%, IVF 0.50%, ICSI with ejaculate 0.81% ICSI with TESE/PESA 1.45%)의 빈도는 높아지는 경향을 보였다(Fedder et al., 2013).

2) 수정란의 배양일(Blastocyst vs. cleavage-stage embryo transfer)

체외 수정된 수정란은 인큐베이터에서 배양 후 2일째부터 5일째 사이에 자궁 내에 이식한다. 5일 배양 후 발달한 배아를 배반포 (blastocyst)라고 하며 체외에

서 더 장시간 배양되기 때문에 기형의 위험성이 더 클 것으로 우려되기도 하는데, Källén 등(2010)은 난할 배아(cleavage-stage, 2~3일 배양) 보다 배반포 이식 후 선천성 기형의 위험이 더 높다고 하였고(4.0% vs. 4.9%, OR 1.33, 95% CI 1.01~1.75), Wikland 등(2010)은 차이가 없다고 보고하였다. 그러나 이에 대한 자료는 아직 충분하지 않아 더 많은 연구가 필요한 상태이다.

3) 보조부화술 (Assisted hatching) 및 할구 생검 (Blastomere biopsy)

보조부화술이란 배아의 착상물을 향상시키기 위해 이식 전에 레이저 혹은 약물을 이용하여 배아의 투명대(zona pellucida)에 구멍을 만들어 줌으로써 부화과정을 용이하게 하는 시술을 말한다. 체외수정 시술 후 반복적 착상실패 혹은 투명대가 두꺼울 때 한정적으로 행해지며 보조부화술이 선천성 기형에 끼치는 영향에 대한 자료는 아직 부족한 편이다. 최근 일본에서 체외수정 시술 후 임신 22주 이상 유지된 72,125건을 대상으로 비교한 결과, 선천성 기형의 빈도가 보조부화술을 시행한 경우 1.36%, 시행하지 않은 경우 1.50%로 양군 간의 차이가 없었으며(aOR 0.91, 95% CI 0.79~1.05), 기형의 장기별 유형에 따른 차이도 보이지 않았다(Jwa et al., 2015).

부모의 유전 질환 및 염색체 이상이 유전되는 것을 예방하기 위해 착상전 유전진단(Preimplantation genetic diagnosis, PGD)을 시행할 때 8세포기의 배아에서 한 개 혹은 두 개의 할구를 생검할 수 있다. 이 경우 배아의 발달에 영향을 끼치지 않을까 우려되는데 현재까지의 연구 결과 배아 생존율의 감소로 임신율의 저하에 연관성을 갖지만 태아의 선천성 기형과는 상관없다고 알려져 있다. 이는 배아시기의 세포가 분화전능성(totipotential)을 가지고 있기 때문에 장기 발달에는 그 영향이 적은 것으로 생각된다('All or none' effect).

4) 배아의 동결 및 해동, 동결란 이식

배아의 냉동 보존 및 해동 후 배아 이식은 1985년부

터 시행되어 왔으며 이미 확립된 체외시술 방법이다. 최근에는 오히려 신선주기(fresh cycle) 때 나타나는 호르몬의 과다 상태 및 과배란 증후군과 같은 여러 단점 때문에 동결란 이식을 주장하기도 한다. 그러나 동결 과정에 사용하는 동해방지제(cryoprotectants), 동결 및 해동과정의 온도 변화 및 동결 방법에 따른 차이가 배아의 발달 및 선천성 기형의 발생에 어떤 영향을 끼칠지 관심이다. Pelkonen 등(2014)에 따르면 선천성 기형의 빈도가 동결란 이식 때 4.2%, 신선 배아 이식 때 4.5%로 차이가 없고(aOR 0.95, 95% CI 0.71~1.27), 자연임신군(3.2%)에 비해 높았다(aOR 1.24, 95% CI 1.05~1.47). 이제까지 진행된 연구 결과 체외수정 후 신선 배아 이식과 동결 배아 이식에 따른 선천성 기형의 발병률에 차이는 없는 것으로 보고된다. 오히려 동결란 이식 후 신선 배아 이식주기에 비해 조산율에는 차이가 없으나 저체중아 빈도는 낮고 출생체중이 더 크다는 연구도 있어 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 보인다.

5) 유전체 각인(Imprinting disorders)

2000년대 초반에 몇몇 논문에서 체외수정 시술 후 출생한 아이에서 Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS)을 보고하면서 체외수정 시술과 유전체 각인(Imprinting disorders)의 위험성에 대해 대두되었다(Cox et al., 2002). 이제까지의 역학 연구를 종합하면 체외수정 시술(IVF/ICSI) 후 BWS의 위험률은 의미 있게 증가하고(RR 5.2, 95% CI 1.6~7.8), Angelman syndrome (AS), Prader-Willi syndrome (PWS), retinoblastoma의 발생과는 연관되지 않는 것으로 보인다(Vermeiden & Bernardus, 2013). 그러나 유전체 각인 질환들은 발병률이 10,000명에서 30,000명 중 한 명으로 매우 드물고, 난임 부부가 갖는 유전적 위험인자를 고려하지 않고 일반 가임 인구와 비교한 연구라는 점, 체외수정 과정과 유전자의 메틸화 오류 및 각인 등 직접적인 인과관계를 설명할 수 있는 근거는 아직 부족한 상태로 향후 이에 관한 연구가 필요한 실정이다.

5. 연구의 한계점

보조생식술을 포함한 난임 치료와 선천성 기형 발생의 연관성을 연구한 지금까지의 문헌들은 다음과 같은 한계점이 있어 명확한 결론을 내리기 쉽지 않다.

첫째, 선천성 기형에 대한 분류가 문헌마다 일치하지 않는다는 점이다. 주기형(Major malformation)과 부기형(minor malformation)의 정의가 논문마다 상이하고 기관별 기형의 비교에서도 발생빈도가 매우 낮아서 통계적 의미를 갖기가 어렵다.

둘째, 많은 논문에서 단태아와 쌍태아를 구분하지 않고 분석함으로써 쌍태아가 갖는 조산 및 쌍태아 수혈 증후군과 같은 특이 사항을 고려하지 않았다. 쌍태아를 별도로 분석한 몇몇 연구에서는 자연임신과 비교할 때 보조생식술 후 쌍태아에서 선천성 기형의 유병률이 증가하지 않는 것으로 보고하고 있다.

셋째, 확인치우침(ascertainment bias)이 존재한다. 대개 보조생식술 후 출생한 아이들은 자연임신에 비해 부모들이 병원에 자주 방문하게 되고 따라서 기형에 대한 보고가 높음에 반해 자연임신의 경우 진단이 늦어지거나 아예 보고가 되지 않을 수 있다.

넷째, 대조군의 설정에 따른 차이가 있다. 앞서 언급한 난임 자체의 내재된 요인으로 인한 기형 발생을 고려한다면 난임 치료 방법 자체에 의한 기형 발생 위험을 알아보기 위해서는 정상 가임 자연 임신군이 아닌 1년 이상의 난임 기간을 갖는 난임 환자를 대조군으로 설정해야 한다. 그러나 현재까지 보고된 다수의 연구에서는 이 점이 간과되었다.

결론

일반적으로 정상 자연 임신에서는 2~3%, 보조생식술 후에 3~4%의 기형아 출산 빈도를 보인다. 자연 임신에 비해 난임 치료 후 요도하열, 일부 심장기형 및 유전체 각인 질환 등의 빈도가 높아 보인다. 그러나 난임 치료와 선천성 기형 발생 위험도에 대한 연관성을 알고

자 할 때, 가임 부부에 비해 난임 부부가 갖는 유전적, 내분비적 원인으로 인한 영향을 고려해야 할 것으로 보이며, 체외수정 시술과 기형 발생과의 연관성에 대한 연구는 여러 가지 제한점을 가지고 있어 현재까지의 문헌으로 과배란으로 인한 약물 효과 혹은 호르몬 차이, 수정 및 배아 발달을 위해 체외에서 시행되는 여러 과정에 의한 영향에 대해서는 아직 뚜렷한 결론을 내기 어려워 보인다. 다만 과거에 비해 최근에 체외수정 시술 후 조산이나 여러 주산기 합병증은 감소하고 기형아 발생 역시 감소하는 추세이며 체외수정 시술 후 태어난 대부분의 아이가 건강하고 추적연구에서 정상적인 발달을 보인다는 점은 강조되어야 할 것이다.

참고문헌

- Aboulghar H, Aboulghar M, Mansour R, Serour G, Amin Y, Al-Inany H. A prospective controlled study of karyotyping for 430 consecutive babies conceived through intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2001;76:249-53.
- Biljan MM, Hemmings R, Brassard N. The outcome of 150 babies following the treatment with letrozole or letrozole and gonadotropins. *Fertil Steril* 2005;84(Suppl 1):S95-231.
- Cox GF, Bürger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, et al. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am J Hum Genet* 2002;71:162-4.
- Croen LA, Shaw GM. Young maternal age and congenital malformations: a population-based study. *Am J Public Health* 1995;85:710-3.
- Diamond MP, Legro RS, Coutifaris C, Alvero R, Robinson RD, Casson P, et al. NICHD Reproductive Medicine Network. Letrozole, Gonadotropin, or Clomiphene for Unexplained Infertility. *N Engl J Med* 2015;373(13):1230-40.
- El-Chaar D, Yang Q, Gao J, Bottomley J, Leader A, Wen SW, et al. Risk of birth defects increased in pregnancies conceived by assisted human reproduction. *Fertil Steril* 2009;92(5):1557-61.
- Fedder J, Loft A, Parner ET, Rasmussen S, Pinborg A. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after ICSI with testicular or epididymal sperm: a controlled national cohort study.

- Hum Reprod 2013;28(1):230–40.
- Greenland S, Ackerman DL. Clomiphene citrate and neural tube defects: a pooled analysis of controlled epidemiologic studies and recommendations for future studies. *Fertil Steril* 1995;64:936–41.
- Heisey AS, Bell EM, Herdt-Losavio ML, Druschel C. Surveillance of congenital malformations in infants conceived through assisted reproductive technology or other fertility treatments. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2015;103(2):119–26.
- Jwa J, Jwa SC, Kuwahara A, Yoshida A, Saito H. Risk of major congenital anomalies after assisted hatching: analysis of three-year data from the national assisted reproduction registry in Japan. *Fertil Steril* 2015;104(1):71–8.
- Källén B, Finnström O, Nygren KG, Olausson PO. In vitro fertilization (IVF) in Sweden: risk for congenital malformations after different IVF methods. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005;73:162–9.
- Källén B, Finnström O, Lindam A, Nilsson E, Nygren KG, Otterblad PO. Congenital malformations in infants born after in vitro fertilization in Sweden. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2010;88(3):137–43.
- Källén B, Finnström O, Lindam A, Nilsson E, Nygren KG, Otterblad PO, et al. Blastocyst versus cleavage stage transfer in in vitro fertilization: differences in neonatal outcome? *Fertil Steril* 2010;94:1680–3.
- Klemetti R, Gissler M, Sevón T, Koivurova S, Ritvanen A, Hemminki E. Children born after assisted fertilization have an increased rate of major congenital anomalies. *Fertil Steril* 2005;84:1300–7.
- Lee GH, Song HJ, Lee KS, Choi YM. Current status of assisted reproductive technology in Korea, 2011; Committee for Assisted Reproductive Technology, Statistics, Korean Society for Assisted Reproduction. *Clin Exp Reprod Med* 2016;43(1):38–43.
- Lie RT, Lyngstadaas A, Ørstavik KH, Bakketeig LS, Jacobsen, Tanbo T. Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2005;34:696–701.
- Meijer WM, de Jong-Van den Berg LT, van den Berg MD, Verheij JB, de Walle HE. Clomiphene and hypospadias on a detailed level: signal or chance? *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2006;76(4):249–52.
- Pelkonen S, Hartikainen AL, Ritvanen A, Koivunen R, Martikainen H, Gissler M, et al. Major congenital anomalies in children born after frozen embryo transfer: a cohort study 1995–2006. *Hum Reprod* 2014;29:1552–7.
- Pinborg A, Henningsen AK, Malchau SS, Loft A. Congenital anomalies after assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2013;99(2):327–32.
- Reefhuis J, Honein MA, Schieve LA, Rasmussen SA, National Birth Defects Prevention Study. Use of clomiphene citrate and birth defects, National Birth Defects Prevention Study, 1997–2005. *Hum Reprod* 2011;26:451–7.
- Rimm AA, Katayama AC, Katayama KP. A meta-analysis of the impact of IVF and ICSI on major malformations after adjusting for the effect of subfertility. *J Assist Reprod Genet* 2011;28:699–705.
- Sagot P, Bechoua S, Ferdynus C, Facy A, Flamm X, Gouyon JB, et al. Similarly increased congenital anomaly rates after intrauterine insemination and IVF technologies: a retrospective cohort study. *Hum Reprod* 2012; 27:902–9.
- Seggers J, de Walle HE, Bergman JE, Groen H, Hadders-Algra M, Bos ME, et al. Congenital anomalies in offspring of subfertile couples: a registry-based study in the northern Netherlands. *Fertil Steril* 2015;103(4):1001–10.
- Simpson JL. Birth defects and assisted reproductive technologies. *Semin Fetal Neonatal Med* 2014;19(3):177–82.
- Sørensen HT, Pedersen L, Skriver MV, Nørgaard M, Nørgard B, Hatch EE. Use of clomifene during early pregnancy and risk of hypospadias: population based case-control study. *Br Med J* 2005; 330:126–7.
- The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Use of clomiphene citrate in infertile women: a committee opinion. *Fertil Steril* 2013;100:341–8.
- Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli R, Kabli N, Forman R, Hitkari J, et al. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2006;85:1761–5.
- Vermeiden JP, Bernardus RE. Are imprinting dis-

- orders more prevalent after human in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection? *Fertil Steril* 2013;99(3):642-51.
- Wen J1, Jiang J, Ding C, Dai J, Liu Y, Xia Y, et al. Birth defects in children conceived by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2012;97:1331-7.
- Wikland M, Hardarson T, Hillensjö T, Westin C, Westlander G, Wood M, et al. Obstetric outcomes after transfer of vitrified blastocysts. *Hum Reprod* 2010;25:1699-707.
- Zhu JL, Basso O, Obel C, Bille C, Olsen J. Infertility, infertility treatment, and congenital malformations: Danish national birth cohort. *Br Med J* 2006;333(7570):679.

K C I