



rijksuniversiteit
 groningen

Offspring of subfertile couples: neurodevelopmental outcome at preschool age

Proefschrift

ter verkrijging van de graad van doctor aan de
Rijksuniversiteit Groningen
op gezag van de
rector magnificus prof. dr. E. Sterken
en volgens besluit van het College voor Promoties.

De openbare verdediging zal plaatsvinden op
maandag 16 februari 2015 om 14.30 uur

door

Pamela Schendelaar

geboren op 2 december 1987
te Amersfoort



CHAPTER 10

Nederlandse samenvatting (Summary in Dutch)

Vijf procent van alle pasgeborenen in Europa wordt geboren na hulp bij voortplanting (kunstmatige voortplanting, assisted reproductive techniques, ART), een percentage dat nog steeds toeneemt. Dit maakt de ontwikkeling en gezondheid van kinderen die geboren zijn na ART van algemeen maatschappelijk belang. ART is geassocieerd met slechtere perinatale uitkomsten zoals een te laag geboortegewicht en vroeggeboorte. Toch lijkt ART niet geassocieerd te zijn met een slechtere neurologische ontwikkeling gedurende de eerste postnatale jaren. Echter, dit sluit een effect van ART op de lange termijn ontwikkeling niet uit. Ontwikkelingsstoornissen kunnen later in het leven tot uiting komen, als gevolg van de continue structurele en functionele ontwikkeling van het brein in de kindertijd.

In dit proefschrift wordt de neurologische ontwikkeling tot op de leeftijd van 4 jaar geëvalueerd van kinderen die geboren zijn na ART. Dit wordt gedaan door de invloed van verschillende factoren te bestuderen die verband houden met hulp bij voortplanting, zoals ovariële hyperstimulatie, de *in vitro* laboratorium procedures en de potentiële effecten van subfertiliteit. Bij de subfertiliteit wordt specifiek aandacht besteed aan drie aspecten: de aanwezigheid van een voorgeschiedenis van subfertiliteit, de onderliggende oorzaak van de subfertiliteit en de duur van de subfertiliteit in termen van tijd tot zwangerschap (time to pregnancy, TTP), als maat voor de ernst van de subfertiliteit.

Hoofdstuk 1 geeft een algemeen en beknopt overzicht van de beschikbare literatuur over de gezondheid en ontwikkeling van kinderen die geboren zijn na ART. Dit overzicht geeft aan dat ART niet geassocieerd lijkt te zijn met een slechtere ontwikkelingsneurologische uitkomst gedurende de eerste levensjaren. Echter, we zijn nog niet goed op de hoogte van de consequenties van ART en subfertiliteit-gerelateerde factoren op de neurologische ontwikkelingen van het kind op de lange termijn. In hoofdstuk 1 wordt ook het concept van hersenontwikkeling en -gevoeligheid behandeld en worden de verschillende voortplantingstechnieken die in dit proefschrift aan bod komen, beschreven. Tot slot worden de twee projecten, de Groningen ART cohort studie en de PGS studie, waarop het onderzoek van dit proefschrift is gebaseerd, geïntroduceerd.

Deel I: De Groningen ART cohort studie

Deel I evalueert primair de potentiële effecten van ovariële hyperstimulatie, de *in vitro* laboratorium procedures of de combinatie van beide op de neurologische ontwikkeling van kinderen in de voorschoolse leeftijd. Daarnaast evalueert deel I de potentiële effecten van subfertiliteit op de neurologische ontwikkeling.

In **hoofdstuk 2** worden de potentiële effecten van ART op de neurologische ontwikkeling, uitgedrukt in variatie in beweging, geëvalueerd in kinderen van het Groningen ART cohort op de leeftijd van 4, 10 en 18 maanden. Alle kinderen waren eenling en geboren na *in-vitro*fertilisatie (IVF) of intracytoplasmatische sperma-injectie (ICSI) met conventionele gecontroleerde ovariële hyperstimulatie (COH-IVF, n=68), na IVF in de gemodificeerde eigen menstruele cyclus (MNC-IVF, n=57) of na natuurlijke conceptie uit subfertiele ouderparen (Sub-NC, n=90). De neurologische ontwikkeling werd gemeten met de Infant Motor Profile (IMP), resulterend in een IMP totaal score en vijf domeinscores: variatie, variabiliteit,

symmetrie, vloeiendheid en uitvoering. De primaire uitkomstmaat was de domeinscore variatie (d.i. de grootte van het bewegingsrepertoire), een parameter die de integriteit van de corticale connectiviteit representeert. Het belangrijkste resultaat van de studie was dat COH-IVF kinderen een significant lagere gemiddelde variatie score hadden dan MNC-IVF kinderen. Een soortgelijk verschil werd niet geobserveerd tussen de twee IVF groepen in vergelijking met de Sub-NC groep. De studie concludeert dat er geen duidelijk effect kon worden aangetoond van ovariële hyperstimulatie en de *in vitro* laboratorium procedures op de bewegingsvariatie van zuigelingen.

Hoofdstuk 3 beschrijft de neurologische conditie van kinderen van het Groningen ART cohort op 2-jarige leeftijd in termen van neurologische optimaliteit (neurologische optimaliteitscore [NOS], score voor vloeiend bewegen [fluency score]) en de prevalentie van lichte neurologische disfuncties (minor neurological dysfunction, MND). Er is speciale aandacht besteed aan de potentiële effecten van de aanwezigheid van een voorgeschiedenis van subfertiliteit en de onderliggende oorzaak van subfertiliteit. Kinderen geboren uit subfertiële ouderparen (subfertiële groep, n=209) na COH-IVF (n=66), MNC-IVF (n=56), Sub-NC (n=87) en na natuurlijke conceptie uit fertiele ouderparen (referentiegroep, n=101) werden onderzocht met behulp van het neurologisch onderzoek volgens Hempel. De primaire uitkomstmaat was de fluency score, aangezien de vloeiendheid van bewegingen al is aangedaan wanneer er slechts sprake is van subtiele dysfunctie van het zenuwstelsel. Het belangrijkste resultaat van de studie was dat de fluency score, NOS en de prevalentie van MND gelijk waren in de drie subfertiële groepen. Echter, de fluency score en NOS van de drie subfertiële groepen waren hoger en de prevalentie van MND was lager in vergelijking met de referentie groep. De studie concludeert dat de neurologische conditie van 2-jarigen geboren na ART vergelijkbaar is met die van kinderen geboren na natuurlijke conceptie uit subfertiële ouderparen. Daarnaast lijkt subfertiliteit niet geassocieerd te zijn met een slechte neurologische uitkomst.

Hoofdstuk 4 beschrijft het effect van de mate van subfertiliteit, in termen van TTP, op de neurologische conditie, van de Groningen ART cohort kinderen op de leeftijd van 2 jaar. De neurologische conditie werd uitgedrukt in termen van MND en geëvalueerd met behulp van het Hempel onderzoek. Deelnemers waren eenlingen geboren uit subfertiële ouderparen (n=209). Het belangrijkste resultaat van de studie was dat TTP van ouderparen van kinderen met MND significant langer was dan dat van ouders van kinderen zonder MND. Na statistische correctie voor gestateduur, de leeftijd en het opleidingsniveau van de ouders (multivariabele logistische regressie analyse) bleef de associatie statistisch significant. De studie concludeert dat een langere TTP geassocieerd is met een suboptimale neurologische ontwikkeling in 2-jarige kinderen. Dit suggereert dat subfertiliteit en haar determinanten mogelijk betrokken zijn in het ontstaan van neurologische ontwikkelingsproblematiek.

Hoofdstuk 5 beschrijft de effecten van aspecten van ART en die van subfertiliteit op de neurologische conditie van de kinderen van het Groningen ART cohort op de leeftijd van 4 jaar, wederom in termen van neurologische optimaliteit (NOS, fluency score) en deze keer de prevalentie van complexe MND. Er werd speciale aandacht besteed aan eventuele sekse-

specifieke effecten van ART en subfertiliteit. Vierjarige eenlingen geboren uit subfertiele ouderparen (subfertiele groep, n=195), inclusief eenlingen geboren na COH-IVF (n=63), MNC-IVF (n=53) en Sub-NC (n=79) en nieuw gerekruteerde 4-jarige eenlingen die na natuurlijke conceptie geboren werden uit fertiele ouders (referentiegroep, n=98), werden onderzocht. De neurologische ontwikkeling werd wederom geëvalueerd met het Hempel onderzoek, met de fluency score als primaire uitkomstmaat. De belangrijkste resultaten van de studie waren dat de fluency score, NOS en de prevalentie van complexe MND gelijk waren in COH-IVF, MNC-IVF en Sub-NC kinderen. De neurologische conditie van kinderen geboren uit subfertiele ouders was vergelijkbaar met die van kinderen geboren uit fertiele ouders en was onafhankelijk van de onderliggende subfertiliteitsoorzaak. Er werden geen statistisch significante associaties gevonden tussen TTP en de fluency score of NOS. Er bestond echter wel een positieve correlatie tussen TTP en de prevalentie van complexe MND; een correlatie die kon worden toegeschreven aan de meisjes, bij wie de correlatie evident was. Een vergelijkbare correlatie werd niet bij de jongens gevonden. De studie concludeert dat ovariële hyperstimulatie, de *in vitro* procedure en de combinatie van beide, een voorgeschiedenis van subfertiliteit en de onderliggende subfertiliteitsoorzaak niet waren geassocieerd met een slechtere neurologische uitkomst op 4-jarige leeftijd. Een langere TTP was echter wel geassocieerd met een verhoogd risico op de complexe vorm van MND, in het bijzonder bij meisjes. Dit suggereert dat met name de ernst van de subfertiliteit en niet de aanwezigheid van subfertiliteit an sich of IVF-componenten de neurologische uitkomst negatief beïnvloeden. Meisjes zijn mogelijk vatbaarder voor het effect van ernstige subfertiliteit dan jongens.

Hoofdstuk 6 beschrijft een statistisch exploratieve benadering van de effecten van aspecten van ART en die van subfertiliteit op de cognitieve en gedragsmatige ontwikkeling van de kinderen van het Groningen ART cohort op de leeftijd van 4 jaar. Vierjarige eenlingen geboren uit subfertiele ouderparen (subfertiele groep, n=195), inclusief eenlingen geboren na COH-IVF (n=63), MNC-IVF (n=53) en Sub-NC (n=79) en nieuw gerekruteerde 4-jarige eenlingen die na natuurlijke conceptie geboren werden uit fertiele ouders (referentiegroep, n=98) werden bestudeerd. De primaire cognitieve uitkomstmaat was het totale intelligentie quotiënt (IQ), gemeten met de Kaufman Assessment Battery for Children, tweede editie (K-ABC-II); de uitkomstmaat voor gedrag was de totale probleem T-score, gemeten met de Child Behavior Checklist (CBCL). Exploratieve causale inferentie zoekalgoritmes en structurele vergelijkingsmodellen werden toegepast als statistische technieken. Anders dan traditionele statistiek maken deze technieken het mogelijk onderliggende causale mechanismen te ontrafelen en maken ze onderscheid in confounders en intermediërende effecten. De belangrijkste resultaten van de studie waren de afwezigheid van directe of indirecte causale effecten van ovariële hyperstimulatie en de *in vitro* laboratorium procedure op de cognitieve en gedragsmatige ontwikkeling in 4-jarige eenlingen geboren uit subfertiele ouders. Wel werden er directe negatieve causale effecten gevonden van zowel de ernst van de subfertiliteit in termen van TTP op de cognitie en van de aanwezigheid van een voorgeschiedenis van subfertiliteit op het gedrag. Beide effecten

werden vertekend door de leeftijd van de moeder op het moment van conceptie en het opleidingsniveau van de moeder. Daarnaast waren cognitie en gedrag direct gerelateerd aan elkaar. De studie concludeert dat de aanwezigheid van subfertiliteit en met name die van ernstige subfertiliteit – welke op zichzelf geassocieerd zijn met een hogere leeftijd en een hoger opleidingsniveau van de moeder – van negatieve invloed is op de cognitieve en gedragsmatige ontwikkeling van het kind.

Deel II: De PGS studie

Deel II evalueert het effect van preïmplantatie genetische screening (PGS) op de neurologische ontwikkeling, in termen van neuromotorische, cognitieve en gedragsmatige ontwikkeling, van 4-jarige kinderen. **Hoofdstuk 7** beschrijft deze prospectieve, onderzoekers-geblindeerde follow-up studie over kinderen geboren uit vrouwen die meededen in een multicenter gerandomiseerde klinische trial (RCT) naar het effect van IVF met of zonder PGS. Negenenveertig kinderen (21 eenlingen, 9 tweelingen) werden geboren na IVF met PGS en 64 kinderen (42 eenlingen, 11 tweelingen) werden geboren na IVF zonder PGS (controlegroep). De onderzoeksmethoden waren het Hempel onderzoek, resulterend in de fluency score (vloeiendheid van bewegingen, primaire uitkomstmaat), de NOS en de prevalentie van complexe MND; de K-ABC-II, resulterend in de totale IQ score en de CBCL, resulterend in de totale probleem T-score. Het belangrijkste resultaat van de studie is dat de neurologische ontwikkeling van PGS kinderen vergelijkbaar is met die van de controle kinderen. Echter, PGS had een andere invloed op tweelingen dan op eenlingen. De fluency score en de NOS van PGS tweelingen waren significant lager dan die van controle tweelingen. Daarnaast was PGS in tweelingen geassocieerd met een hogere sequentiële IQ score. De studie concludeert dat PGS niet van invloed lijkt te zijn op de neurologische ontwikkeling van 4-jarige eenlingen, maar dat deze mogelijk wel is geassocieerd in een andere neurologische ontwikkeling van tweelingen.

Hoofdstuk 8 bespreekt de bevindingen van de studies in dit proefschrift. De conclusie van dit proefschrift is dat ART gerelateerde aspecten zoals ovariële hyperstimulatie, de *in vitro* laboratorium procedures of de combinatie van beide niet geassocieerd zijn met een slechtere ontwikkelingsneurologische uitkomst – in termen van bewegingsvariatie, neuromotorisch functioneren, cognitie en gedrag – in eenling kinderen op de leeftijd van 4 maanden tot en met 4 jaar. Daarnaast zijn een voorgeschiedenis van subfertiliteit en de onderliggende oorzaak van subfertiliteit niet geassocieerd met een slechtere neurologische uitkomst in 2- en 4-jarige eenlingen. Echter, een langere TTP is wel geassocieerd met een verhoogd risico op het ontwikkelen van MND op 2-jarige leeftijd en complexe MND op 4-jarige leeftijd. Verder is subfertiliteit, in het bijzonder meer ernstige subfertiliteit – welke op zichzelf is geassocieerd met een hogere leeftijd en een hoger opleidingsniveau van de moeder - van negatieve invloed op de cognitieve en gedragsmatige ontwikkeling van 4-jarige eenlingen. De neurologische ontwikkeling van 4-jarige eenlingen die geboren zijn na IVF met PGS is vergelijkbaar met die van 4-jarige eenlingen die geboren zijn na IVF zonder

PGS. In tweelingen is PGS van negatieve invloed op het neuromotorisch functioneren van het kind en van positieve invloed op het sequentiële verwerken door het brein. Dit duidt op de mogelijkheid dat embryobiopsie inherent aan PGS is geassocieerd met verschillen in hersenontwikkeling op oudere leeftijd.

De sterkste punten van de Groningen ART cohort studie zijn haar prospectieve design, de unieke samenstelling van de onderzoeksgroepen en het toepassen van gestandaardiseerde, leeftijdsspecifieke en gevoelige meetinstrumenten om de neurologische ontwikkeling in kaart te brengen. Andere sterke punten van de studie zijn de blinding van de onderzoekers voor de conceptiemethode binnen de ART cohort deelnemers en de geringe postnatale uitval van deelnemers door de jaren heen (minder dan 10%). Een beperking van de studie is de wijze waarop de fertiele referentiegroep is samengesteld; deze kwam niet overeen met die van de ART cohort groepen. Daarnaast zijn de resultaten niet te generaliseren naar tweelingen, aangezien alleen eenlingen zijn onderzocht.

De sterkste punten van de PGS studie zijn de randomisatie van de deelnemers, de blinding van de onderzoekers voor de conceptiemethode en het prospectieve design van de studie. De PGS studie is de eerste follow-up studie van een RCT over PGS waarin kinderen zo lang, dat wil zeggen tot op 4-jarige leeftijd, werden gevolgd. Beperkingen zijn de relatief kleine groepsgroottes en de selectieve uitval in beide groepen.

Toekomstig onderzoek naar de lange termijn gezondheid en ontwikkeling van kinderen geboren uit subfertiele ouderparen, met of zonder ART, moet worden gecontinueerd. Dergelijk onderzoek moet worden doorgetrokken naar de schoolleeftijd en adolescentie om de lange termijn effect van ART en subfertiliteit op het zich ontwikkelende brein en het lichaam onder invloed van de puberteit op te helderen. Daarnaast verdient de potentiële associatie tussen ART en ouderlijke subfertiliteit en het voortplantingspotentieel van de nakomelingen nadere aandacht. Er moet ook aandacht zijn voor de effectiviteit en veiligheid van nieuwe technieken binnen de vruchtbaarheidsbehandelingen. Momenteel worden er nieuwe PGS technieken ontwikkeld om de nauwkeurigheid van PGS te verbeteren, in termen van timing van de biopsie (klevingsdeling- of blastocyststadium), het gebruikte screeningsmateriaal (embryonale cellen, het poollichaampje of het trophectoderm) en het aantal chromosomen dat gescreend kan worden. Een andere opkomende techniek is de terugplaatsing van ingevroren-ontdooide embryo's (frozen embryo replacement, FER). Door het toenemende terugplaatsen van slechts één embryo (single embryo transfer, eSET) zijn er meer embryo's beschikbaar voor cryopreservatie en wordt een groeiend aantal kinderen geboren na FER. De gezondheid en ontwikkeling van deze kinderen moet goed in de gaten gehouden worden, aangezien er zorgen zijn over het verhoogde risico op een te hoog geboortegewicht voor de zwangerschapsduur (large for gestational age, LGA) in vergelijking met kinderen geboren door middel van IVF zonder cryopreservatie en kinderen geboren door middel van natuurlijke conceptie.

De resultaten van dit proefschrift tonen het belang aan van langdurige follow-up van de gezondheid en ontwikkeling van kinderen die geboren zijn uit subfertiele ouderparen, met en zonder het toepassen van ART. Het monitoren en verbeteren van de veiligheid en gezondheid van de subfertiele ouderparen en hun kinderen is noodzakelijk, met name in de huidige maatschappij waar de leeftijd van de moeder ten tijde van conceptie, subfertiliteit en het toepassen van ART toenemen en vruchtbaarheidsbehandeltechnieken continu in ontwikkeling zijn.

Promotores

Prof. dr. M. Hadders-Algra

Prof. dr. M.J. Heineman

Copromotor

Dr. K.J. Middelburg

Beoordelingscommissie

Prof. dr. O.F. Brouwer

Prof. dr. S.A. Scherjon

Prof. dr. F. van der Veen