



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Development and health of 5 - 8-year-old singletons born after intracytoplasmic sperm injection.**

Knoester, M.

### **Citation**

Knoester, M. (2007, October 10). *Development and health of 5 - 8-year-old singletons born after intracytoplasmic sperm injection.*

Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/12374>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/12374>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Summary & Samenvatting

List of Abbreviations

Curriculum Vitae

# Summary

## Chapter 1. General Introduction

Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) is the technique of artificial reproduction that was introduced in 1992, mainly to overcome male factor infertility. Follow-up studies showed that children born after ICSI might have a slightly increased risk of chromosomal aberrations, congenital malformations, prematurity, and low birth weight. Whether this effect is due to the ICSI-procedure itself or to related factors such as infertility and hormonal pre-treatment, is yet unclear. No delay has been reported in neuromotor or cognitive development until the age of 5 years. The aim of the current study was to investigate the potential negative effects of ICSI in 5 - 8-year-old singleton children on their neuromotor development, cognitive development, health and psychosocial well-being. We compared the ICSI-children with children born after the established procedure of in vitro fertilisation (IVF), and with children born after natural conception (NC). To that aim, we conducted a matched controlled follow-up of singletons born between June 1996 and December 1999 following ICSI-treatment in the Leiden University Medical Center. Participation rates were 79% in the ICSI-group (n=87), 73% in the IVF-group (n=83), and not ascertainable in the NC-group (n=85).

## Chapter 2. Neuromotor Development

Neuromotor development was measured by physical examination (neurological examination according to Touwen, adapted by Hadders-Algra), by a single investigator blinded to the conception mode of the children. The prevalence of minor neurological dysfunction (MND) was similar for ICSI and IVF-children. ICSI-children showed a slight increase in MND as compared to NC-controls (crude PR 1.31 95%CI [1.02; 1.55]). This finding was partially explained by a difference in parity (adjusted PR 1.22 95%CI [0.86; 1.52]).

## Chapter 3. Cognitive Development

Similarly, we compared ICSI-singletons at age 5-8 years with IVF and NC-singletons on cognitive development. Nine trained investigators blinded to conception mode measured the children's intelligence quotients (IQ) using the short version of the Revised Amsterdam Child Intelligence Test (RAKIT). ICSI-children had slightly lower IQ-scores than IVF-children (mean score: ICSI 103 versus IVF 107, adjusted difference 3.6 [-0.8; 8.0]). We divided IQ-scores in three categories: <85, 85-115, and >115; the distribution of IQ was similar for ICSI and IVF. The difference between ICSI and NC-children was more pronounced (mean score: ICSI 103 versus NC 110, adjusted difference between 5.6 [0.9; 10.3] and 7.1 [1.7; 12.5]) and we noted a shift to lower IQ-categories following ICSI as compared with NC. Despite statistical adjustment for education and socio-economic status, selection bias may have caused or may have increased the difference found between ICSI and NC, by potential self-selection of more intelligent parents and their children in the NC-group.

## Chapter 4. Health

We studied various parameters of pregnancy, perinatal period, congenital malformations, general health, medical consumption, and growth in our cohort of 87 ICSI-singletons. Congenital malformations (dysmorphic features) and growth were assessed during a physical examination; the other variables were covered by questionnaires. We found all health parameters to be similar for ICSI and IVF-children. When comparing ICSI to NC, ICSI-children were more often born preterm (6 versus 0, p=0.014) and with low birth weight (7 versus 1, OR 7.4 [0.9; 62.5]). ICSI-mothers had more pregnancy complications (n=33 versus 18) and in-hospital deliveries (PR 1.36 [1.2; 1.5]). ICSI and NC-children were comparable for congenital malformations, general health, medical consumption, and growth. We concluded that beyond the period of pregnancy and birth, until age 5-8 years, ICSI-singletons were as healthy as singletons born after IVF and NC.

## Chapter 5. Psychosocial Well-being

Behaviour, parenting stress, and (health related) quality of life of the ICSI-cohort were scored, to provide data on psychosocial well-being at 5-8 years of age. We used standardised questionnaires (Child Behaviour Checklist, Parenting Stress Index, Dux25 Parent, Dux25 Child, TACQOL) and retrieved additional information on behavioural disorders from the questionnaire 'child health'. Four questionnaires were completed by the parents and one by the child (Dux25 Child). We found the prevalence of behavioural disorders in ICSI, IVF, and NC-children to be similar, although our sample sizes were too small to draw firm conclusions. Remarkable was the rate of 3.4% (n=3) children with autism/Autistic Spectrum Disorders in the ICSI-group. Problem behaviour as measured with the CBCL was similar among ICSI and NC-children, but higher than reported for IVF. Scores of IVF-children were also less often in the (borderline) clinical range. We have no explanation for these differences between ICSI and IVF-children or for the observation that they were mainly found in girls. Levels of parenting stress were similar in the ICSI and IVF-group; scores were lower for parents of NC-children. As compared with normal values, NC-scores were low, which may indicate the selection of NC-parents who generally experience little stress. (Health-related) quality of life scores were similar in the three conception groups. We concluded that the majority of ICSI-singletons assessed at age 5-8 showed normal psychosocial well-being.

## Chapter 6. General Discussion

In the General Discussion, we start out by discussing methodology issues: selection of NC-controls, in- or exclusion of prematurely born children, multiple observers, and confounding. We selected NC-controls from regular pre-schools and primary schools, which made the group liable to selection bias. We argue that the NC-group represented its reference population well, in spite of several limitations. The ICSI and IVF-groups were matched – amongst others – for prematurity, but in four out of six premature cases, no match could be found. We decided to exclude preterm children from the ICSI/IVF analyses, which was not in conflict with our study design. The use of multiple observers to perform the RAKIT might be seen

as a disadvantage, but we explain why our results were not affected. We also clarify the different approaches used in the separate articles (Chapter 2 to 5) to adjust for confounding factors. Adjustment should preferably be carried out when a factor is both associated with exposure and outcome and this association has both a statistical and biological character.

Recent developments in the exploration of the causal pathway from ART to outcome are described. Infertility and ART-procedures seem jointly responsible for adverse outcomes after ART. Double-embryo transfer, ovarian stimulation, and genomic imprinting are suggested to be intermediate factors following ART-procedure. Another recent development is the application of preimplantation genetic screening in ART, to improve pregnancy rates by selecting chromosomally normal embryos for implantation.

Suggestions for future research involve (i) the inclusion of a group of children born after natural conception from previously infertile couples; (ii) the inclusion of children born after controlled ovarian hyperstimulation only; (iii) focus on minor deviations in neuromotor development rather than major; (iv) reassessment of the cognitive development of ICSI-children up to age 20, with adjustment for parental IQ; (v) continuation of the follow-up on ICSI-children's health, until rare diseases and diseases that occur later in life can be detected; (vi) monitoring of the prevalence of autism and autism spectrum disorders in ICSI-children; (vii) assessment of the reproductive ability of ICSI-offspring.

## Samenvatting

### Hoofdstuk 1. Algemene Inleiding

Intracytoplasmatische sperma injectie (ICSI) is de methode van kunstmatige bevruchting die sinds 1992 wordt toegepast bij de behandeling van voornamelijk mannelijke infertiliteit. Studies waarin ICSI-kinderen werden vervolgd in de tijd hebben aangetoond dat deze kinderen een licht verhoogd risico lopen op chromosoomafwijkingen, aangeboren afwijkingen, prematuriteit en een laag geboortegewicht. Het is echter nog niet duidelijk of deze verhoogde risico's worden veroorzaakt door de ICSI-procedure zelf of door gerelateerde factoren als infertiliteit en hormonale stimulatie. De neuromotore en cognitieve ontwikkeling van ICSI-kinderen lijkt ongestoord, in elk geval tot de leeftijd van 5 jaar. Het doel van de studies beschreven in dit proefschrift was om te onderzoeken of ICSI negatieve effecten heeft op de neuromotore ontwikkeling, cognitieve ontwikkeling, gezondheid en het psychosociale welzijn van eenlingen in de leeftijdscategorie van 5 tot 8 jaar. Hiertoe ontwierpen we een vervolgstudie naar eenlingen geboren tussen 1-6-1996 en 31-12-1999 na ICSI-behandeling in het Leids Universitair Medisch Centrum. De ICSI-kinderen werden vergeleken met kinderen geboren na de gevestigde methode van in vitro fertilisatie (IVF) en met kinderen geboren na natuurlijke conceptie (NC); beide groepen werden via matching samengesteld. Deelnemers percentages waren 79% in de ICSI-groep (n=87), 73% in de IVF-groep (n=83), en niet te achterhalen in de NC-groep (n=85).

### Hoofdstuk 2. Neuromotore Ontwikkeling

De neuromotore ontwikkeling werd bepaald middels een lichamelijk onderzoek (het neurologisch onderzoek volgens Touwen, aangepast door Hadders-Algra), uitgevoerd door één onderzoeker die geblindeerd was voor de wijze van conceptie van het kind. De prevalentie van minor neurological dysfunctions (MND) was gelijk voor ICSI en IVF-kinderen. ICSI-kinderen kregen iets vaker de score MND toegekend dan NC-kinderen (ruwe PR 1.31 95%CI [1.02; 1.55]); gedeeltelijk werd dit verschil verklaard door een verschil in pariteit tussen de groepen (gecorrigeerde PR 1.22 95%CI [0.86; 1.52]).

### Hoofdstuk 3. Cognitieve Ontwikkeling

Op vergelijkbare wijze vergeleken we de ICSI-eenlingen op de leeftijd van 5-8 jaar met eenlingen geboren na IVF en NC op cognitieve ontwikkeling. Negen getrainde testassistenten die geblindeerd waren voor de conceptie-groep namen de geReviseerde Amsterdamse Kinder Intelligentie Test (RAKIT, verkorte versie) af bij de kinderen ter bepaling van het IQ. ICSI-kinderen hadden iets lagere IQ-scores dan IVF-kinderen (gemiddeld: ICSI 103 versus IVF 107, gecorrigeerde verschil: 3.6 [-0.8; 8.0]). We deelden de IQ-scores op in drie categorieën: <85, 85-115 en >115. De verdeling over deze categorieën bleek voor ICSI en IVF-kinderen gelijk. Het verschil tussen ICSI en NC-kinderen was meer uitgesproken (gemiddeld: ICSI 103 versus NC 110, gecorrigeerde verschil tussen 5.6 [0.9; 10.3] en 7.1 [1.7; 12.5]) en we zagen een verschuiving naar lagere IQ-categorieën bij ICSI vergeleken met NC. Ondanks de

statistische correctie voor opleidingsniveau en socio-ecomische status zou het verschil tussen ICSI en NC kunnen zijn ontstaan door de zelfselectie van meer intelligente ouders en hun kinderen in de NC-groep (selectie bias).

#### **Hoofdstuk 4. Gezondheid**

We onderzochten ons cohort van 87 ICSI-kinderen op parameters van zwangerschap en perinatale periode, aangeboren afwijkingen, algemene gezondheid, medische consumptie en groei. Aangeboren afwijkingen (dysmorfe kenmerken) en groei werden onderzocht tijdens het lichamelijk onderzoek; de overige variabelen werden verzameld via vragenlijsten. ICSI en IVF-kinderen waren zeer vergelijkbaar op al deze parameters van gezondheid. Bij het vergelijken van ICSI en NC bleek dat ICSI-kinderen vaker prematuur (<37 weken, n=6 versus 0, p=0.014) en met een laag geboortegewicht (<2500 gram, n=7 versus 1, OR 7.4 [0.9; 62.5]) werden geboren. ICSI-moeders hadden meer zwangerschapscomplicaties (n=33 versus 18) en ziekenhuisbevallingen (PR 1.36 [1.2; 1.5]). ICSI en NC-kinderen waren vergelijkbaar wat betreft aangeboren afwijkingen, algemene gezondheid, medische consumptie en groei. We concludeerden dat na de periode van zwangerschap en geboorte, tot de leeftijd van 5 tot 8 jaar, ICSI-eenlingen net zo gezond zijn als eenlingen geboren na IVF en NC.

#### **Hoofdstuk 5. Psychosociaal Welzijn**

In hoofdstuk 5 onderzochten we het gedrag, de ouderlijke stress en de (gezondheidgerelateerde) kwaliteit van leven van het ICSI-cohort, om inzicht te krijgen in het psychosociale welzijn. We hebben gebruik gemaakt van standaard vragenlijsten (Child Behaviour Checklist, Nijmeegse Ouderlijke Stress Index, Dux25 Parent, Dux25 Child, TACQOL) en verkregen extra informatie over het gedrag van het kind uit de vragenlijst 'gezondheid van het kind'. Vier lijsten werden ingevuld door de ouders en één door het kind (Dux25 Child). Wij vonden geen verschillen tussen ICSI, IVF en NC in gedragsproblemen gerapporteerd door de ouders, hoewel onze groepsgrootte niet voldoende was om harde conclusies te trekken. Opvallend was het percentage van 3.4% (n=3) kinderen met autisme/een autistisch spectrum stoornis in de ICSI-groep. Probleemgedrag van ICSI en NC-kinderen gemeten met de CBCL was gelijk, maar in beide gevallen hoger dan van IVF-kinderen. De scores van IVF-kinderen lagen ook minder vaak in het klinisch (grens) gebied. Wij hebben hiervoor geen verklaring, noch voor het feit dat de verschillen tussen ICSI en IVF-kinderen voornamelijk werden gevonden in meisjes. Ouderlijke stress was vergelijkbaar voor de ICSI en IVF-groep; de scores waren lager voor ouders van NC-kinderen. In vergelijking met de normwaarden waren de NC-scores laag. Dit kan wijzen op selectie van NC-kinderen waarvan de ouders weinig stress ervaren. Scores voor (gezondheidgerelateerde) kwaliteit van leven waren gelijk in de drie conceptiegroepen. We concludeerden dat de meerderheid van de ICSI-eenlingen onderzocht op 5-8 jarige leeftijd in psychosociaal welzijn niet afwijkt van IVF en NC-kinderen.

#### **Hoofdstuk 6. Algemene Discussie**

In de Algemene Discussie bespreken we eerst de methodologische onderwerpen: selectie van NC-controles, in- of exclusie van prematuur geboren kinderen, multi-pele onderzoekers en confounding. De NC-groep was samengesteld uit kinderen van reguliere kleuter- en basisscholen; dit maakte de groep vatbaar voor selectie bias. We beargumenteren waarom de NC-groep representatief is voor haar referentiepopulatie, op enkele beperkingen na. De ICSI en IVF-groep werden gematched onder andere op prematuriteit, maar voor vier van de zes premature kinderen vonden wij geen match. We besloten de premature kinderen uit te sluiten van de ICSI/IVF analyses, wat niet in conflict was met de studieopzet. Een nadeel van ons onderzoek zou kunnen zijn dat multi-pele onderzoekers verantwoordelijk waren voor de uitvoer van de RAKIT, maar in dit hoofdstuk leggen we uit waarom dit onze resultaten niet heeft beïnvloed. In de Algemene Discussie lichten we toe hoe we in de verschillende hoofdstukken (2 t/m 5) zijn omgegaan met correctie voor confounding. Correctie moet bij voorkeur worden toegepast wanneer een factor zowel is geassocieerd met de blootstelling als de uitkomst en wanneer deze associatie zowel een statistisch als biologisch karakter heeft.

Recente ontwikkelingen in de exploratie van het causale pad van ART naar uitkomsten worden besproken. Infertiliteit en ART-procedures lijken samen verantwoordelijk te zijn voor ongunstige uitkomsten na ART. Double-embryo transfer, hormonale ovariële stimulatie en genomie imprinting zouden hierin een intermediaire rol kunnen spelen. Een andere recente ontwikkeling is de toepassing van preimplantatie genetische screening bij ART. Deze techniek, waarbij specifiek embryo's zonder genetische afwijkingen worden geselecteerd voor implantatie, is gericht op het verhogen van de zwangerschapskans.

Tot slot stellen we voor om in toekomstig onderzoek (i) een groep kinderen te includeren geboren na natuurlijke conceptie uit ouders met vruchtbaarheidsproblemen; (ii) een groep kinderen te includeren geboren na gecontroleerde ovariële stimulatie; (iii) de nadruk te leggen op kleine neuromotore afwijkingen, meer dan op grote; (iv) de cognitieve ontwikkeling van ICSI-kinderen te vervolgen tot de leeftijd van 20 jaar, met correctie voor ouderlijk IQ; (v) het vervolgonderzoek naar de gezondheid van ICSI-kinderen voort te zetten totdat zeldzame ziektes en ziektes die pas later in het leven tot expressie komen kunnen worden ontdekt; (vi) de prevalentie van autisme en autisme spectrum stoornissen in ICSI-kinderen te monitoren; en (vii) de vruchtbaarheid van ICSI-nakomelingen te onderzoeken.

## List of Abbreviations

ADHD	Attention Deficit Hyperactivity Disorder
ADD	Attention Deficit Disorder
ANOVA	ANalysis Of VARIance
ART	Artificial Reproductive Techniques
ASD	Autistic Spectrum Disorder
ATZ	AsthenoTeratooligoZospermia
BMI	Body Mass Index
CBCL	Child Behaviour CheckList
CBS	Central Bureau of Statistics
95%CI	95% Confidence Interval
COHS	Controlled Ovarian HyperStimulation
CP	Cerebral Palsy
DET	Double-Embryo Transfer
Dux25	Dutch Children TNO AZL Quality of Life questionnaire
FSH	Follicle Stimulating Hormone
GnRH	Gonadotrophin Releasing Hormone
hCG	human Chorionic Gonadotrophin
HRQoL	Health-Related Quality of Life
ICSI	IntraCytoplasmic Sperm Injection
ICD-10	International Classification of Diseases and Related Health Problems, tenth revision
IQ	Intelligence Quotient
IUI	IntraUterine Insemination
IVF	In Vitro Fertilisation
MND	Minor Neurological Dysfunction
NC	Naturally Conceived/Natural Conception
NOSI	Nijmeegse Ouderlijke Stress Index (= PSI)
OR	Odds Ratio
PGD	Preimplantation Genetic Diagnosis
PGS	Preimplantation Genetic Screening for aneuploidies
PR	Prevalence Ratio
PSI	Parenting Stress Index (= NOSI)
RAKIT	Revised Amsterdam Child Intelligence Test
SES	Socio-Economic Status
SET	Single-Embryo Transfer
SOI	Standaard Onderwijs Indeling
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TACQOL	TNO AZL Child Quality Of Life questionnaire
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	World Health Organisation

## Curriculum Vitae

Marjolein Knoester was born on November 20th, 1979 in Leidschendam, the Netherlands. From 1992 until 1998 she attended High School at the Marnix Gymnasium in Rotterdam. After passing her finals, she started her studies in the School of Biomedical Sciences at Leiden University. After passing the propaedeutic year cum laude in 1999, she switched to the study of Medicine at Leiden University. In 2000 she passed the propaedeutic year cum laude and she completed her master's degree in 2003.

From September 2003 until May 2007 she worked as a PhD-Student on the research project presented in this thesis in the Departments of Paediatrics and Gynaecology of the Leiden University Medical Center (promotores: F.M. Helmerhorst, J.P. Vandenbroucke, F.J. Walther, co-promotor: S. Veen). During her appointment at the Leiden University Medical Center, she also trained in Epidemiology. In June 2007 she began her internships to obtain her medical degree.

## Curriculum Vitae

Marjolein Knoester werd op 20 november 1979 geboren te Leidschendam. Vanaf 1992 volgde zij haar middelbare schoolopleiding aan het Marnix Gymnasium te Rotterdam. In 1998 behaalde zij haar gymnasiumdiploma en begon met de studie Biomedische Wetenschappen te Leiden. Na het cum laude behalen van de propedeuse in 1999, stapte zij over naar de studie Geneeskunde, eveneens aan de Universiteit Leiden. De propedeutische fase rondde zij cum laude af in 2000, waarna in 2003 het doctoraal examen werd behaald.

Van september 2003 tot mei 2007 werkte zij als promovenda op de afdelingen Kindergeneeskunde en Gynaecologie van het Leids Universitair Medisch Centrum, waarvan dit proefschrift het resultaat is (promotores: F.M. Helmerhorst, J.P. Vandenbroucke, F.J. Walther, co-promotor: S. Veen). Tijdens haar werkzaamheden in het Leids Universitair Medisch Centrum ving zij aan met de opleiding ter registratie tot Epidemioloog B. In juni 2007 begon zij met de co-schappen tot het behalen van het arts-examen.