



林苑, 南京医科大学生殖医学与子代健康全国重点实验室项目负责人, 南京医科大学公共卫生学院教授, 博士生导师。江苏省特聘教授。2017年毕业于南京医科大学, 获流行病学与卫生统计学博士学位。先后在美国印第安纳大学公共卫生学院和美国国立卫生院儿童健康和人类发展研究所开展博士后研究。2018年任美国印第安纳大学公共卫生学院流行病学系助理教授(tenure-track), 2020年任职南京医科大学。研究方向为生殖与子代健康队列研究, 获聘江苏省特聘教授, 主持国家自然科学基金项目2项, 科技部重点研发项目课题1项。研究成果以通讯或第一作者发表于*Nat Genet*、*Nat Commun*、*AJOG*、*Lancet Reg Health West Pac*等期刊。

辅助生殖技术对子代神经发育影响的研究进展

庞丽雅 林苑*

(南京医科大学生殖医学与子代健康全国重点实验室,
南京医科大学公共卫生学院儿少卫生与妇幼保健学系, 南京 211166)

摘要 辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)是近年来生殖医学领域的一项关键技术, 为众多不孕不育夫妇提供了实现生育的可能。随着该技术的广泛应用, ART子代的近远期健康受到广泛关注。该文从人群和机制研究两方面综合评述了ART对子代神经发育(包括神经发育表现和神经发育障碍性疾病)的潜在影响。现有证据表明, ART子代早期神经发育表现落后与多胎、早产及低出生体重等因素相关性更强, 尚无较强证据表明ART技术本身的直接影响, 且随着儿童神经心理的快速发展, ART子代与自然妊娠子代的差异逐渐减小。此外, 大量证据表明ART夫妇的不良生殖生育特征和产科不良结局可能是导致子代神经发育障碍性疾病风险增加的主要原因。但已有机制研究提出了ART诱导表观遗传紊乱的观点, 表观遗传改变或与ART子代智力障碍、多动症、癫痫等神经发育障碍性疾病的发生有关。该文旨在为患者以及相关临床和科研工作者提供更为全面的相关知识, 并持续推动该领域对ART安全性和技术优化的进一步思考。

关键词 辅助生殖技术; 神经发育表现; 神经发育障碍性疾病; 表观遗传

Research Progress on Neurodevelopmental Status of Progeny with Assisted Reproductive Technology

PANG Liya, LIN Yuan*

(State Key Laboratory of Reproductive Medicine and Offspring Health, Nanjing Medical University; Department of Maternal, Child and Adolescent Health, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China)

收稿日期: 2024-01-20

接受日期: 2024-03-04

国家自然科学基金(批准号: 82373581)和国家重点研发计划(批准号: 2021YFC2700705)资助的课题

*通信作者。Tel: 025-86868471, E-mail: yuanlin@njmu.edu.cn

Received: January 20, 2024

Accepted: March 4, 2024

This work supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82373581) and the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2021YFC2700705)

*Corresponding author. Tel: +86-25-86868471, E-mail: yuanlin@njmu.edu.cn

Abstract ART (assisted reproductive technology) has emerged as a pivotal technique in reproductive medicine in recent years, offering an opportunity to parenthood for numerous infertile couples. As the application of ART becomes more widespread, the short-term and long-term health outcomes of children conceived through ART have garnered extensive attention. This article provides a comprehensive review of the potential impacts of ART on the neurodevelopment of offspring, encompassing both population-based and mechanistic studies. The current body of evidence suggests that early neurodevelopmental delays observed in ART-conceived children are more strongly associated with factors such as multiple gestations, preterm birth, and low birth weight, rather than ART procedures. With rapid neurodevelopment in early life, the disparities between ART-conceived and naturally conceived children gradually diminish. Additionally, many studies suggest that the increased risk of neurodevelopmental disorders in ART offspring are primarily attributable to adverse reproductive characteristics and obstetric outcomes of couples undergoing ART. However, existing mechanistic studies have proposed that ART-induced epigenetic dysregulation may play an important role in the impaired neurodevelopment in ART offspring, such as intellectual disabilities, ADHD (attention deficit hyperactivity disorder), and epilepsy. This article aims to provide patients, clinicians, and researchers with a more comprehensive understanding of neurodevelopment in ART offspring, and to continuously encourage further emphasis on the safety and technological optimization of ART within the field.

Keywords assisted reproductive technology; neurodevelopmental manifestations; neurodevelopmental disorders; epigenetics

辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)已广泛用于人类不孕不育的治疗。自从1978年第一个通过ART受孕的孩子诞生以来,这项技术已助力超过1 000万儿童出生(<https://www.eshre.eu/Europe/Factsheets-and-infographics>)。随着其在全球范围内的普及,与辅助生殖治疗相关的潜在健康风险日益受到广泛关注。ART过程中的某些环节,如刺激卵巢促排卵和胚胎在组织培养基中的培育与自然受孕过程存在明显差异。已有大量研究关注ART后代与自然妊娠后代在近远期发育和健康结局方面是否存在差异。近年来,ART后代的神经发育备受关注。本研究旨在全面回顾ART子代神经发育的相关人群和机制研究成果,针对神经发育的两个关键维度——神经发育表现和神经发育障碍性疾病进行论述,探讨ART子代与自然受孕子代在神经发育方面的潜在差异以及不同ART技术对子代神经发育的潜在影响,以期推动该领域在技术和安全性方面的持续进步(图1)。

1 人群研究

1.1 神经发育表现

神经发育表现(neurodevelopmental manifestations)涵盖了个体在从出生到成年的整个发育阶段中所展现出的各种特质和能力。这一过程不仅由

生物学因素驱动,还受到环境因素的影响,多方面因素共同塑造了个体的认知、情感和社交能力。神经发育表现的评估大多涵盖认知发展、语言发展、学业成绩、精神运动发展和社会心理发展等,关注个体在不同发展阶段所达到的神经系统成熟和功能展现。我们将根据不同年龄段对相关研究进行论述。

1.1.1 婴儿期-幼儿期 一般情况下,比较ART受孕儿童与自然受孕儿童的神经发育表现的研究大多在婴幼儿期开展评估^[1]。一项基于丹麦国家出生队列的研究表明,在婴幼儿期,ART子代在认知和语言发展方面表现出轻微的延迟,尤其是卵胞质内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI),即“第二代试管婴儿”在运动发育中延迟的相对风险最高^[2]。另一项关注ART子代三岁神经发育的研究同样观察到,与自然受孕儿童相比,ART受孕儿童认知和语言能力较差,但这种差异仅在低出生体质量的双胞胎中被观察到^[3]。此外,国内一项研究也指出,通过ART技术降生的足月儿在婴儿早期的精细运动和语言能力均不如自然受孕子代,但12月龄时相关神经发育可追赶上自然受孕儿^[4]。2023年,ACHARYA等^[5]开展的队列研究也有类似的发现,ART受孕婴儿的生长发育和神经发育在婴儿期早期可能会有所延迟,但在24月龄时已恢复正常,与自然受孕婴儿的发育水平相当。CHEN等^[6]的研究则报道了不

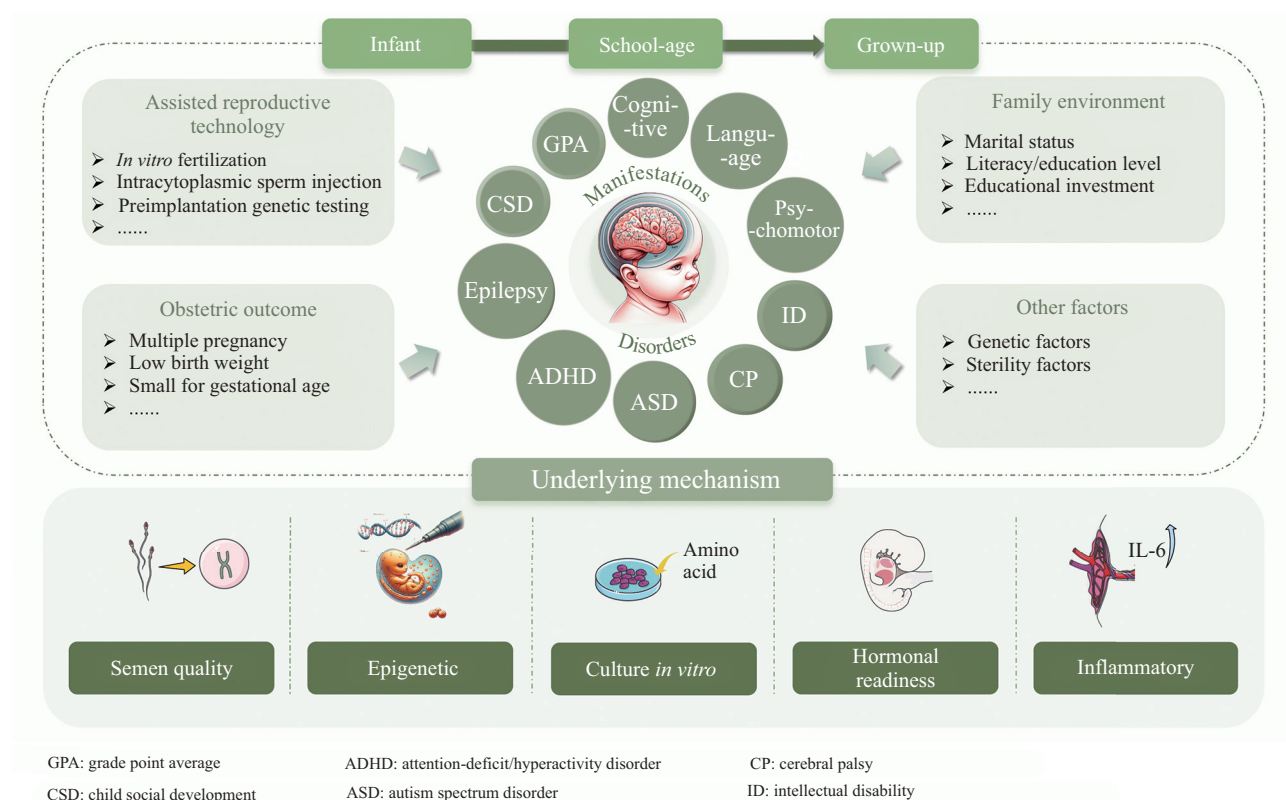


图1 辅助生殖受孕子代神经发育影响因素及潜在机制

Fig.1 Factors influencing the neurodevelopment of ART offspring and the underlying mechanisms

同治疗技术——体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)、ICSI、冷冻胚胎移植(frozen embryo transfer, FET)后出生的幼儿与自然受孕的幼儿在精细运动和粗大运动方面均无显著差异。另外也有很多研究支持了这样的结论,认为受孕方式并不会影响子代认知、语言发展和精神运动发育^[7-10]。在智力发育方面,早在1998年BOWEN等^[11]的研究发现ART子代(尤其是男孩)婴儿期轻度智力迟缓的风险增加,但该研究仅评估了89名儿童的智力发育状况;2014年,一项国内研究对266名通过ART出生的儿童进行了智力发育状况的评估。该研究发现,在婴幼儿期,ART儿童与自然受孕儿童在智力发展方面没有显著差异^[6]。大多数研究并未发现辅助受孕的婴幼儿在社会心理发展方面与自然受孕婴幼儿存在显著差异^[7,12-14]。SUTCLIFFE等^[15]的研究甚至发现ICSI受孕的幼儿行为表现更优。2023年,LI及其团队^[16]在华东地区进行的一项前瞻性队列研究中同样发现,ART子代12月龄时在社会行为发展方面略优于自然受孕的婴儿,特别是ART受孕男婴和单胎儿。

1.1.2 学龄前期-学龄期 LESLIE等^[17]的研究是

最早开展ART子代学龄前期随访的研究之一。在这一阶段,智能发展呈现出快速成熟的趋势。LESLIE及其团队发现,IVF和ICSI受孕后出生的孩子与自然受孕的孩子在智力发展方面表现相似。母亲较低的教育水平是影响孩子智商(intelligence quotient, IQ)的关键危险因素^[17]。此外,遗传因素对智力的影响似乎超过了受孕方式本身的影响。一项美国的大型研究结果显示,ART子代3~11年级时在标准测试上的表现超越了同龄对照组,这可能与接受ART治疗的家庭具有更高的社会经济地位和父母更好的教育背景有关^[18]。此外,一项综合了9项既往研究的综述同样证实,母亲的教育水平和社会经济地位是影响儿童心智发展的主要因素^[19]。在针对认知发展进行的研究中,英国一项大规模队列研究调查了ART治疗对3岁和5岁后代的影响,该研究共纳入了超过18 000名儿童,并未发现ART治疗对认知发展有不利影响^[20]。LEUNENS及其团队^[21]的多中心研究发现,ICSI技术后出生的孩子到8岁时在总体认知和语言能力方面超过了自然受孕的孩子;在运动方面,如整体运动技能、体能、平衡和球类技能等,两

组之间没有显著差异, 这种趋势在10岁时也得到了进一步的验证^[22]。近期, 挪威的一项大型队列研究纳入了92 142名单胎儿, 研究结果指出ART技术本身并未增加后代在运动、语言或社交等方面发育延迟的风险。然而, 夫妇的不孕时间与后代神经发育延迟呈正相关^[23]。一项对胚胎植入前遗传学检测(preimplantation genetic testing, PGT), 即“第三代试管婴儿”的长期随访研究发现, 相较于ICSI和IVF, 有20%的PGT儿童7~8岁时在认知和运动功能方面表现较差^[24]。然而, 更多研究认为“第三代试管婴儿”与“第一代试管婴儿”相比在认知方面没有显著差异^[25-27]。

1.1.3 青春期-成人期 随访并评估ART子代青春期乃至成人期神经发育状况的研究尚较少, 多聚焦于行为和学业表现。ZHU及其团队^[9]基于丹麦出生队列的研究发现, 7~21岁的自然受孕儿童与ART儿童在行为问题上并未呈现明显的差异。此外, GOLOMBOK等^[28]和COLPIN等^[29]的研究均强调, ART子代进入青春期后在行为、情感发展及适应技能方面与自然受孕子代相比无明显差异。值得注意的是, ART子代在青少年时期似乎展现出更为稳定的同伴关系^[30]。一项美国研究发现8~17岁的ART子代在学业测试中的表现超过了全国平均水平^[18], 而荷兰的一项队列研究也得出了类似的结论^[31]。目前仅有几项关于ART子代成年期学业表现的研究。其中一项来自澳大利亚的研究发现, 18~28岁的ART子代与自然受孕子代的表现相似^[32]。基于全国注册数据的研究显示, 当考虑到胎数的影响时, 与自然受孕的单胎儿相比, ART单胎儿在数学和物理/化学考试中表现下降; 然而, ART双胎与自然受孕双胎在学业成绩上无明显差异^[33]。

目前多数研究认为, ART并不会增加单胎足月儿神经发育异常的风险。多胎、极低出生体质量和胎龄小于32周被认为是影响ART后代神经发育不良的主要危险因素^[34-35], 而父母良好教育理念、家庭氛围良好和接触丰富的信息对婴幼儿神经发育有积极的作用^[36]。在智力发育方面, LESLIE等^[17]进一步强调了与认知能力相关的遗传因素在智力发展中的作用可能超越了受孕方式。

1.2 神经发育障碍性疾病

神经发育障碍性疾病(neurodevelopmental disorders)是指在个体的神经系统发育过程中出现的结

构、功能的持久性异常, 往往起源于早期的神经发育阶段, 通常在幼年时期开始显现。神经发育障碍性疾病更多侧重于个体在神经发育过程中出现的各种异常, 其范畴包括但不限于: 多动症、孤独症、脑瘫、癫痫、智力发育障碍以及各种运动障碍。我们将聚焦于多动症、孤独症、脑瘫、癫痫和智力发育障碍这几种研究最多的疾病, 探讨ART与神经发育障碍风险的相关性。

1.2.1 注意缺陷多动障碍 注意缺陷多动障碍(attention-deficit/hyperactivity disorder, ADHD), 简称多动症, 其主要特征包括患者注意力不集中、过度活跃和冲动行为。ADHD患者的症状可能会影响其学业表现、社交互动以及日常功能。尽管其确切病因仍在研究中, 但遗传、环境因素和神经生物学机制被认为在其发病中起到关键作用^[38]。ART后代是否存在更高的ADHD风险, 当前的研究结果尚未达成共识^[15,39-41]。2022年一项基于北欧登记系统的研究对超过116 000名ART单胎儿童进行分析, 结果显示ART儿童ADHD风险与自然受孕儿童相似^[42]。先后有几项大型人群研究在瑞典开展, 但报道的结果不尽相同。其中一项覆盖了1986年—2012年间出生的240多万名儿童的研究表明, ART与自然受孕的儿童在ADHD发病率上无显著差异; 进一步比较不同ART技术, 如ICSI与IVF、冻融与新鲜胚胎移植, 均未发现显著差异^[39]。然而, 瑞典的另一项利用国家药物处方系统数据开展的研究显示, ART子代与自然受孕子代相比ADHD风险轻度上升, 差异有统计学意义; 但差异可能主要受不孕年限影响, 而非ART本身^[43]。另一项瑞典队列随访至15岁后分析报道发现, ART子代患ADHD的风险低于自然受孕后代, 但在调整了父母特征和不育等因素后, 低风险效应被逆转^[39]。一项基于丹麦登记系统的研究观察到, 与无生育问题女性所生的子女相比, 有生育问题的女性所生子女发生精神障碍(包括ADHD)的风险增加, 认为父母不良生殖生育背景在一定程度上影响了后代ADHD的发病风险, 而并非ART本身的影响^[40]。此外, 母亲的多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)已被证实与后代患ADHD的风险增加相关^[44]。最近, FINE等^[45]的研究更进一步证实了不孕症本身与儿童ADHD风险增加有关, 而这种关联并没有随着使用辅助生殖治疗而放大。

1.2.2 孤独症谱系障碍 孤独症谱系障碍(autism

spectrum disorder, ASD)是以孤独症为代表的一组异质性疾病的总称。典型孤独症的临床特征主要表现为不同程度的社会交往障碍、语言障碍、兴趣狭窄及刻板行为方式。既往关于ASD的研究报道了相互矛盾的结果^[46-48]。SCHIEVE等^[49]的研究表明,ASD与ART或其他不孕症治疗手段无关,GRETHOR等^[50]在美国开展的另一项研究也提出了相似的结论。然而,一些研究认为ART治疗似乎是ASD的重要危险因素,与其他已经明确的ASD危险因素无关,具有独立危险效应^[51]。以色列的一项病例对照研究发现,在507例ASD中,ART受孕儿童占10.7%,约为一般人群中ART受孕占比的3.5倍^[51]。FOUNTAIN等^[52]的研究报道发现,ART与非ART儿童相比,ASD诊断率增加了1倍。然而,在考虑人口统计学因素和不良妊娠结局后,关联效应减弱,但仍具有统计学意义。另一项在丹麦进行的大规模研究覆盖了近60万名儿童,结果显示使用ART可能与子代ASD风险上升有关,但在考虑混杂因素(如产妇的年龄、教育水平、胎次、吸烟习惯、出生体重和地区等)之后,关联效应不显著^[53]。越来越多的研究发现,单胚胎移植可以降低ART后代患ASD的风险,多胎妊娠可能是ASD的独立危险因素^[54-55]。一篇纳入15项研究结果的Meta分析提示,ART后代患ASD的风险更高,然而,在单胎的亚组分析中没有发现ART与子代ASD发生风险相关^[48]。同样地,一项基于北欧登记系统的研究中对超过11万名ART单胎儿进行分析,未发现其ASD发病风险与自然受孕后代相比有显著差异^[42]。值得注意的是,不同ART技术或移植策略间的差异可能影响ASD发生风险。例如,DAVIDOVITCH等^[56]的研究指出,IVF儿童ASD风险与自然受孕儿童相当。然而,一些研究认为ICSI儿童ASD的发病率增加^[57-58]。2020年,DJUWANTONO等^[59]进行的一项Meta分析结果进一步指出,与传统的IVF相比,ICSI与ASD和学习障碍风险增加相关,即使在单胎中也是如此。此外,当前大多数研究认为,冷冻胚胎和新鲜胚胎移植不影响ASD发生风险。

1.2.3 脑性瘫痪 脑性瘫痪(cerebral palsy, CP),简称脑瘫,是指在胎儿发育过程中、出生时或婴儿期由于大脑受损或异常发育引起的神经发育障碍性疾病。脑瘫作为一种非进行性的疾病,主要影响胎儿的运动和姿势控制。ART是否会影响脑瘫的发病风险仍然备受争议。多项研究均支持ART增加后代脑

瘫发病风险的观点^[60-62]。STRMBERG等^[63]在瑞典的研究中观察到,通过ART治疗后出生的儿童在神经学上最常见的诊断为脑瘫。相较于自然受孕儿童,ART儿童患脑瘫的风险增加了3.7倍。2009年,一项纳入了41项研究的Meta分析指出,ART受孕儿童患脑瘫的风险是自然受孕儿童的2.18倍,一定程度上与ART多胎妊娠、低出生体质量和早产有关^[64]。2021年的研究进一步支持这一观点,使用ART后的多胎妊娠和早产是导致脑瘫风险增加的主要原因^[65]。另外,一项来自芬兰的研究也将ART致脑瘫的风险归因于多胎妊娠和早产所引发的脑损伤^[66]。在瑞典,随着ART治疗后双胎妊娠数量逐渐减少,新生儿脑瘫的发病率也相应下降^[67]。更有研究观察到,多胎妊娠与脑瘫风险之间存在指数级的正相关关系,即随着妊娠胎儿数量的增加,患脑瘫的风险呈指数增长^[68]。REID等^[69]的研究结果表明ART单胎受孕与脑瘫风险增加相关性不强,进一步提示了单胚胎移植策略更具安全性。然而,ZHU等^[60]基于丹麦国家出生队列进行的研究结论不尽相同。他们发现IVF或ICSI子代的脑瘫风险增加了约2倍,早产和多胎在一定程度上与风险增加有关,但不可忽略技术本身带来的影响。值得一提的是,西澳大利亚一项纳入了211 660例活产儿的研究发现,与ICSI相比,IVF子代脑瘫的风险增加,但冷冻胚胎或新鲜胚胎移植与脑瘫发生风险无关^[62]。在过去二十年中,多胞胎的出生率显著降低,与此同时,通过ART诞生的儿童患脑瘫的风险也有所下降。目前,PGT子代中出现的脑瘫病例较少,而且脑瘫的明确诊断通常在4岁之后,PGT与脑瘫发病风险的研究随访时间尚短,关联效应可能会被低估。

1.2.4 癫痫 癫痫(epilepsy)为一种慢性神经系统疾病,其主要特征为周期性发生的癫痫发作。这些发作源于大脑神经元的非正常电活动。KETTNER等^[70]2021年在丹麦开展的一项大型队列研究发现,在纳入的1 081 291例妊娠中,12 644(1.2%)名儿童患癫痫,ART子代癫痫发病风险小幅增加。同年,国内一项研究同样发现通过IVF或ICSI诞生的儿童患癫痫的风险略有增加^[71]。一项纳入了45项队列研究的Meta分析报道了相似的结论^[72]。基于丹麦国家出生队列的研究指出,ART子代癫痫发病风险增加与父母不良生殖生育特征相关^[73]。另一项在丹麦的队列研究也支持这一观点,ART子代和不孕症患者后代中特

发性广泛性癫痫的风险都有增加^[74]。然而, 另有两项研究均发现, 即使在校正混杂因素后, 癫痫和/或抽搐的发生仍然与ART相关^[75-76]。值得注意的是, 这两项研究均于2000年左右开展, 研究的时效性和背景变化可能导致研究结论不完全适用于当下。目前, ART与癫痫或惊厥之间的关联结果尚不统一, 也有部分研究认为ART不增加子代脑瘫的发生率^[77-78]。在产科不良结局得到良好控制的情况下, ART子代脑瘫风险增加是否与ART技术本身有关仍有待研究。

1.2.5 智力发育障碍 智力发育障碍(intellectual disability, ID)是一种神经发育相关的临床综合征, 其核心特征为持续存在的认知功能显著受损, 表现为智力水平低于正常范围, 并伴随日常生活技能的受限。澳大利亚的一项小样本研究比较了97例ICSI儿童和110例自然受孕儿童5岁时智力发育水平, 发现智力发育迟缓的风险无差异^[17]。国内进行的两项小样本研究也报道, 无论是单胎还是双胎, ART子代与自然妊娠子代在智力发育方面不存在显著差异^[6,79]。PLACE等^[80]在比利时进行的一项前瞻性纵向研究也有类似的发现。然而, 这些研究样本量均较小, 统计把握度尚不足。在一些样本量较大、随访时间较长的研究中有不同的发现。瑞典一项研究对1982年—1995年间借助IVF受孕的子代进行随访后发现, ART儿童智力障碍的发病风险增加^[63]。这一结果得到了SANDIN等^[58]的大规模研究的进一步支持, 他们的研究涵盖了250万例妊娠, 并进行了长达10年的随访, 结果显示ART儿童智力低下的发病率增加。同时, 这两项研究均进一步发现两组之间的差异与多胎妊娠有关, 针对单胎儿的分析并未发现显著差异。此外, 随着技术的不断更新与发展, 不同技术之间子代的智力发育差异引起社会广泛关注。GOLOMBOK等^[28]认为IVF并不影响青少年阶段的智力发育水平。HART和NORMAN^[81]的研究指出, 接受IVF治疗夫妇本身的特征以及产科并发症比IVF技术本身更能解释IVF子代存在略高的智力发育障碍的风险。然而, 与传统的IVF相比, HANSEN等^[82]的研究报道发现, ICSI受孕的儿童智力发育障碍发生风险增加, 并且与遗传原因的关联似乎更为明显。这一现象可能源于ICSI技术中的直接人工干预, 这种干预有可能改变精子和卵子的自然选择机制, 进而可能引发遗传问题。GOLDBECK等^[83]和KNOESTER等^[84]分别在德国和荷兰进行的研究同样发现, ICSI子代智力

商数显著低于IVF组或自然妊娠组。芬兰一项针对PGT儿童智力发育状况的研究未发现PGT儿童与自然受孕儿童在智力发育方面存在差异^[85]。WINTER等^[86]将PGT子代与ICSI子代以及自然妊娠子代进行比较发现, 3组儿童之间的智力水平的差异无统计学意义。目前有研究认为多胎等产科不良结局和夫妇双方的不孕不育疾病背景可能是造成ART子代智力发育障碍风险的主要因素, 仍需更多高质量研究在充分考虑混杂因素后评估ART技术与智力发育障碍之间的确切关联。

2 机制研究

对现有的人群流行病学研究结果进行总结, 尚无法完全排除ART技术本身对子代神经发育的潜在影响。一系列实验性研究初步探究了ART技术是否会影响后代的神经发育, 以及其潜在机制是什么。

已有研究表明, IVF可能会增加子鼠出现神经功能障碍的风险^[87], 并且ART可能对子鼠成年后的神经发育和行为产生长期甚至跨代的影响^[88]。GRAFODATSKAYA等^[89]提出, ART后代表现出神经发育异常主要是由于表观遗传发生改变。已有相当一部分研究支持ART诱导表观遗传紊乱的假说。最近, HÅBERG等^[90]也指出, ART操作过程的时间窗与受精和胚胎植入之间发生的广泛表观遗传重塑时间窗相吻合。这些研究发现, ART中的一些程序, 如超促排卵、卵母细胞或胚胎的体外培养、显微操作以及冷冻保存, 均会诱导表观遗传修饰改变, 增加后代甲基化异常的风险^[91-92]。胚胎在体外培养的时间越长, 表观遗传变化的风险也会增加^[58]。此前, ROV-ERE等^[93]于2019年进行的一项综述较为完善地总结了ART受孕儿童所患神经系统疾病中可能的表观遗传机制, 剖析了相关疾病在分子层面的变化, 为此领域提供了重要的理论基础。

此外, 不同ART技术对表观遗传的影响也不一致。研究表明, ICSI可以影响一些表观遗传调控基因如印记基因、X连锁基因和逆转录转座子基因的转录和甲基化。因此, 有研究认为ICSI比常规IVF带来更多表观遗传改变^[94]。在人群研究中, 由于PGT技术出现较晚, PGT儿童年龄尚小, 关于PGT子代安全的临床研究较少。PGT技术的动物模型探讨了该技术对后代的潜在影响。2009年, YU等^[95]构建了一种PGT小鼠模型, 显示PGT后代存在神经退行性疾

病的潜在风险。PGT中卵裂球活检的操作可能影响脑组织中重要蛋白的表达从而损害后代的神经发育。目前的证据表明,神经系统的发育对胚胎活检操作很敏感。DUNCAN等的^[96]研究指出,PGT胚胎的整体基因表达谱与对照组胚胎相似,卵裂球活检对胚胎及后代发育的影响不是改变基因序列造成的,而可能是表观遗传修饰和甲基化模式变化导致的。ZHAO等^[92]在PGT出生的成人脑中观察到5hmC水平增加和H19/Igf2差异甲基化区域(differentially methylated regions, DMR)的低甲基化,提示卵裂球活检可能增加神经退行性疾病的潜在风险。WU等^[97]的研究也发现了卵裂球活检后出生的小鼠神经发育异常,并且到老年时神经退行性疾病风险增加。因此,对PGT过程中卵裂球活检的安全性进行进一步全面评估至关重要。

培养基代谢物可能影响胚胎中的基因表达。一些研究发现,在培养基中加入氨基酸可增强胚胎在移植后植入和发育的能力,而培养基中铵的累积会诱发神经管畸形^[98-99]。在含有氨基酸的KSOM培养基中培育后,研究者观察到来自母本等位基因的H19表达量增加。值得注意的是,胎盘内H19表达的变化可能反映了胎盘基因表达的更广泛扰动。这种潜在的胎盘功能变化可能会进一步影响到胚胎神经系统的发育^[100]。未来的研究可进一步探究胚胎培养时加入氨基酸或缩短培养时间是否可以改善体外培养对后代神经发育的影响。

研究也发现了ART夫妇的不良生殖生育特征导致子代神经发育不良的机制。例如,患有PCOS的女性,特别是当伴有多毛症时,会增加后代的情绪和行为问题,提示子宫内雄激素暴露可能与出生后神经行为发育不良有关^[101]。同时,男性精子质量较差可能导致更高比例的胚胎染色体异常,因此通过ICSI技术所生育的儿童可能面临更高的神经发育迟缓风险^[102]。此外,动物模型中发现ART可能会对胎盘的炎症反应和氧化应激状态产生影响,在接受ART治疗的胎盘中,脂质含量显著降低,同时细胞凋亡水平和核苷酸降解活动增强,白细胞介素-6的水平显著升高^[103]。孕期母体炎症扰动对胎儿神经发育有重要效应^[104],ART可能通过这一机制介导对子代神经发育的影响。

虽然ART子代神经发育异常或障碍性疾病可能是多因素导致的,但早期胚胎发育过程中表观遗

传重编程受到干扰可能是最重要的机制之一,导致子代出现神经系统损伤、儿童期神经发育障碍性疾病以及其他出生缺陷和染色体疾病。鉴于通过ART技术孕育的孩子刚刚开始步入中年,在人群中观察ART技术的长期影响还需要较长时间,但利用动物模型开展的研究可以为我们提供线索。需要注意的是,动物模型中使用的ART疗法与实际临床操作存在许多差异。首先,与临床不同的是,动物模型中配子的提供与受孕通常采用不同个体;其次,动物和人的配子采集方法完全不同,激素刺激方案 and 使用的培养基添加剂也存在很大差异,例如表皮生长因子等通常用于动物胚胎培养,但未被批准用于人类临床治疗;此外,机制研究中通常使用青春期前的动物,而ART临床上常使用于年龄较大的女性。然而,尽管存在这些差异,动物模型提供了对特定机制(如表观遗传调控)更为全面和细致探讨的机会。此外,利用动物模型开展研究也便于观察一些与神经发育相关的表型,如行为表现等^[105]。

3 总结与展望

自1978年首例通过IVF出生的孩子以来,已经过去了四十余年^[106];1992年,ICSI技术在临床上首次应用,为男性不育问题的治疗提供了有效手段^[107];PGT技术的问世更为有遗传疾病家族史或经历多次不孕的家庭带来了希望;2016年,第四代试管婴儿技术实现突破,让卵胞质质移植技术(gamete intrafallopian transfer, GIFT)逐步走入大众视野,尽管该技术尚未在临床实现推广,但让我们看到了科技与医学领域持续创新的巨大潜力。

此外,代孕和配子捐赠等特殊的助孕手段在一些国家和地区已属于合法行为,近年来也并不罕见。通过这些方式出生的子代可能面临独特的生物学和心理社会发展挑战。配子捐赠引入了外来遗传物质,可能影响子代的遗传背景。代孕的胎儿在非生物学母亲体内发育的过程也可能面临潜在风险,有证据表明代孕母亲的神经激素可以传递给胎儿,进而影响胎儿的大脑发育、神经系统功能以及远期智力^[108]。然而,由于法律、伦理和复杂的社会因素,目前针对代孕和配子捐赠后出生子代的健康相关研究仍然匮乏。少数已开展的研究主要关注近期健康^[109],对长期神经发育、心理健康和社会适应能力的研究尚未见报道,未来亟需相关研究以填补空白。

本文中我们对 ART 对子代神经发育表现的影响进行了综述, 涵盖了从婴幼儿期到成人期的认知、行为、语言和心理等多个方面。根据目前研究的结果, 尚无强烈证据表明 ART 本身会对子代的神经发育表现产生不良影响。特别是在婴儿期, 研究观察到的 ART 子代不良神经发育风险与多胎、早产及低出生体重等因素相关性更强。随着神经心理迅速的发育, 到幼儿期, ART 子代与自然妊娠子代相比在语言和运动表现上的差异逐渐减小。而当子代进入学龄前期或学龄期, 家庭教育投资、父母的婚姻状况和文化程度等后天因素对神经发育的影响显得尤为重要, 这些因素可能超越了 ART 的影响。值得注意的是, 由于 ART 家庭通常具有更加优越的经济条件, 部分研究甚至观察到 ART 子代在行为和心理发育上表现更佳。因此, 当研究长期健康结局时, 应关注后天环境因素等带来的影响。此外, 我们总结了 ART 子代神经发育障碍性疾病相关的研究。尽管许多证据表明, ART 夫妇的不良生殖生育特征和产科不良结局可能是导致神经发育障碍风险的主要因素, 但我们不能完全排除 ART 本身带来的影响。特别是在考虑到不同 ART 技术在非生理操作方面的特异性时, 技术自身与多种神经发育障碍性疾病之间的关联仍然值得关注。目前已有的机制研究提出了 ART 诱导表观遗传紊乱的观点, 表观遗传改变与 ART 子代智力障碍、多动症、癫痫等神经发育障碍性疾病的发生都有关系^[93]。值得注意的是, ART 子代神经发育的研究结果可能受到多种混杂因素, 如父母不孕因素的干扰, 明确区分 ART 技术的直接效应是非常困难的。因此, 研究中必须考虑混杂因素带来的影响, 对结果的解读也需更加谨慎。在今后的相关研究中, 可以考虑采用多种策略来抑制混杂因素的干扰, 包括开展匹配的研究设计增强 ART 子代与自然受孕子代关键变量的一致性; 运用多变量回归分析控制已知的混杂变量; 采用分层和敏感性分析探讨不同亚组之间的差异等。此外, 利用细胞、实验动物和类器官等开展机制研究, 可以避免人群研究中不可避免的混杂因素, 验证人群研究中发现的线索, 阐明 ART 技术与子代神经发育之间是否存在因果关系, 并探索生物学机制。

综上所述, 我们必须全面理解 ART 治疗对子代健康不同时间点和不同维度的影响和相关机制。虽然社会经济因素等不可干预的外部因素常常带来不

可忽视的影响, 但研究者和临床医生仍可以通过优化技术实践来促进子代健康。例如, 持续改进 ART 夫妇的生理代谢状况, 以及形成精细化和标准化的 ART 操作流程, 最大限度地降低胚胎损伤的风险。此外, 应对胚胎培养环境进行精细调控, 尽可能模拟母体内部环境, 从而降低外界因素对胚胎发育的不良影响。同时, 为准备进行 ART 治疗的夫妇提供专业和综合的咨询和健康指导服务同样至关重要。ART 已为众多不孕不育家庭带来了希望, 但其安全性和有效性仍有广阔的进步空间。本综述归纳总结当前证据的同时, 希望能促进对这一领域的持续关注和深入探讨。

作者贡献

庞丽雅: 论文构思, 调查研究, 方法论, 可视化呈现, 写作—初稿; 林苑: 通讯作者, 论文构思, 提供资源, 指导, 写作—审核与编辑。

参考文献 (References)

- [1] PERROS P, PSARRIS A, ANTSAKLIS P, et al. Neurodevelopmental outcomes of pregnancies resulting from assisted reproduction: a review of the literature [J]. *Children*, 2022, 9(10): 1511
- [2] ZHU J L, BASSO O, OBEL C, et al. Infertility, infertility treatment and psychomotor development: the danish national birth cohort [J]. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 2009, 23(2): 98-106.
- [3] ITO A, HONMA Y, INAMORI E, et al. Developmental outcome of very low birth weight twins conceived by assisted reproduction techniques [J]. *J Perinatol*, 2006, 26(2): 130-3.
- [4] 胡丹, 汪晓霞, 崔一帆, 等. 辅助生殖技术试管足月儿神经心理行为发育的纵向研究[J]. *中国儿童保健杂志*(HU D, WANG X X, CUI Y F, et al. Longitudinal study on neuropsychological and behavioral development of test-tube full-term infants with assisted reproduction technology [J]. *Chin J Child Health Care*), 2022, 30(2): 140-3.
- [5] ACHARYYA S, ACHARYYA K. A cohort study comparing the growth and neurodevelopmental outcome of babies conceived by assisted reproductive technology with those of naturally conceived babies from birth till 24 months [J]. *Indian J Pediatr*, 2023, 90(1): 16-21.
- [6] 陈小琴, 张清学, 李予, 等. 266例辅助生殖技术出生1~3岁儿童体格和精神运动发育状况分析[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*(CHEN X Q, ZHANG Q X, LI Y, et al. Physical and psychomotor development of 266 children at 1-3 years conceived by ART [J]. *J Int Reprod Health Fam Plan*), 2014, 33(2): 113-6.
- [7] JONGBLOED-PEREBOOM M, MIDDELBURG K J, HEINEMAN M J, et al. The groningen assisted reproductive technologies cohort study: developmental status and behavior at 2 years [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(7): 2283-9.
- [8] 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): 1560-6.
- [9] CARSON C, KELLY Y, KURINCZUK J J, et al. Effect of pregnancy planning and fertility treatment on cognitive outcomes in children at ages 3 and 5: longitudinal cohort study [J]. *BMJ*, 2011, 343: d4473.
 - [10] KOIVUROVA S, HARTIKAINEN 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): 2328-36.
 - [11] BOWEN J R, GIBSON F L, LESLIE G I, et al. Medical and developmental outcome at 1 year for children conceived by intracytoplasmic sperm injection [J]. *Lancet*, 1998, 351(9115): 1529-34.
 - [12] MORIN N C, WIRTH F H, JOHNSON D H, et al. Congenital malformations and psychosocial development in children conceived by *in vitro* fertilization [J]. *J Pediatr*, 1989, 115(2): 222-7.
 - [13] SUTCLIFFE A G, TAYLOR B, SAUNDERS K, et al. Outcome in the second year of life after *in-vitro* fertilisation by intracytoplasmic sperm injection: a UK case-control study [J]. *Lancet*, 2001, 357(9274): 2080-4.
 - [14] AGARWAL P, LOH S K, LIM S B, et al. Two-year neurodevelopmental outcome in children conceived by intracytoplasmic sperm injection: prospective cohort study [J]. *BJOG*, 2005, 112(10): 1376-83.
 - [15] PUNAM K I R L, TIITINEN A, LINDBLOM J, et al. Mental health and developmental outcomes for children born after ART: a comparative prospective study on child gender and treatment type [J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(1): 100-7.
 - [16] LI W, ZHAO J, NI M, et al. Assisted reproductive technology and neurodevelopmental outcomes in offspring: a prospective birth cohort study in east China [J]. *Reprod Biomed Online*, 2023, 46(6): 983-94.
 - [17] LESLIE G I, GIBSON F L, MCMAHON C, et al. Children conceived using ICSI do not have an increased risk of delayed mental development at 5 years of age [J]. *Hum Reprod*, 2003, 18(10): 2067-72.
 - [18] MAINS L, ZIMMERMAN M, BLAINE J, et al. Achievement test performance in children conceived by IVF [J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(10): 2605-11.
 - [19] LESLIE G I. Mental development of children conceived using intracytoplasmic sperm injection. The current evidence [J]. *Minerva Ginecol*, 2004, 56(3): 247-57.
 - [20] TAKESHIGE Y, TAKAHASHI M, HASHIMOTO T, et al. Six-year follow-up of children born from vitrified oocytes [J]. *Reprod Biomed Online*, 2021, 42(3): 564-71.
 - [21] LEUNENS L, CELESTIN-WESTREICH S, BONDUELLE M, et al. Cognitive and motor development of 8-year-old children born after ICSI compared to spontaneously conceived children [J]. *Hum Reprod*, 2006, 21(11): 2922-9.
 - [22] 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): 105-11.
 - [23] MAGNUS M C, HAVDAHL A, WILCOX A J, et al. Parental fecundability and neurodevelopmental delays and difficulties in offspring [J]. *Int J Epidemiol*, 2022, 51(5): 1511-21.
 - [24] THOMAIDIS L, KITSIOU-TZELI S, CRITSELIS E, et al. Psychomotor development of children born after preimplantation genetic diagnosis and parental stress evaluation [J]. *World J Pediatr*, 2012, 8(4): 309-16.
 - [25] HEIJLIGERS M, VERHEIJDEN L M M, JONKMAN L M, et al. The cognitive and socio-emotional development of 5-year-old children born after PGD [J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(11): 2150-7.
 - [26] WINTER C, VAN ACKER F, BONDUELLE M, et al. Psychosocial development of full term singletons, born after preimplantation genetic diagnosis (PGD) at preschool age and family functioning: a prospective case-controlled study and multi-informant approach [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(5): 1122-36.
 - [27] NEKKEBROECK J, BONDUELLE M, DESMYTTERE S, et al. Socio-emotional and language development of 2-year-old children born after PGD/PGS, and parental well-being [J]. *Hum Reprod*, 2008, 23(8): 1849-57.
 - [28] GOLOMBOK S, MACCALLUM F, GOODMAN E. The "test-tube" generation: parent-child relationships and the psychological well-being of *in vitro* fertilization children at adolescence [J]. *Child Dev*, 2001, 72(2): 599-608.
 - [29] COLPIN H, BOSSAERT G. Adolescents conceived by IVF: parenting and psychosocial adjustment [J]. *Hum Reprod*, 2008, 23(12): 2724-30.
 - [30] GOLOMBOK S, OWEN L, BLAKE L, et al. Parent-child relationships and the psychological well-being of 18-year-old adolescents conceived by *in vitro* fertilisation [J]. *Hum Fertil*, 2009, 12(2): 63-72.
 - [31] WAGENAAR K, CEELEN M, VAN WEISSENBRUCH M M, et al. School functioning in 8- to 18-year-old children born after *in vitro* fertilization [J]. *Eur J Pediatr*, 2008, 167(11): 1289-95.
 - [32] HALLIDAY J, WILSON C, HAMMARBERG K, et al. Comparing indicators of health and development of singleton young adults conceived with and without assisted reproductive technology [J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(4): 1055-63.
 - [33] SPANGMOSE A L, MALCHAU S S, SCHMIDT L, et al. Academic performance in adolescents born after ART-a nationwide registry-based cohort study [J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(2): 447-56.
 - [34] 白敏, 韩宜姚, 徐巧. 辅助生殖技术受孕儿新生儿期疾病特点及神经发育预后研究[J]. 中国现代医生(BAI M, HAN Y Y, XU Q. Study of the neonatal diseases' features of infants born after assisted reproductive technology (ART) and the neurodevelopment prognosis influencing factors [J]. *China Modern Doctor*), 2018, 56(16): 53-5.
 - [35] KOMAN L A, SMITH B P, SHILT J S. Cerebral palsy [J]. *Lancet*, 2004, 363(9421): 1619-31.
 - [36] 张晓霞, 付志红, 陈海燕, 等. 辅助生殖技术双胎妊娠子代神经发育的随访研究[J]. 中国妇幼保健(ZHANG X X, FU Z H, CHEN H Y, et al. Follow-up study on neurogenesis development the offspring of twin pregnancy infant assisted reproductive technology [J]. *Matern Child Health Care China*), 2019, 34(14): 3273-6.
 - [37] 朱红敏, 袁纯辉. 儿童神经发育障碍疾病研究进展[J]. 中国当代儿科杂志(ZHU H M, YUAN C H. Recent research on neurodevelopmental disorders in children [J]. *Chin J Contemp Pediatr*), 2023, 25(1): 91-7.
 - [38] POSNER J, POLANCZYK G V, SONUGA-BARKE E. Attention-deficit hyperactivity disorder [J]. *Lancet*, 2020, 395(10222): 450-62.

- [39] WANG C, JOHANSSON A L Ü, RODRIGUEZ-WALLBERG K A, et al. Assisted reproductive techniques, adhd, and school performance [J]. *Pediatrics*, 2021, 148(1): e2020033183.
- [40] SVAHN M F, HARGREAVE M, NIELSEN T S, et al. Mental disorders in childhood and young adulthood among children born to women with fertility problems [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(9): 2129-37.
- [41] BAY B, MORTENSEN E L, KESMODEL U S. Fertility treatment and child intelligence, attention, and executive functions in 5-year-old singletons: a cohort study [J]. *BJOG*, 2014, 121(13): 1642-51.
- [42] RÖNÖ K, RISSANEN E, BERGH C, et al. The neurodevelopmental morbidity of children born after assisted reproductive technology: a nordic register study from the committee of nordic assisted reproductive technology and safety group [J]. *Fertil Steril*, 2022, 117(5): 1026-37.
- [43] KÄLLÉN A J, FINNSTRÖM O O, LINDAM A P, et al. Is there an increased risk for drug treated attention deficit/hyperactivity disorder in children born after *in vitro* fertilization [J]? *Eur J Paediatr Neurol*, 2011, 15(3): 247-53.
- [44] KOSIDOU K, DALMAN C, WIDMAN L, et al. Maternal polycystic ovary syndrome and risk for attention-deficit/hyperactivity disorder in the offspring [J]. *Biol Psychiatry*, 2017, 82(9): 651-9.
- [45] FINE A, DAYAN N, DJERBOUA M, et al. Attention-deficit hyperactivity disorder in children born to mothers with infertility: a population-based cohort study [J]. *Hum Reprod*, 2022, 37(9): 2126-34.
- [46] CONTI E, MAZZOTTI S, CALDERONI S, et al. Are children born after assisted reproductive technology at increased risk of autism spectrum disorders? A systematic review [J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(12): 3316-27.
- [47] LUNG F W, CHIANG T L, LIN S J, et al. Assisted reproductive technology has no association with autism spectrum disorders: the taiwan birth cohort study [J]. *Autism*, 2018, 22(3): 377-84.
- [48] ANDREADOU M T, KATSARAS G N, TALIMTZI P, et al. Association of assisted reproductive technology with autism spectrum disorder in the offspring: an updated systematic review and meta-analysis [J]. *Eur J Pediatr*, 2021, 180(9): 2741-55.
- [49] SCHIEVE L A, DREWS-BOTSCH C, HARRIS S, et al. Maternal and paternal infertility disorders and treatments and autism spectrum disorder: findings from the study to explore early development [J]. *J Autism Dev Disord*, 2017, 47(12): 3994-4005.
- [50] GREITHER J K, QIAN Y, CROUGHAN M S, et al. Is infertility associated with childhood autism [J]? *J Autism Dev Disord*, 2013, 43(3): 663-72.
- [51] ZACHOR D A, BEN ITZCHAK E. Assisted reproductive technology and risk for autism spectrum disorder [J]. *Res Dev Disabil*, 2011, 32(6): 2950-6.
- [52] FOUNTAIN C, ZHANG Y, KISSIN D M, et al. Association between assisted reproductive technology conception and autism in California, 1997-2007 [J]. *Am J Public Health*, 2015, 105(5): 963-71.
- [53] HVIDTJ RN D, GROVE J, SCHENDEL D, et al. Risk of autism spectrum disorders in children born after assisted conception: a population-based follow-up study [J]. *J Epidemiol Community Health*, 2011, 65(6): 497-502.
- [54] SUNDERAM S, KISSIN D M, FLOWERS L, et al. Assisted reproductive technology surveillance: United States, 2009 [J]. *MMWR Surveill Summ*, 2012, 61(7): 1-23.
- [55] Elective single-embryo transfer [J]. *Fertil Steril*, 2012, 97(4): 835-42.
- [56] DAVIDOVITCH M, CHODICK G, SHALEV V, et al. Infertility treatments during pregnancy and the risk of autism spectrum disorder in the offspring [J]. *Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2018, 86: 175-9.
- [57] KISSIN D M, ZHANG Y, BOULET S L, et al. Association of assisted reproductive technology (ART) treatment and parental infertility diagnosis with autism in ART-conceived children [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(2): 454-65.
- [58] SANDIN S, NYGREN K G, ILIADOU A, et al. Autism and mental retardation among offspring born after *in vitro* fertilization [J]. *JAMA*, 2013, 310(1): 75-84.
- [59] DJUWANTONO T, AVIANI J K, PERMADI W, et al. Risk of neurodevelopmental disorders in children born from different ART treatments: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Neurodev Disord*, 2020, 12(1): 33.
- [60] ZHU J L, HVIDTJ RN D, BASSO O, et al. Parental infertility and cerebral palsy in children [J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(12): 3142-5.
- [61] HVIDTJØRN D, GROVE J, SCHENDEL D E, et al. Cerebral palsy among children born after *in vitro* fertilization: the role of preterm delivery: a population-based, cohort study [J]. *Pediatrics*, 2006, 118(2): 475-82.
- [62] GOLDSMITH S, MCINTYRE S, BADAWI N, et al. Cerebral palsy after assisted reproductive technology: a cohort study [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2018, 60(1): 73-80.
- [63] STRÖMBERG B, DAHLQUIST G, ERICSON A, et al. Neurological sequelae in children born after *in-vitro* fertilisation: a population-based study [J]. *Lancet*, 2002, 359(9305): 461-5.
- [64] HVIDTJØRN D, SCHIEVE L, SCHENDEL D, et al. Cerebral palsy, autism spectrum disorders, and developmental delay in children born after assisted conception: a systematic review and meta-analysis [J]. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2009, 163(1): 72-83.
- [65] WANG F F, YU T, CHEN X L, et al. Cerebral palsy in children born after assisted reproductive technology: a meta-analysis [J]. *World J Pediatr*, 2021, 17(4): 364-74.
- [66] KLEMETTI R, SEV N T, GISSLER M, et al. Health of children born as a result of *in vitro* fertilization [J]. *Pediatrics*, 2006, 118(5): 1819-27.
- [67] KÄLLÉN A J, FINNSTRÖM O O, LINDAM A P, et al. Cerebral palsy in children born after *in vitro* fertilization. Is the risk decreasing [J]? *Eur J Paediatr Neurol*, 2010, 14(6): 526-30.
- [68] HVIDTJØRN D, GROVE J, SCHENDEL D, 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): 2115-23.
- [69] REID S M, JAKUES A M, SUSANTO C, et al. Cerebral palsy and assisted reproductive technologies: a case-control study [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2010, 52(7): e161-6.
- [70] KETTNER L O, MATTHIESEN N B, RAMLAU-HANSEN C H, et al. Fertility treatment with clomiphene citrate and childhood epilepsy: a nationwide cohort study [J]. *Hum Reprod*, 2021, 36(9): 2567-75.

- [71] 冯卫星, 吴沪生, 韩彤立, 等. 神经科诊治辅助生殖技术子代65例临床分析[J]. 中日友好医院学报 (FENG W X, WU H S, HAN T L, et al. Diagnosis and treatment of 65 offspring conceived through assisted reproductive technology: a Clinical Analysis in Department of Neurology(author's translation) [J]. J China-Japan Friendsh Hosp), 2021, 35(4): 226-8.
- [72] HANSEN M, KURINCZUK J J, MILNE E, et al. Assisted reproductive technology and birth defects: a systematic review and meta-analysis [J]. Hum Reprod Update, 2013, 19(4): 330-53.
- [73] 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): 215-20.
- [74] KETTNER L O, RAMLAU-HANSEN C H, KESMODEL U S, et al. Parental infertility, fertility treatment, and childhood epilepsy: a population-based cohort study [J]. Paediatr Perinat Epidemiol, 2016, 30(5): 488-95.
- [75] ERICSON A, NYGREN K G, OLAUSSON P O, et al. Hospital care utilization of infants born after IVF [J]. Hum Reprod, 2002, 17(4): 929-32.
- [76] GUNBY J, DAYA S. Assisted reproductive technologies (ART) in Canada: 2001 results from the Canadian ART Register [J]. Fertil Steril, 2005, 84(3): 590-9.
- [77] 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): 311.
- [78] BELLINI C, BUONOCORE G. Assisted procreation: too little consideration for the babies [J]? Ethics Med, 2006, 22(2): 93-8.
- [79] 郑思锐, 任榕娜, 刘芸. 人工助孕子代的体格和神经精神发育状况[J]. 中华围产医学杂志(ZHENG S R, REN R N, LIU Y. Physiological and neuropsychological development in children born after assisted reproductive technology [J]. Chin J Perinat Med), 2012, 15(12): 710-15.
- [80] PLACE I, ENGLERT Y. A prospective longitudinal study of the physical, psychomotor, and intellectual development of singleton children up to 5 years who were conceived by intracytoplasmic sperm injection compared with children conceived spontaneously and by *in vitro* fertilization [J]. Fertil Steril, 2003, 80(6): 1388-97.
- [81] HART R, NORMAN R J. The longer-term health outcomes for children born as a result of IVF treatment. Part II--mental health and development outcomes [J]. Hum Reprod Update, 2013, 19(3): 244-50.
- [82] HANSEN M, GREENOP K R, BOURKE J, et al. Intellectual disability in children conceived using assisted reproductive technology [J]. Pediatrics, 2018, 142(6): e20181269.
- [83] GOLDBECK L, GAGSTEIGER F, MINDERMAN I, et al. Cognitive development of singletons conceived by intracytoplasmic sperm injection or *in vitro* fertilization at age 5 and 10 years [J]. J Pediatr Psychol, 2009, 34(7): 774-81.
- [84] KNOESTER M, HELMERHORST F M, VANDENBROUCKE J P, et al. Cognitive development of singletons born after intracytoplasmic sperm injection compared with *in vitro* fertilization and natural conception [J]. Fertil Steril, 2008, 90(2): 289-96.
- [85] 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): 376-81.
- [86] WINTER C, VAN ACKER F, BONDUELLE M, et al. Cognitive and psychomotor development of 5- to 6-year-old singletons born after PGD: a prospective case-controlled matched study [J]. Hum Reprod, 2014, 29(9): 1968-77.
- [87] BONETTI N R, MEISTER T A, SORIA R, et al. *In vitro* fertilization exacerbates stroke size and neurological disability in wildtype mice [J]. Int J Cardiol, 2021, 343: 92-101.
- [88] EL HAJJ N, HAAF T. Epigenetic disturbances in *in vitro* cultured gametes and embryos: implications for human assisted reproduction [J]. Fertil Steril, 2013, 99(3): 632-41.
- [89] GRAFODATSKAYA D, CYTRYNBAUM C, WEKSBERG R. The health risks of ART [J]. EMBO Rep, 2013, 14(2): 129-35.
- [90] HÅBERG S E, PAGE C M, LEE Y, et al. DNA methylation in newborns conceived by assisted reproductive technology [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1896.
- [91] HUFFMAN S R, PAK Y, RIVERA R M. Superovulation induces alterations in the epigenome of zygotes, and results in differences in gene expression at the blastocyst stage in mice [J]. Mol Reprod Dev, 2015, 82(3): 207-17.
- [92] ZHAO H C, ZHAO Y, LI M, et al. Aberrant epigenetic modification in murine brain tissues of offspring from preimplantation genetic diagnosis blastomere biopsies [J]. Biol Reprod, 2013, 89(5): 117.
- [93] LA ROVERE M, FRANZAGO M, STUPPIA L. Epigenetics and neurological disorders in ART [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(17): 4196.
- [94] FERNÁNDEZ-GONZALEZ R, MOREIRA P N, PÉREZ-CRESPO M, et al. Long-term effects of mouse intracytoplasmic sperm injection with DNA-fragmented sperm on health and behavior of adult offspring [J]. Biol Reprod, 2008, 78(4): 761-72.
- [95] YU Y, WU J, FAN Y, et al. Evaluation of blastomere biopsy using a mouse model indicates the potential high risk of neurodegenerative disorders in the offspring [J]. Mol Cell Proteomics, 2009, 8(7): 1490-500.
- [96] DUNCAN F E, STEIN P, WILLIAMS C J, et al. The effect of blastomere biopsy on preimplantation mouse embryo development and global gene expression [J]. Fertil Steril, 2009, 91(4 Suppl): 1462-5.
- [97] WU Y, LV Z, YANG Y, et al. Blastomere biopsy influences epigenetic reprogramming during early embryo development, which impacts neural development and function in resulting mice [J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71(9): 1761-74.
- [98] LANE M, GARDNER D K. Increase in postimplantation development of cultured mouse embryos by amino acids and induction of fetal retardation and exencephaly by ammonium ions [J]. J Reprod Fertil, 1994, 102(2): 305-12.
- [99] LANE M, GARDNER D K. Amino acids and vitamins prevent culture-induced metabolic perturbations and associated loss of viability of mouse blastocysts [J]. Hum Reprod, 1998, 13(4): 991-7.
- [100] ECKER D J, STEIN P, XU Z, et al. Long-term effects of culture of preimplantation mouse embryos on behavior [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(6): 1595-600.
- [101] ROBINSON S L, GHASSABIAN A, SUNDARAM R, et al. The associations of maternal polycystic ovary syndrome and hirsutism with behavioral problems in offspring [J]. Fertil Steril, 2020, 113(2): 435-43.

- [102] MAGLI M C, GIANAROLI L, FERRARETTI A P, et al. Paternal contribution to aneuploidy in preimplantation embryos [J]. *Reprod Biomed Online*, 2009, 18(4): 536-42.
- [103] RAUNIG J M, YAMAUCHI Y, WARD M A, et al. Placental inflammation and oxidative stress in the mouse model of assisted reproduction [J]. *Placenta*, 2011, 32(11): 852-8.
- [104] HAN V X, PATEL S, JONES H F, et al. Maternal immune activation and neuroinflammation in human neurodevelopmental disorders [J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(9): 564-79.
- [105] BEILBY K H, KNEEBONE E, ROSEBOOM T J, et al. Offspring physiology following the use of IVM, IVF and ICSI: a systematic review and meta-analysis of animal studies [J]. *Hum Reprod Update*, 2023, 29(3): 272-90.
- [106] STEPTOE P C, EDWARDS R G. Birth after the reimplantation of a human embryo [J]. *Lancet*, 1978, 2(8085): 366.
- [107] PALERMO G, JORIS H, DEVROEY P, et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte [J]. *Lancet*, 1992, 340(8810): 17-8.
- [108] SIMOPOULOU M, SFAKIANOUDIS K, TSIIOULOU P, et al. Risks in surrogacy considering the embryo: from the preimplantation to the gestational and neonatal period [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018(6287507).
- [109] SÖDERSTRÖM-ANTTILA V, WENNERHOLM U B, LOFT A, et al. Surrogacy: outcomes for surrogate mothers, children and the resulting families-a systematic review [J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 22(2): 260-76.