

Mục lục

Y HỌC SINH SẢN TẬP 53 – QUÝ I/2020

CHẨN ĐOÁN TIỀN SẢN – Y HỌC BÀO THAI

- 05 Đánh giá nguy cơ di truyền trước mang thai
BS. Thái Doãn Minh, BS. Hồ Ngọc Anh Vũ
- 10 Giá trị của siêu âm tầm soát dị tật thai ở quý 3
BS. CKI Lê Phước Hóa
- 12 Siêu âm đánh giá tuyến ức thai nhi
BS. Nguyễn Văn Hiền, BS. Võ Tá Sơn
- 19 Giá trị của siêu âm Doppler ống tĩnh mạch trong siêu âm thai
TS. BS. Nguyễn Thị Hồng, PGS. TS. Lê Hoàng, GS. TS. Phan Trường Duyệt
- 27 NIPT và sàng lọc dị bội đầu tay còn những rào cản nào?
BS. Nguyễn Hà Ngọc Thiên Thanh, ThS. BS. Thân Trọng Thạch
- 30 Đánh giá sớm nguy cơ đái tháo đường thai kỳ: sàng lọc kết hợp quý một và phòng ngừa
BSNT. Trần Huy Phan, TS. BS. Trần Nhật Thăng
- 34 Hội chứng truyền máu song thai cho nhận
BS. Trần Doãn Tú
- 38 Kỹ thuật can thiệp bào thai bằng kẹp tắc dây rốn ở các cặp song thai một nhau có biến chứng
ThS. BS. Phạm Công Toàn, ThS. BS. Trịnh Nhật Thư Hương, TS. BS. Trần Nhật Thăng, TS. BS. Nguyễn Hồng Hoa
- 42 Dự phòng tiền sản giật bằng Aspirin liều thấp: khuyến cáo cập nhật BS. CKI Bùi Quang Trung
- 46 Nhau tiền đạo: chẩn đoán và quản lý lâm sàng dựa trên siêu âm BS. Lê Đức Vinh, BS. Võ Tá Sơn
- 50 Phù thai BS. CKI Lê Tiểu My
- 53 Chẩn đoán trước sinh hội chứng Joubert
BS. Võ Tá Sơn, TS. Đỗ Ngọc Hân, TS. Giang Hoa, TS. BS. Trần Nhật Thăng
- 57 PGT-A trên bệnh nhân lớn tuổi: nên hay không nên BS. Lê Khắc Tiến, BS. Lê Thị Hà Xuyên
- 62 Xét nghiệm tiền sản ở thai kỳ sau chuyển phôi đã được xét nghiệm di truyền tiền làm tổ
ThS. BS. Nguyễn Khánh Linh
- 65 Phôi khám trong giai đoạn phát triển tiền làm tổ
CNSH. Hồ Lan Trâm, ThS. Lưu Thị Minh Tâm, ThS. Nguyễn Ngọc Quỳnh
- 70 Chẩn đoán tiền sản phôi tiền làm tổ không xâm lấn đột phá hay thiếu khả thi?
BS. Nguyễn Hà Ngọc Thiên Thanh, ThS. BS. Thân Trọng Thạch
- 74 Hỗ trợ sinh sản ở phụ nữ lớn tuổi
BS. Mai Đức Tiến
- 78 Thượng di truyền (epigenetics) và những vấn đề liên quan đến công nghệ hỗ trợ sinh sản (ART)
ThS. Lê Thị Thu Thảo, CNSH. Nguyễn Thị Minh Anh
- 83 Việc tuân thủ chế độ ăn Địa Trung Hải và tỷ lệ thành công thụ tinh ống nghiệm ở những phụ nữ mong con không béo phì (kỳ 2)
BS. CKI Tăng Quang Thái, BS. Trần Chiêu Thiên Phúc ThS. BS. Trần Bảo Ngọc

Journal Club

- 91 Dự đoán sinh non dựa trên nồng độ dấu chỉ sinh học mới - Endocan huyết thanh
- 92 Bác sĩ nội tiết sinh sản là “người canh cổng” cho việc chăm sóc sức khỏe sinh sản nam giới ở Bắc Mỹ: Kết quả từ khảo sát về đặc điểm và mô hình tham chiếu của nam giới đến bác sĩ nam khoa để kiểm tra sức khỏe sinh sản
- 95 Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng của những người đàn ông hiếm muộn
- 97 Tổng quan mới 2019 cập nhật về hệ thống time-lapse trong nuôi cấy và đánh giá phôi trong điều trị thụ tinh trong ống nghiệm

Mời viết bài Y học sinh sản



Y học sinh sản tập 55 - Quý III/2020
Chủ đề “Các tiến bộ của siêu âm và chẩn đoán hình ảnh trong sản phụ khoa”
Vui lòng nộp bài trước 30/5/2020



Y học sinh sản tập 56 - Quý IV/2020
Chủ đề “Thời điểm và các biện pháp chấm dứt thai kỳ”
Vui lòng nộp bài trước 30/8/2020

THƯỢNG DI TRUYỀN (EPIGENETICS) VÀ NHỮNG VẤN ĐỀ LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG NGHỆ HỖ TRỢ SINH SẢN (ART)

ThS. Lê Thị Thu Thảo, CNSH. Nguyễn Thị Minh Anh

Bệnh viện Mỹ Đức Tân Bình

LỜI MỞ ĐẦU

Ngày nay, khi kỹ thuật hỗ trợ sinh sản ngày càng tiến bộ và mang lại kết quả cao về mặt lâm sàng thì người ta lại quan tâm nhiều hơn đến các vấn đề về di truyền và thượng di truyền (epigenetics) trên phôi. Đặc biệt, một số nghiên cứu hiện tại nhận thấy rằng các yếu tố trong quy trình thụ tinh ống nghiệm như: môi trường nuôi cấy, kích thích buồng trứng, hỗ trợ phôi thoát màng hay sinh thiết phôi... có thể làm tăng nguy cơ trẻ sinh ra mắc các bệnh về rối loạn in dấu di truyền như hội chứng Beckwith, hội chứng Angelman, ung thư... Tuy nhiên, giữa các nhà khoa học vấn đề này còn nhiều tranh cãi. Vì vậy, bài viết này có mục tiêu giải thích về thượng di truyền và những ảnh hưởng của ART lên thượng di truyền của phôi qua các khía cạnh:

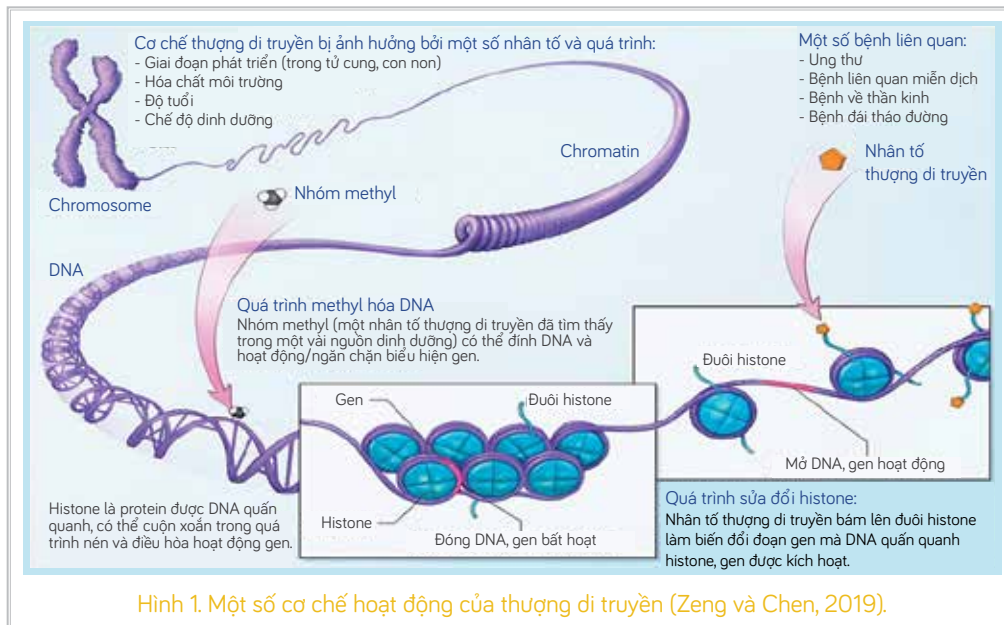
- Hiểu được khái niệm về thượng di truyền.
- Mối liên quan của thượng di truyền trong sự phát sinh giao tử và tiền làm tổ của phôi.
- Bệnh liên quan đến rối loạn di truyền trong hỗ trợ sinh sản.
- Cuối cùng, các yếu tố nào của quy trình thụ tinh trong ống nghiệm ảnh hưởng đến thượng di truyền?

KHÁI NIỆM THƯỢNG DI TRUYỀN (EPIGENETICS) (Zeng và Chen, 2019)

Thuật ngữ “epigenetics” hay còn gọi là thượng di truyền, được đề xuất lần đầu tiên

vào năm 1942 bởi Conrad Waddington với định nghĩa “thượng di truyền (epigenetics) là sự tương tác của gen với môi trường xung quanh để hình thành kiểu hình”. Sau nhiều lần thay đổi, khái niệm mới nhất của Zeng và cộng sự (2019) đã thống nhất “thượng di truyền là quá trình thay đổi trong chức năng của gen mà không liên quan đến sự thay đổi nucleotide trong chuỗi DNA”.

Hoạt động của thượng di truyền thông qua 3 cơ chế chính: sự methyl hóa DNA (DNA methylation), sự biến đổi histone (Histone modification), microRNA. Quá trình methyl hóa DNA sẽ làm gen không biểu hiện do việc gắn cạnh tranh gốc $-CH_3$ vào vị trí C_5 trên cytosine bởi enzyme DNA methyl transferase (DNMT) tại vùng khởi động làm gen bị câm nín, dẫn đến việc ức chế quá trình sao mã. Quá trình biến đổi histone giúp làm gen được biểu hiện. Quá trình này luôn đi song hành: thứ nhất, deacetyl hóa histone: cắt bỏ nhóm acetyl trên histone bởi men HDAC (histone deacetylase) làm NST ở dạng đóng, gen câm nín; thứ hai acetyl là sự cộng thêm gốc $(-COCH_3)$ vào đuôi histone bởi men HAT (histone acetyltransferase) làm nhiễm sắc thể (NST) dạng mở, giúp gen biểu hiện. MicroRNA điều chỉnh một lượng lớn các chức năng sinh học ở thực vật và động vật. Nhiều miRNA quy định về mặt biểu hiện bằng cách sửa đổi histone hoặc bằng cách kết hợp DNA methyl hóa làm thay đổi histone (Reik, Dean và Walter, 2001; Zeng và Chen, 2019).



Hình 1. Một số cơ chế hoạt động của thượng di truyền (Zeng và Chen, 2019).

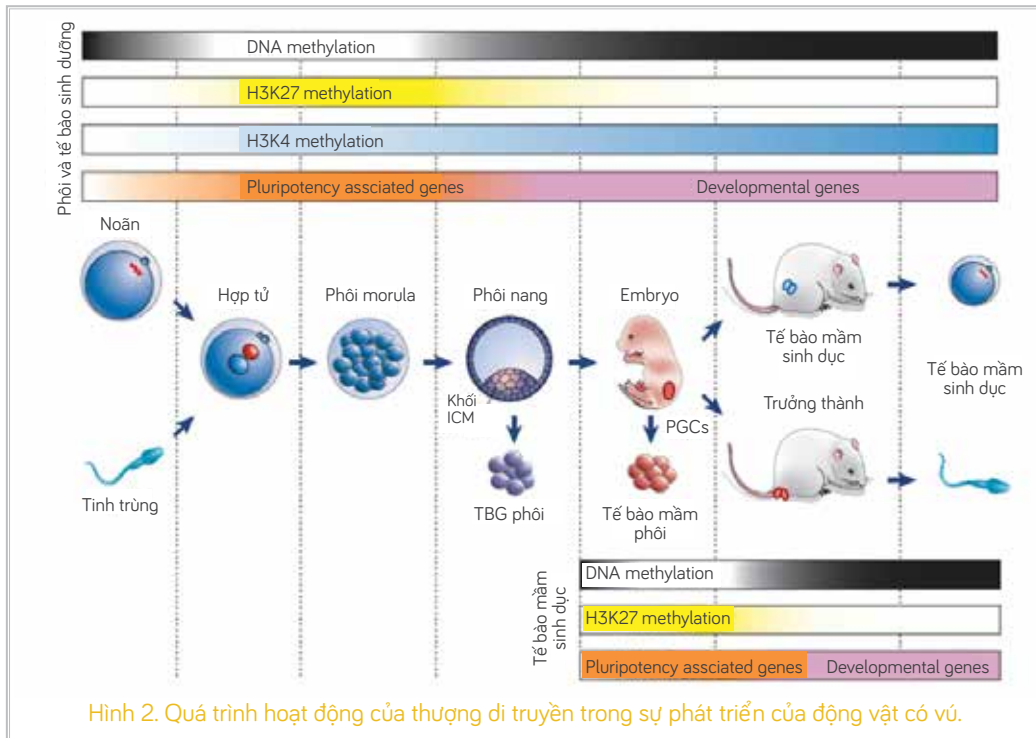
THƯỢNG DI TRUYỀN VÀ MỐI LIÊN QUAN ĐẾN SỰ PHÁT SINH GIAO TỬ, TIỀN LÀM TỔ CỦA PHÔI

Không giống như các đột biến trên gen, những thay đổi thượng di truyền không làm thay đổi trình tự nucleotide trên chuỗi DNA mà chỉ làm thay đổi tình trạng biểu hiện gen ở một số vị trí nhất định. Những thay đổi trạng thái methyl hóa DNA, biến đổi histone và thậm chí những cơ chế thượng di truyền liên quan đến các chuỗi RNA nhỏ như non-coding RNA cũng có khả năng truyền từ bố mẹ sang con. Sự biến đổi biểu hiện gen này được hiện hữu từ tế bào mầm (PGCs), đến giai đoạn phát triển phôi và sinh vật trưởng thành. Hậu quả của những điều biến này có thể đi từ sự phát triển bình thường của phôi, đến sự phát triển ung thư ở sinh vật trưởng thành (Guibert, Forné và Weber, 2009).

Trong quá trình phát triển của phôi, thượng di truyền xảy ra hầu hết các giai đoạn. Giai đoạn đầu tiên xảy ra ở quá trình hình thành các tế bào mầm PGCs. Giai đoạn thứ hai xảy ra ngay khi thụ tinh (giai đoạn phôi sớm). Trong giai đoạn đầu của quá trình phát sinh giao tử tinh trùng và noãn, sự tái lập methyl hóa DNA là khác nhau, đặc biệt trên các gen in dấu di truyền. Quá trình methyl hóa DNA và sửa đổi histone (như methyl hóa H3K9) thường bị xóa. Các gen in dấu giai

đoạn này sẽ bị khử methyl hóa và biểu hiện ở giai đoạn sau đó. Một số gen in dấu di truyền được methyl hóa ở noãn sẽ không được methyl hóa ở tinh trùng. Theo một số tác giả, quá trình phát triển của cơ thể, các gen in dấu di truyền H19 và DK11/DIO3 vẫn bảo tồn dấu ấn methyl hóa ở tinh trùng (Gunes và Kulac, 2014).

Giai đoạn phát triển phôi, mô hình điển hình cho hoạt động của thượng di truyền là sự khử methyl hóa toàn bộ trong giai đoạn phát triển phôi sớm và chia làm 2 giai đoạn. Giai đoạn đầu là hoạt động khử methyl hóa trên bộ gen của cha, xảy ra ngay sau khi thụ tinh. Bộ NST của cha trải qua những thay đổi như thay thế protamine bằng histone. Ngược lại, với mẹ giai đoạn khử methyl hóa sẽ được diễn ra sau đó. Bộ gen của mẹ được khử methyl hóa thông qua sự sao chép DNA do DNMT1 sẽ không hiện diện trong nhân. Trong quá trình phát triển phôi sớm, quá trình methyl hóa DNA được thiết lập bằng cách methyl hóa de novo xảy ra ở các tế bào bên trong phôi nang. Mức độ methyl hóa DNA tăng lên trong lớp tế bào nội mô và trophoblast. Lúc này, các gen in dấu của cha và mẹ sẽ được bảo vệ khỏi quá trình khử methyl hóa (Bromfield, Messamore và Albertini, 2008; Lepikhov và cs, 2015).



CÁC BỆNH LIÊN QUAN ĐẾN RỐI LOẠN THƯỢNG DI TRUYỀN TRONG HỖ TRỢ SINH SẢN

Những nghiên cứu đầu tiên về trẻ sinh ra từ thụ tinh trong ống nghiệm đều nêu lên mối lo ngại về mối liên quan giữa các kỹ thuật sử dụng trong điều trị thụ tinh ống nghiệm và nguy cơ trẻ mắc phải các hội chứng bẩm sinh có liên quan đến hoạt động rối loạn di truyền trên các gen in dấu di truyền. Trong đó một số bệnh liên quan đến như: hội chứng Beckwith Wiedemann (BWS), hội chứng Angelman (AS), hội chứng Silver Russell (SRS), béo phì, tiểu đường type II, các loại ung thư: ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư đại trực tràng...

Hội chứng Angelman là một dạng rối loạn thần kinh hiếm gặp. Trẻ mắc hội chứng này có biểu hiện cấu trúc khuôn mặt thường xuyên cười, dễ bị kích động, chậm phát triển, rối loạn điều hòa vận động, giảm khả năng nói... Nguyên nhân được cho là do mất biểu hiện in dấu di truyền trên NST có nguồn gốc từ mẹ nằm trong vùng gen in dấu ở NST 15q11 đến 15q13 (Kisino T và cs, 1997). Tỷ lệ trẻ sơ sinh

mắc phải hội chứng này trong tự nhiên khoảng 1/12.000 trẻ sinh ra, tuy nhiên tỷ lệ trẻ mắc hội chứng do nguyên nhân rối loạn in dấu di truyền là 1/300.000. Trong công bố đầu tiên của Cox và cộng sự (2002), lần đầu tiên tác giả ghi nhận trẻ mắc hội chứng này được thụ thai bằng kỹ thuật ICSI (Cox và cs, 2002). Tính đến năm 2009 có khoảng 7 trường hợp trẻ mắc hội chứng này sinh ra từ IVF hoặc ICSI (LN và J, 2010). Mặc dù số lượng ca ghi nhận ít vì đây là một bệnh hiếm gặp, tuy nhiên tỷ lệ trẻ mắc hội chứng này do nguyên nhân khiếm khuyết in dấu di truyền cao hơn so với trong tự nhiên 71% (5/7 trẻ) (Manipalviratn và cs, 2009). Như vậy, mặc dù chưa có bằng chứng rõ ràng, nhưng đã có vài nghiên cứu cho thấy nguy cơ cao trẻ sinh ra mắc hội chứng Angelman ở những cặp vợ chồng vô sinh.

Một bệnh in dấu di truyền khác được ghi nhận là BWS. Tỷ lệ mắc hội chứng này trong tự nhiên khoảng 1/13.700 trẻ sinh sống. Nghiên cứu năm 2013 của Vermeiden và cộng sự, tác giả cho thấy tỷ lệ trẻ mắc hội chứng này ART khoảng 1:2.700 trẻ (Vermeiden và Bernardus, 2013). Nghiên cứu mới nhất của Hiromitsu và cộng sự (2019) cho thấy tỷ lệ trẻ mắc hội chứng

BWS tăng gấp 4,6 lần và hội chứng SRS tăng gấp 8 lần ở trẻ sinh ra trong ART so với trẻ sinh ra từ tự nhiên (Hattori và cs, 2019). Bệnh nhân BWS có kiểu hình thay đổi gồm sự tăng trưởng quá mức của nội tạng hoặc cơ thể, sinh non, lưỡi to, dị tật thành bụng, hạ đường huyết, xuất hiện các khối u từ giai đoạn phôi... Đây là một hội chứng rối loạn do giảm điều hòa gen trên NST 11p15 mà cụ thể là bất thường biểu hiện của các gen in dấu IGF2, KCNQ1T1 có nguồn gốc từ bố và gen H19, CDKN1C và KCNQ1 có nguồn gốc từ mẹ (Weksberg R và cs, 2003). Ba trường hợp đầu tiên ghi nhận trẻ mắc hội chứng này sinh ra từ thụ tinh trong ống nghiệm được báo cáo năm 2003 (DeBaun và cs, 2003). Sau đó có nhiều nghiên cứu cho thấy tỷ lệ mắc hội chứng này trong ART cao hơn so với tự nhiên.

CÁC YẾU TỐ TRONG HỖ TRỢ SINH SẢN LIỆU CÓ THỂ ẢNH HƯỞNG ĐẾN THƯỢNG DI TRUYỀN? (Denomme và Mann, 2012) (Ventura-Junca và cs, 2015)

Hiện nay, nhiều tác giả cho rằng quá trình thượng di truyền ở phôi in vitro dễ bị tổn thương trước các yếu tố khác nhau như kích thích buồng trứng, IVM, ICSI, IVF, môi trường nuôi cấy, kỹ thuật sinh thiết phôi...

Kích thích buồng trứng

Trong chu kỳ tự nhiên, chỉ có một noãn được rụng để thụ tinh với tinh trùng. Tuy nhiên trong IVF người ta cần nhiều noãn hơn và quá trình kích thích buồng trứng sẽ hỗ trợ việc này. Với kỹ thuật này, bệnh nhân sẽ được sử dụng gonadotropin ngoại sinh nhằm kích thích sự phát triển nang noãn ở mỗi chu kỳ. Trong những năm qua đã có nhiều nghiên cứu được thực hiện trên mô hình động vật cho thấy có mối liên hệ giữa kích thích buồng trứng với rối loạn in dấu biểu sinh trên noãn và phôi. Cùng với đó, người ta nhận thấy rằng sau khi phân tích những gen in dấu từ các noãn thu được thông qua quá trình kích thích buồng trứng so

với những noãn thu được từ tự nhiên, thì những noãn trong kích thích buồng trứng có sự rối loạn trên các gen in dấu như PEG1, Zac, H19 so với trường hợp không kích thích buồng trứng. Ngoài ra, gonadotropin là nguyên nhân gây trưởng thành sớm ở noãn nên noãn không hoàn thành quá trình in dấu di truyền (Chang và cs, 2005; Sutcliffe và cs, 2006; Khoueiry và cs, 2008).

Kỹ thuật thao tác

Một số kỹ thuật thực hiện trong thụ tinh ống nghiệm cũng làm ảnh hưởng đến biểu hiện thượng di truyền như: IVM, IVF, ICSI, đông lạnh phôi, noãn... Trong nghiên cứu của Kerjean A và cộng sự (2003), tác giả cho rằng noãn chuột sau khi nuôi trưởng thành (IVM) mất sự methyl hóa ở gen IGF2R và Mest/Peg1, đồng thời tăng sự methyl hóa ở gen H19 so với những noãn thu nhận từ buồng trứng. Một số tác giả cũng cho rằng mức độ biểu hiện methyl hóa bất thường cao ở các noãn được nuôi cấy IVM (Al-Khtib và cs, 2011; Khoueiry và cs, 2008). IVF: thai nhi chậm phát triển, giảm kích thước trên mô hình chuột (Piane và cs, 2010). Thai nhỏ, nhẹ cân, giảm dung nạp glucose trên mô hình chó (Chen và cs, 2014). ICSI là kỹ thuật cao trong ART, khi ICSI người thực hiện bỏ qua một số bước như in vivo, vì vậy đôi khi vô tình chọn lựa những tinh trùng bất thường trong cấu trúc NST. Việc bất động tinh trùng bằng phương pháp cơ học hay đưa cả môi trường nuôi cấy vào bào tương noãn cũng có thể làm ảnh hưởng đến NST của tinh trùng và noãn (Rivera và cs, 2008; Shi và cs, 20011; Textbook of ART, 5th ed). Ngoài các kỹ thuật trên, kỹ thuật đông lạnh còn ảnh hưởng đến quá trình thượng di truyền ở giao tử và phôi: đông lạnh tinh trùng gây tổn thương cấu trúc chromatin, đông lạnh phôi ảnh hưởng khung xương tế bào và các enzyme liên quan đến quá trình methyl/demethyl hóa trong giai đoạn tiền làm tổ (Al-Khtib và cs, 2011).

Môi trường nuôi cấy

Hiện nay, theo nhiều nghiên cứu, môi trường nuôi cấy in vitro là yếu tố ảnh hưởng đến thượng di truyền của phôi nhiều nhất. Môi trường nuôi

cây ảnh hưởng đến khả năng trao đổi chất và yếu tố di truyền trong phôi. Khi kiểm tra cấu trúc tế bào trong phôi cho thấy ty thể dễ bị tổn thương trong môi trường nuôi cấy. Việc rối loạn pH nội bào có thể ảnh hưởng đến sự phân bố ty thể và sự phát triển phôi sau đó. Ty thể đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa con đường sản xuất năng lượng ở tế bào, số lượng ty thể ảnh hưởng đến khả năng cung cấp năng lượng để phôi tăng trưởng và phát triển. Trong quá trình sản xuất năng lượng, các gốc tự do ROS nội bào được tạo ra nhưng duy trì ở mức ổn định, đảm bảo cho khả năng làm tổ và phát triển phôi sau làm tổ. Nồng độ ROS nội bào cao gây tổn thương các DNA, ảnh hưởng đến hoạt động chỉnh sửa bộ gen và sao chép DNA. Vì vậy môi trường nuôi cấy nếu thiếu các chất bảo vệ chống oxy hóa có thể gây nguy hiểm cho tế bào. Môi trường nuôi cấy được chia làm 2 nhóm single-step và sequential. Hầu hết môi trường nuôi cấy đều chứa glucose, pyruvate, lactate và các acid amin ở các nồng độ khác nhau. Môi trường nuôi cấy không tối ưu có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của trophoblast. Đặc biệt biểu hiện in dấu ở gen H19 chịu tác động mạnh của môi trường nuôi cấy. Nghiên cứu của Sander và cộng sự (2015) thực hiện so sánh hai loại môi trường G5 và HTF, kết quả có sự khác biệt đáng kể về biểu hiện của 951 gen khác nhau giữa hai nhóm; tuy nhiên những thay đổi này có ảnh hưởng đến sự phát triển của em bé sau IVF hay không thì vẫn chưa rõ. Một nghiên cứu khác vào năm 2016, tác giả nhận định chuyển phôi nang (ngày 5, 6) có thể tăng nguy cơ các bệnh liên quan đến tổn thương di truyền, sinh đôi cùng trứng, sinh non, trẻ nhẹ cân... hơn so với chuyển phôi giai đoạn phôi phân chia (Abha Meheshwari và cs, 2016).

Nồng độ khí

Nồng độ oxy: các dữ liệu nghiên cứu cho rằng việc nuôi cấy phôi nồng độ oxy tăng cao làm giảm sự phát triển của phôi nang, số lượng tế bào và con đường chuyển hóa trong phôi. Nuôi phôi ở nồng độ oxy 5% giúp tạo phôi có chất lượng tốt hơn (Jayashi và cs, 2017).

KẾT LUẬN

Như vậy, sự phát triển của phôi được điều hòa bởi các thông tin di truyền từ noãn và tinh trùng. Sau khi thụ tinh cần có sự tái thiết lập lại chương trình biểu sinh của bộ gen để điều khiển sự phát triển của phôi. Việc tái thiết lập lại chương trình bao gồm một nhóm các cơ chế sinh học như: xóa bỏ các biến đổi gen, khử bộ gen của cha, quá trình methyl hóa DNA, biến đổi histone, cơ chế phiên mã qua các mRNA. Và một biểu hiện khác là in dấu di truyền. Những thay đổi trong quá trình epigenetics phụ thuộc nhiều vào các yếu tố khác nhau trong kỹ thuật hỗ trợ sinh sản. Và có thể nhận thấy điều kiện trong nuôi phôi in vitro có thể làm thay đổi thương di truyền ở phôi và gây ra một số tổn thương. Việc kiểm soát chặt chẽ các qui trình và thông số kỹ thuật của hệ thống nuôi cấy phôi cũng đóng vai trò quan trọng. Vì vậy, trong tương lai cần kiểm soát và tối ưu hóa các yếu tố trong ART có thể ảnh hưởng đến thương di truyền ở phôi để tạo ra những em bé khỏe mạnh và phát triển bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bromfield, John, Will Messamore, and David F. Albertini. 2008. "Epigenetic Regulation during Mammalian Oogenesis." *Reproduction, Fertility and Development* 20(1): 74-80.
2. Cox, Gerald F. et al. 2002. "Intracytoplasmic Sperm Injection May Increase the Risk of Imprinting Defects." *The American Journal of Human Genetics* 71(1): 162-64.
3. DeBaun, Michael R, Emily L Niemitz, and Andrew P Feinberg. 2003. "Association of in Vitro Fertilization with Beckwith-Wiedemann Syndrome and Epigenetic Alterations of LIT1 and H19." *American journal of human genetics* 72(1): 156-60.
4. Denomme, Michelle M, and Melissa R.W. Mann. 2012. "Genomic Imprints as a Model for the Analysis of Epigenetic Stability during Assisted Reproductive Technologies." *Reproduction* 144(4): 393-409.
5. Guibert, Sylvain, Thierry Forné, and Michael Weber. 2009. "Dynamic Regulation of DNA Methylation during Mammalian Development." *Epigenomics* 1(1): 81-98.
6. Gunes, Sezgin, and Tuba Kulac. 2014. "The Role of Epigenetics in Spermatogenesis." *Türk Üroloji Dergisi/Turkish Journal of Urology* 39(3): 181-87. <http://www.turkishjournalofurology.com/sayilar/1/buyuk/181-187.pdf>.
7. Hattori, Hiromitsu et al. 2019. "Association of Four Imprinting Disorders and ART." *Clinical Epigenetics* 11(1).
8. L.N, Odum, and Segars J. 2010. "Imprinting Disorders and Assisted Reproductive Technology." *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* 17(6): 517-22.
9. Lepikhov, Konstantin et al. 2015. "DNA Methylation Reprogramming in Preimplantation Development." *Epigenetics and Human Health* 4: 69-99.
10. Manipalviratn, Somjate, Alan DeCherney, and James Segars. 2009. "Imprinting Disorders and Assisted Reproductive Technology." *Fertility and sterility* 91(2): 305-15.
11. Reik, W, W. Dean, and J. Walter. 2001. "Epigenetic Reprogramming in Mammalian Development." *Science* 293(5532): 1089-93.
12. Ventura-Junca, Patricio et al. 2015. "In Vitro Fertilization (IVF) in Mammals: Epigenetic and Developmental Alterations. Scientific and Bioethical Implications for IVF in Humans." *Biological research* 48: 68.
13. Vermeiden, Jan P.W, and Rob E. Bernardus. 2013. "Are Imprinting Disorders More Prevalent after Human in Vitro Fertilization or Intracytoplasmic Sperm Injection?" *Fertility and Sterility* 99(3): 642-51.
14. Zeng, Yang, and Taiping Chen. 2019. "DNA Methylation Reprogramming during Mammalian Development." *Genes* 10(4).