

CERPO

Centro de Referencia Perinatal Oriente

Facultad de Medicina, Universidad de Chile



Impronta genómica y FIV

Dra. Macarena Gajardo U.

Dra. Catherine Díaz

Dr. Juan Guillermo Rodríguez

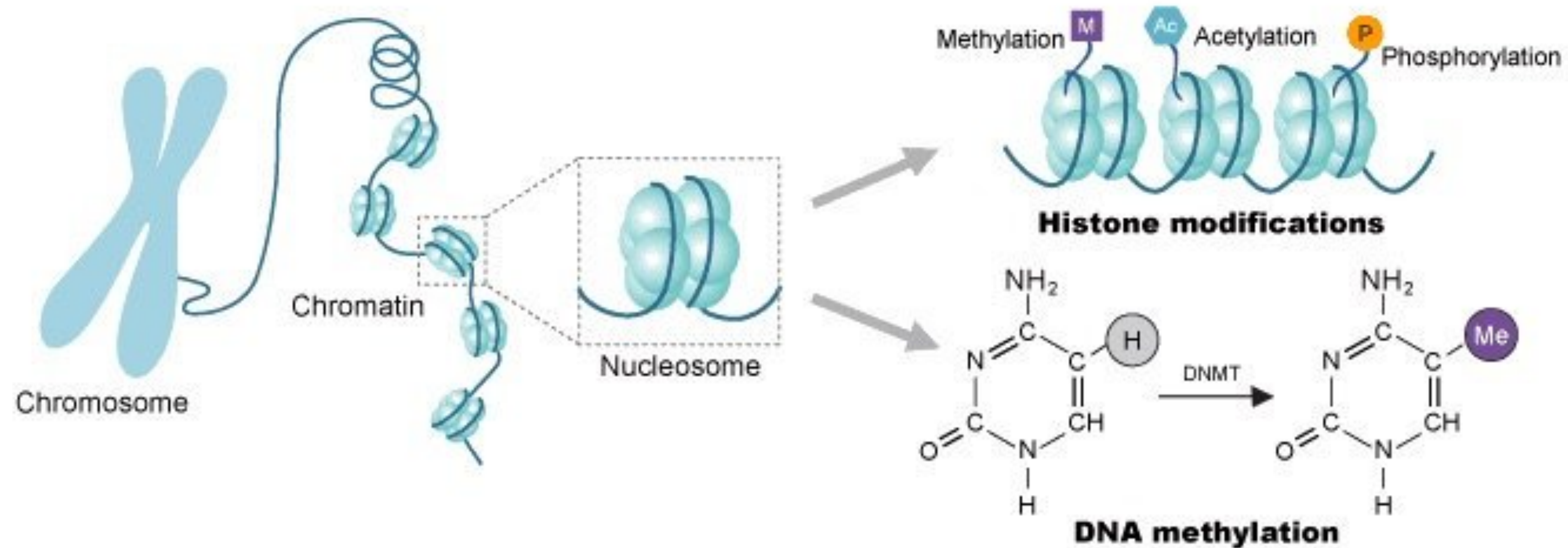
Marzo 2024

Introducción



- Entre un 10-15% de la población padece problema de infertilidad, por lo que cada vez son más utilizadas las técnicas de reproducción asistida (TRA) y los niños nacidos gracias a ellas.
- Evidencia de mayor riesgo de RCIU, parto prematuro, MFIU, cardiopatías
- Evidencia menos concluyente respecto a aumento de enfermedades relacionadas con la impronta
- Posibles causas estarían asociadas con alteraciones ya existentes en gametos de los padres o a factores directamente derivados de las TRA.

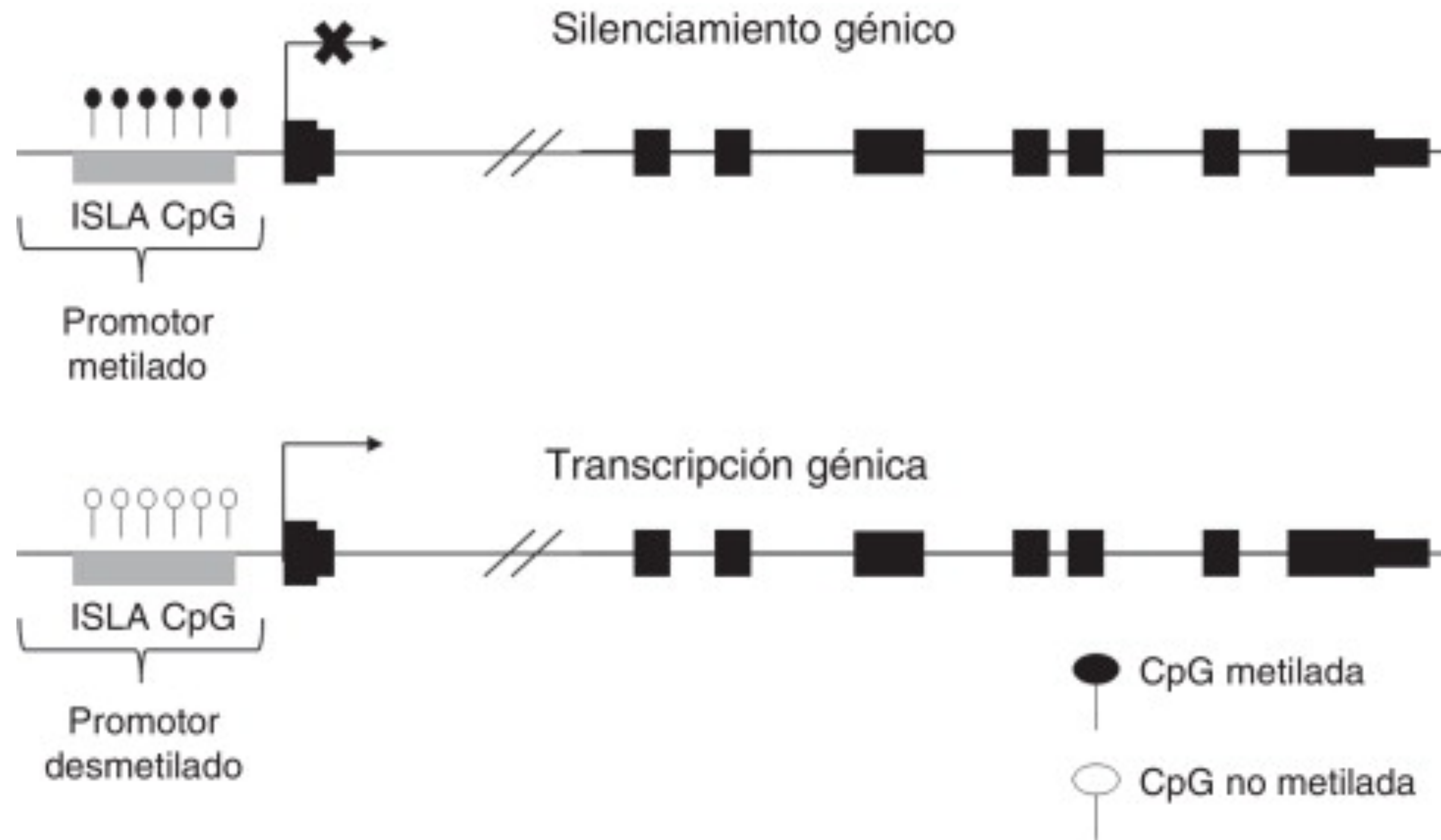
Mecanismos epigenéticos



Cambios epigenéticos: modificaciones cadena ADN que no originan cambios en la secuencia de bases nitrogenadas

Cambios en la condensación de la cromatina que regulan el ingreso de la maquinaria transcripcional y por tanto de la expresión génica

Mecanismos epigenéticos



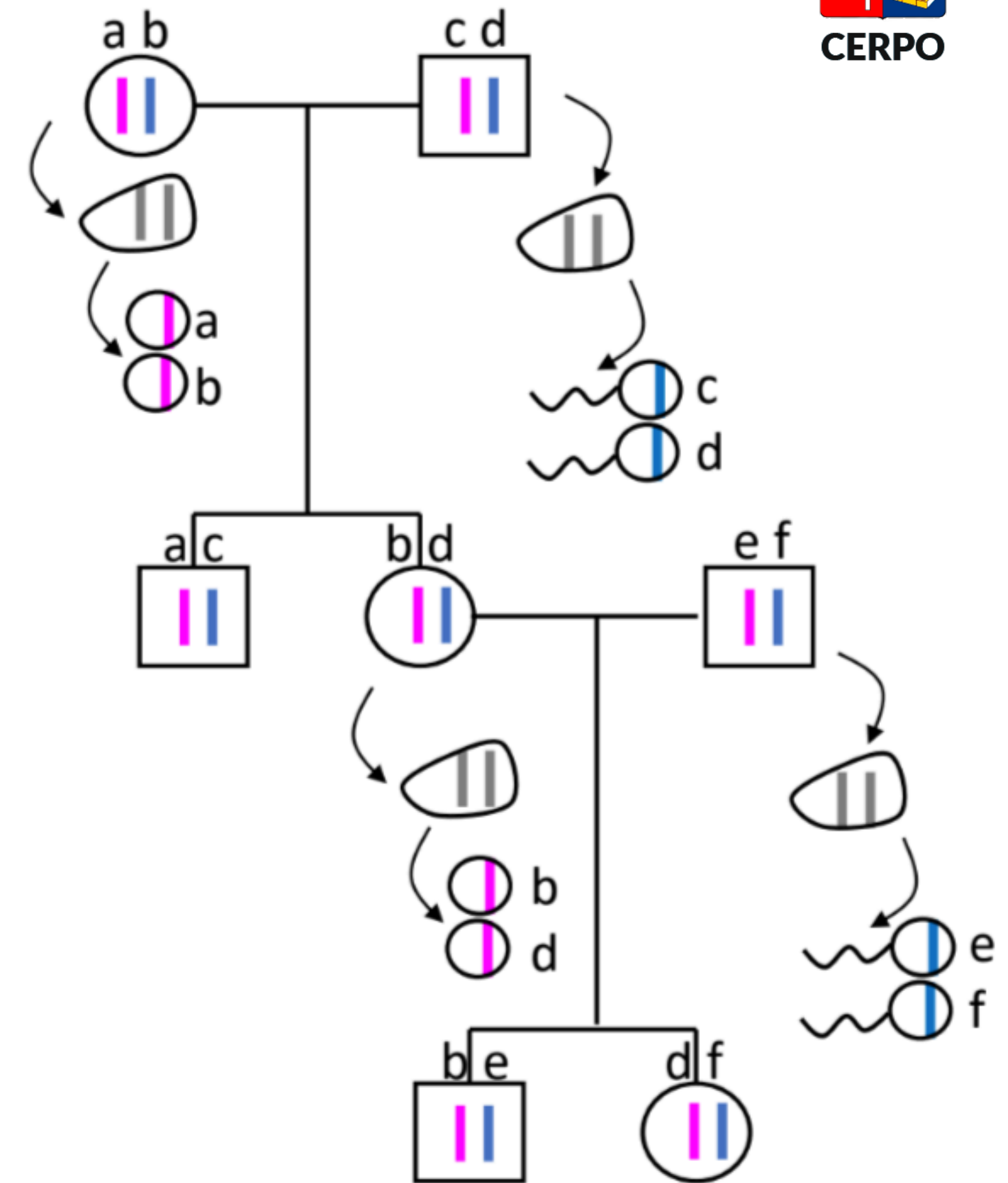
Impronta genómica



- En un pequeño grupo de genes, uno de los alelos (materno o paterno) es silenciado o marcado por un proceso de imprinting, mediante modificaciones epigenéticas
- Estos genes son transcritos de manera mono-alélica, siendo su patrón de expresión dependiente de su origen parental.
- Los genes imprintados son $< 1\%$ del genoma (+- 150 genes)
- Se han detectado +- 10 síndromes causados por errores en la impronta

Impronta genómica

- La metilación se establece en la línea germinal durante la gametogénesis
- Tras la fecundación, ciertos genes serán activos en solo uno de los cromosomas parentales
- “Borrado y regrabación”: reprogramar totalmente las improntas en la línea germinal para formar gametos
- “Limpieza de improntas del sexo contrario” durante la formación de gametos



Reprogramación epigenética



2 eventos de reprogramación global:

1. Durante migración células germinales primordiales hacia la cresta genital (días embrionarios 7-13 en ratones)
2. Durante las primeras etapas del desarrollo preimplantacional.

Reprogramación en gametogénesis

- Celulas germinales primordiales => gametos. Es necesario eliminar el epigenoma somático heredado del precursor para establecer epigenomas gameto-específicos
- Esta reprogramación incluye la demetilación global del ADN e improntas genómicas.

En las células germinales femeninas (ovocitos), el restablecimiento del imprinting se produce durante el crecimiento y **no se termina hasta justo antes o durante la ovulación** de cada ciclo menstrual, repitiéndose durante toda la vida reproductiva de la mujer

En las células germinales masculinas **se termina el proceso durante la gametogénesis** y durante el estadio de espermátide.

Reprogramación en embriogénesis temprana



- El epigenoma se reestructura nuevamente después de la fertilización, haciendo la transición desde los genomas de gametos heredados, a un estado compatible y utilizable mediante la diferenciación somática celular
- La metilación global del ADN se restablece gradualmente a partir de la etapa de blastocisto

El genoma paterno sufre pérdida activa de metilación del ADN entre 6-8 horas post fertilización en ratones

Metiloma materno es eliminado pasivamente durante divisiones celulares posteriores (ya que DNMT1o es excluida del núcleo), hasta entrada a etapa de 8 células

Reprogramación

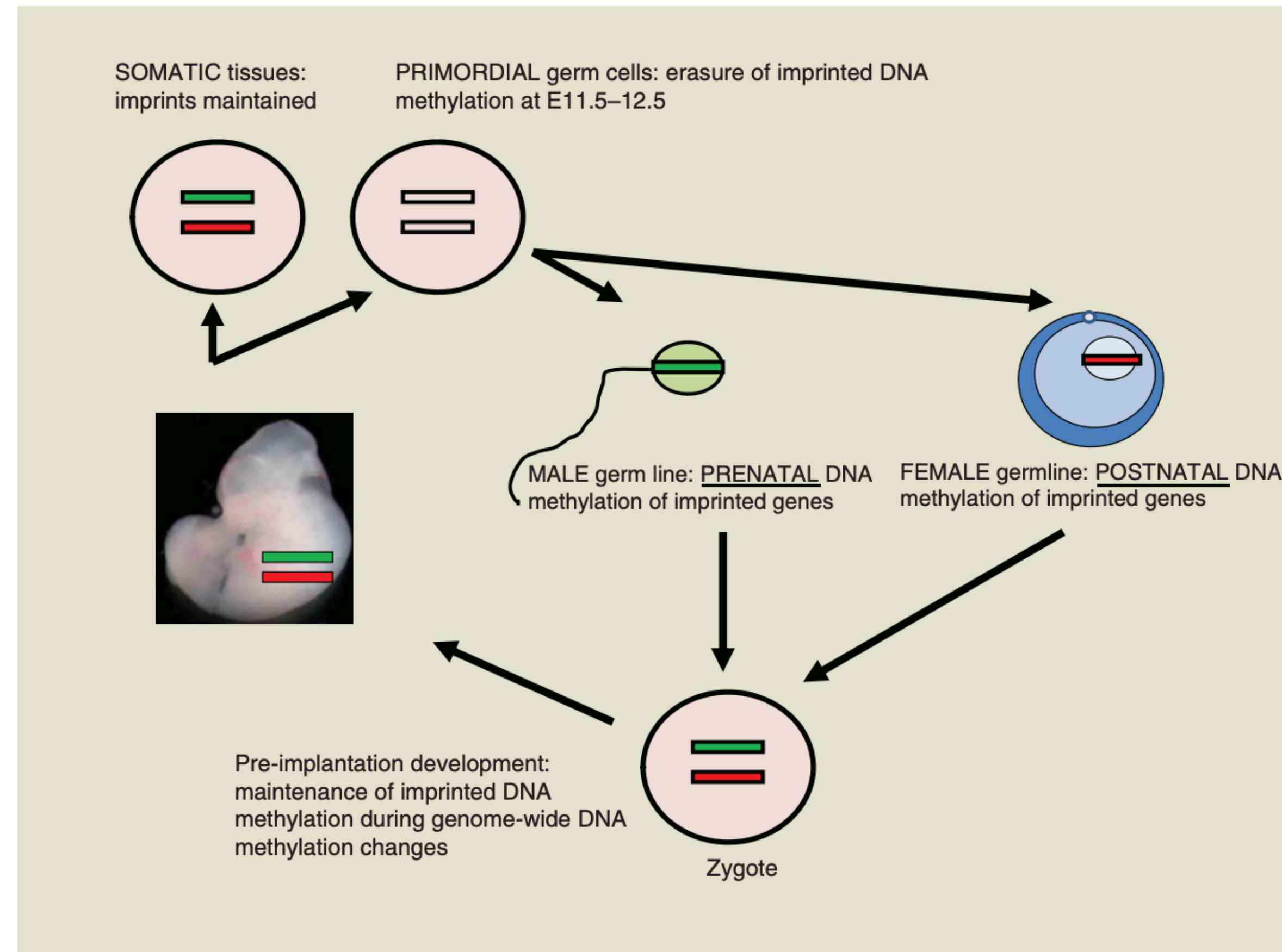


Fig. 1. Schematic representation of the mouse developmental cycle of DNA methylation at imprinted genes: DNA methylation at imprint control centres is erased in primordial germ cells of the developing embryo on Embryonic Days (E) 11.5–12.5 and subsequently reset in a sex-specific manner during gametogenesis. Imprinted DNA methylation is maintained in somatic cells after fertilisation despite genome-wide DNA methylation changes during preimplantation development. Red (dark grey in print) bars, maternal imprints; green (light grey in print) bars, paternal imprints.

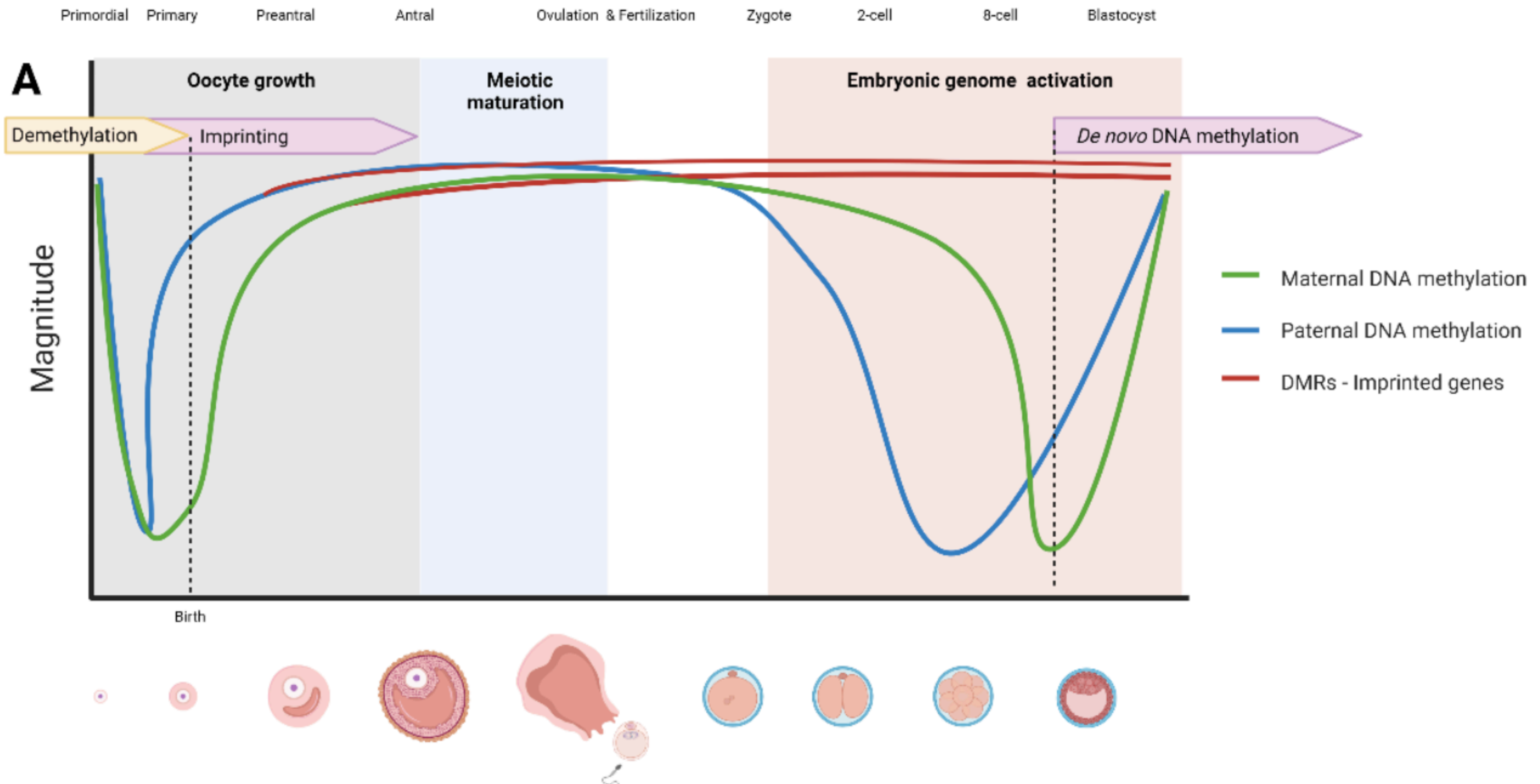
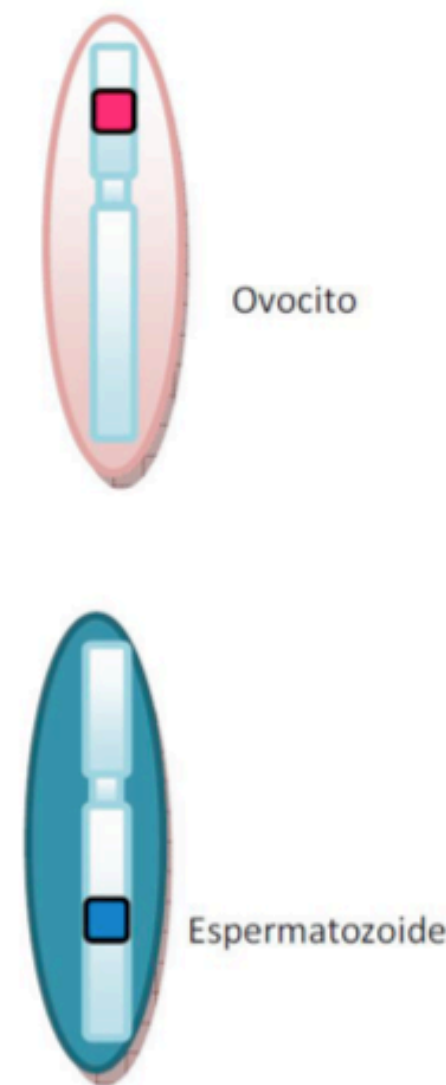
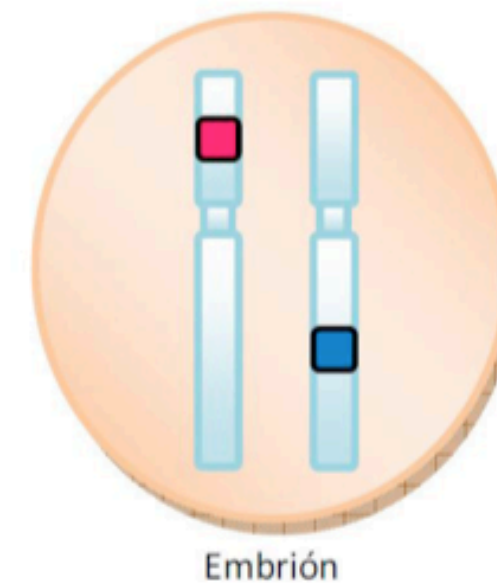


Figure 2. Dynamic DNA methylation and protein translation changes in human oogenesis and early embryogenesis: (A) Prenatal DNA demethylation in primordial germ cells (PGC) is followed by *de novo* DNA methylation, which occurs earlier in males than females. Genomic imprinting loci consisting of DMR (differentially methylated regions) maintain their methylation status despite the important genome-wide DNA demethylation in pre-implantation embryos [1]. (B) Oocytes are

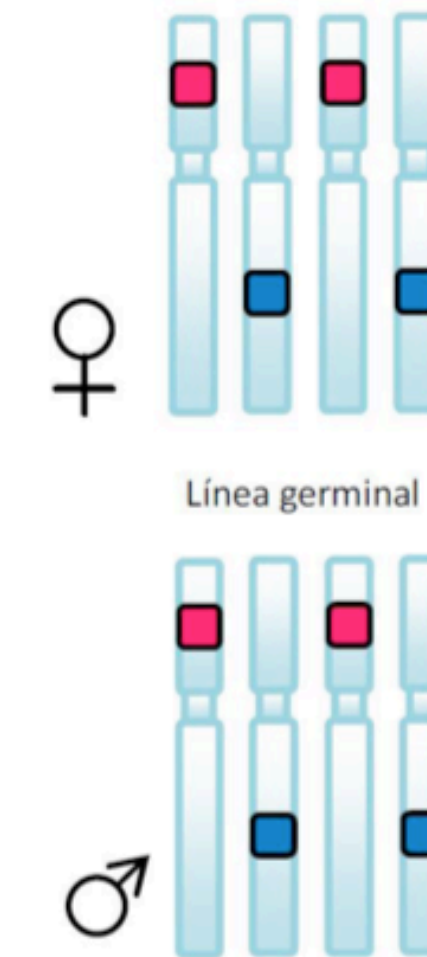
Reprogramación



Los gametos tienen una impronta programada distinta en cada sexo.



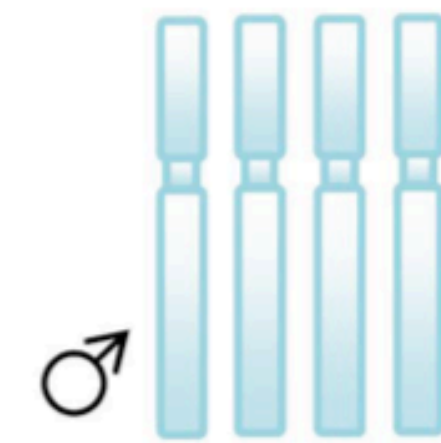
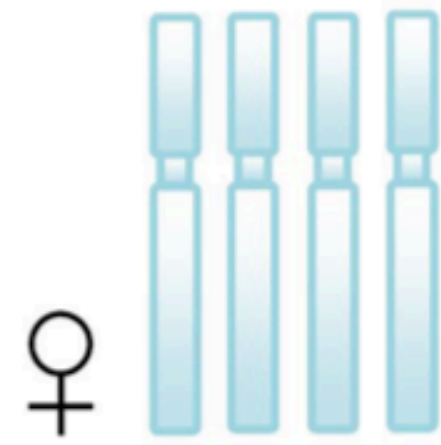
Tras la fecundación se forma un cigoto que posee para cada cromosoma una impronta del padre y otra de la madre. Antes y después de la implantación del embrión se produce una reprogramación secundaria que se mantendrá a lo largo de la vida del individuo.



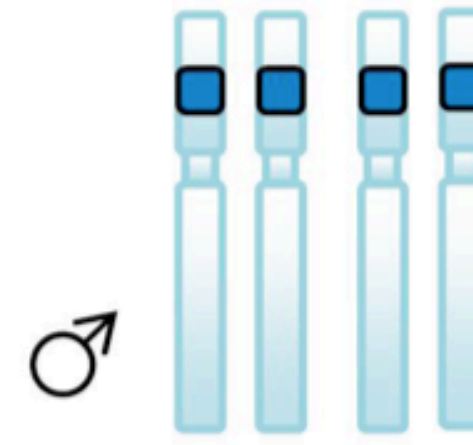
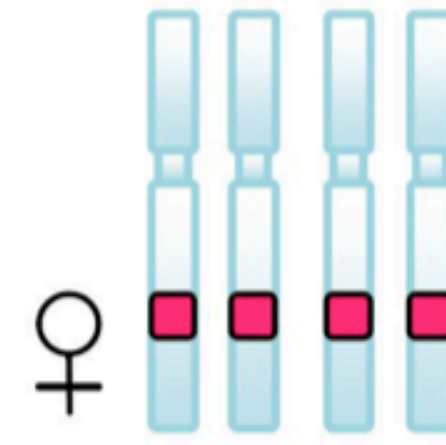
Las células de la línea germinal darán lugar a los gametos. En estas células tienen lugar la reprogramación.

En la línea germinal se eliminan las metilaciones parentales, que se completa durante los días 12-13 en células de ratón, en hembras y machos

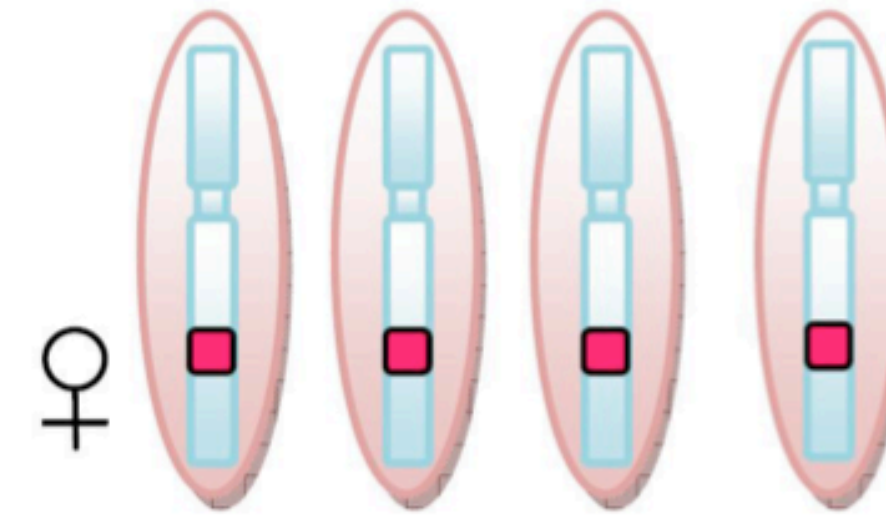
Reprogramación



En primer lugar se borran las improntas heredadas de los padres.



Se produce la remetilación estableciéndose las nuevas improntas específicas del sexo para los nuevos gametos.



Se obtienen nuevos gametos con una reprogramación primaria completa que se transmitirá a la siguiente generación.

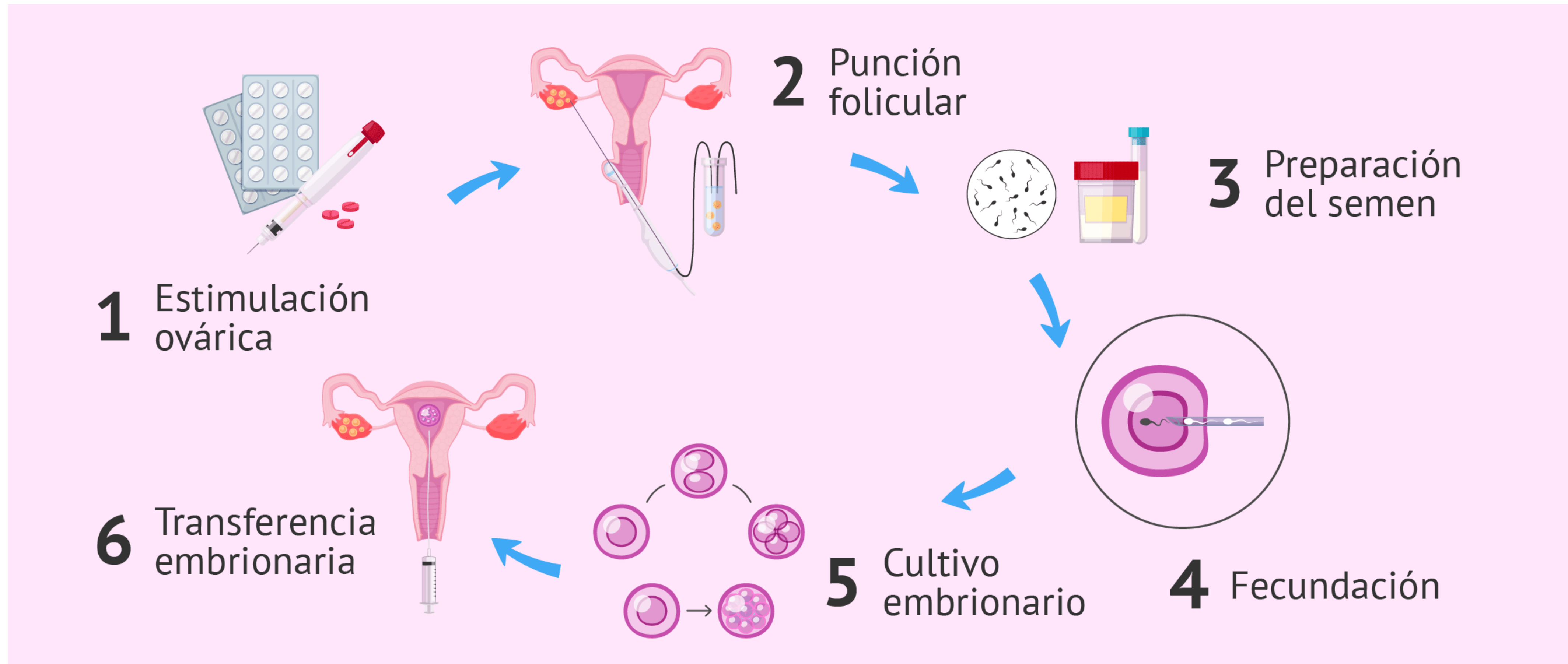
Tras el borrado de las marcas de imprinting, se restablecen las marcas de novo de acuerdo con el sexo.

Alteraciones epigenéticas y FIV



- Se ha reportado aumento de prevalencia en síndromes relacionados con la impronta en RN concebidos mediante TRA
- Podría explicarse por manipulación en muchas de las etapas de la fecundación: hormonas para estimulación ovárica, maduración in vitro de ovocitos, uso de espermatozoides inmaduros, ICSI, cultivo in vitro de embriones, crioconservación de gametos y embriones
- **Cualquiera de estos procesos puede alterar el imprinting**
- Problemas éticos para lograr mejores datos

Fecundación in vitro (FIV)



Estimulación ovárica



MOLECULAR REPRODUCTION AND DEVELOPMENT 63:329–334 (2002)

Aberrant Methylation Patterns at the Two-Cell Stage as an Indicator of Early Developmental Failure

W. SHI¹ AND T. HAAF^{2*}

¹*Max Planck Institute of Molecular Genetics, Berlin, Germany*

²*Institute of Human Genetics, Mainz University School of Medicine, Mainz, Germany*

- Embriones obtenidos de ovocitos tras estimulación hormonal presentan más alteraciones de la metilación comparados con los obtenidos sin estimulación

Estimulación ovárica

- El aumento en la tasa de crecimiento folicular asociada a la estimulación hormonal podría prevenir o retrasar la adquisición y eliminación de marcas epigenéticas
- La inyección de HCG sola sería suficiente para interrumpir la adquisición de la metilación del ADN en ovocitos



Effect of gonadotropins on dynamic events and global deoxyribonucleic acid methylation during in vitro maturation of oocytes: an animal model

Shan Liu, M.D., Ph.D.^{a,b}

Huai L. Feng, Ph.D.^a

Dennis Marchesi, M.Sc.^a

Zi-Jiang Chen, M.D., Ph.D.^b

Avner Hershlag, M.D.^a

^a Center for Human Reproduction, North Shore–Long Island
Jewish Health System, Hofstra University School of
Medicine, Manhasset, New York

^b Center for Reproductive Medicine and Shandong Provincial
Key Laboratory of Reproductive Medicine, Shandong
Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan,
People's Republic of China

Estimulación ovárica

- Reducción del 50% en la metilación global de ADN, medido por IF, exclusivamente en el genoma materno de cigotos después de estimulación con 5UI de eCG y 5UI HCG, versus ovulación natural



Superovulation Induces Alterations in the Epigenome of Zygotes, and Results in Differences in Gene Expression at the Blastocyst Stage in Mice

SARAH ROSE HUFFMAN,¹ YOUNGJU PAK², AND ROCÍO MELISSA RIVERA^{1*}

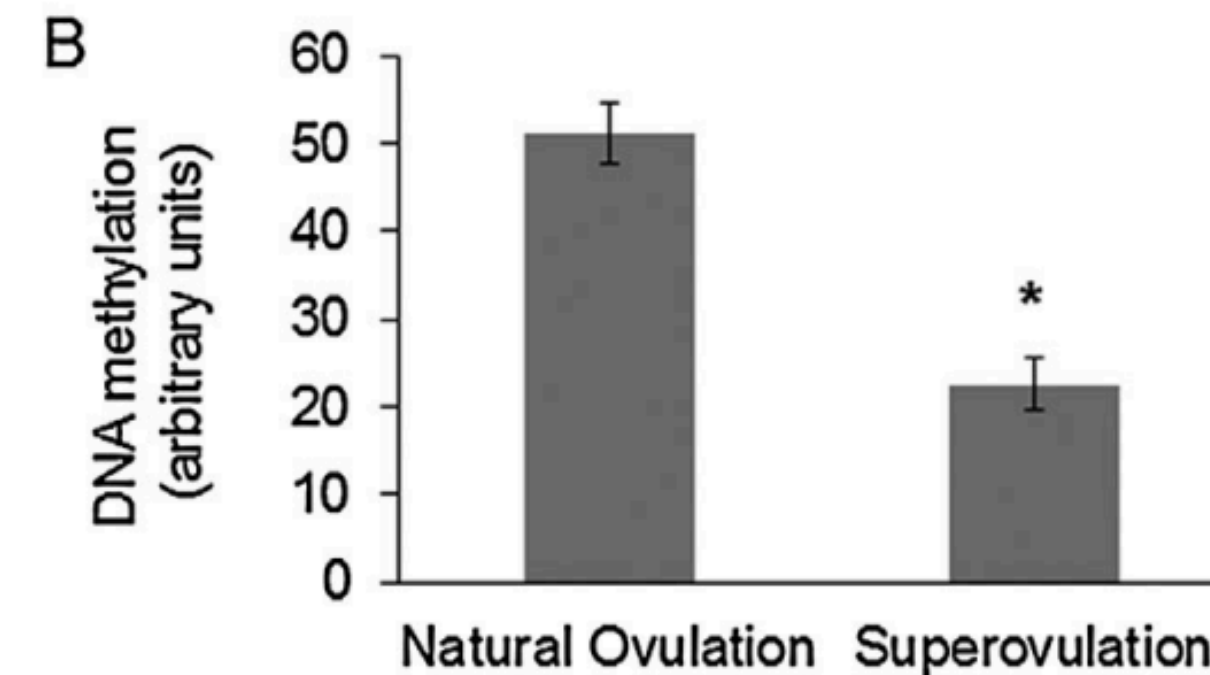


Figure 3. Analysis of global methylation of the maternal DNA in zygotes produced from natural- and superovulated females. Only embryos at pronuclear stages 3 and 4 were analyzed, given that the parental pronuclei are easily differentiated by size (the paternal is larger at these stages). DNA was stained with YOYO1-iodide. **A:**

Estimulación ovárica



Human Molecular Genetics, 2010, Vol. 19, No. 1 36–51
doi:10.1093/hmg/ddp465
Advance Access published on October 4, 2009

Dual effects of superovulation: loss of maternal and paternal imprinted methylation in a dose-dependent manner

Brenna A. Market-Velker^{1,2,3}, Liyue Zhang^{3,4}, Lauren S. Magri^{1,2,3}, Anne C. Bonvissuto^{1,2,3}
and Melissa R.W. Mann^{1,2,3,4,*}

- La estimulación ovárica perturbó la impronta de genes expresados tanto por vía materna como paterna; pérdida de snrpn, Peg3, Kcnq1ot1 y ganancia de metilación en gen improntado H19
- Efecto sería **dosis dependiente**, con mayores anomalías en metilación a mayor dosis de gonadotropinas
- Los errores de metilación en genes importados en blastocistos no surgen de los ovocitos, sino que reflejan un mantenimiento deficiente de la metilación durante el desarrollo preimplantacional

Estimulación ovárica

Huo et al. *Clinical Epigenetics* (2020) 12:75
<https://doi.org/10.1186/s13148-020-00866-w>

Clinical Epigenetics




RESEARCH

Open Access

Single-cell DNA methylation sequencing reveals epigenetic alterations in mouse oocytes superovulated with different dosages of gonadotropins



Ying Huo^{1,2,3,4†}, Zhi Qiang Yan^{1,2,3,5†}, Peng Yuan^{1,2,3}, Meng Qin^{1,2,3}, Ying Kuo^{1,2,3}, Rong Li^{1,2,3,6}, Li Ying Yan^{1,2,3,6}, Huai Liang Feng^{7*} and Jie Qiao^{1,2,3,4,6*} 

- En general la metilación global del ADN se preservaba independientemente de la superovulación o del tipo y dosis de gonadotropinas utilizadas
- Las alteraciones de la metilación asociadas a la hiperestimulación ovárica **ocurrían en un conjunto específico** de loci.
- Esto reflejaría que la superovulación recluta ovocitos que **normalmente no serían ovulados o que no han experimentado una maduración epigenética completa.**

Cultivo embrionario



- En el tracto reproductivo femenino, los embriones en desarrollo temprano están bajo la influencia de hormonas, nutrientes, factores de crecimiento
- El epigenoma de embriones cultivados in vitro es vulnerable a las condiciones de cultivo expuestas
- Se puede inducir respuesta al estrés mediante manipulación de embriones por pipeteo, exposición a estrés térmico y/o cambios en el pH
- La exposición a condiciones subóptimas o sustancias tóxicas en el medio puede provocar alteraciones en la metilación del ADN, reprogramación genética, alteraciones del desarrollo.

Cultivo embrionario

BIOLOGY OF REPRODUCTION **83**, 938–950 (2010)
Published online before print 11 August 2010.
DOI 10.1095/biolreprod.110.085480



Side-by-Side Comparison of Five Commercial Media Systems in a Mouse Model: Suboptimal In Vitro Culture Interferes with Imprint Maintenance¹

B.A. Market-Velker,^{3,4,5} A.D. Fernandes,^{6,7} and M.R.W. Mann^{2,3,4,5}

- Se evaluó la metilación y expresión de ADN en 3 loci: H19, Peg3, Snrpn
- El cultivo embrionario en **todos los sistemas de cultivo comerciales resultó en una pérdida de metilación** versus los embriones in-vivo
- Especialmente todos los sistemas mostraron una pérdida en la expresión de del gen improntado H19

Cultivo embrionario



Commentary

DNA Methylation Patterns in the Early Human Embryo and the Epigenetic/Imprinting Problems: A Plea for a More Careful Approach to Human Assisted Reproductive Technology (ART)

Yves Menezo ^{1,2,*} , Patrice Clément ¹ and Brian Dale ³

- La exposición de embriones cultivados in vitro a una concentración inadecuada de oxígeno se asoció con mayor riesgo de metilación aberrante del ADN
- Esto se explica por el aumento de estrés oxidativo y el consecuente daño celular
- Pero además los medios de cultivo de FIV **generan espontáneamente radicales libres durante la incubación** y no tendrían protección contra el EO
- Posible efecto protector de folatos (generalmente ausentes en medios de cultivo)

Criopreservación



Article

Vitrification of Pronuclear Zygotes Perturbs Porcine Zygotic Genome Activation

Tengteng Xu ^{1,†}, Chengxue Liu ^{1,†}, Mengya Zhang ¹, Xin Wang ¹, Yelian Yan ¹, Qiuchen Liu ¹, Yangyang Ma ¹, Tong Yu ¹, Anucha Sathanawongs ², Jun Jiao ³, Zubing Cao ^{1,*}  and Yunhai Zhang ^{1,*} 

- La vitrificación reduce el contenido de ATP celular
- Se ha descrito una disminución tanto en la metilación global como en genes improntados
- En embriones porcinos vitrificados, una expresión muy reducida de genes claves condujo a una reprogramación epigenética alterada y a disminución en las tasas de blastocistos

Criopreservación

SCIENTIFIC REPORTS



OPEN DMSO induces drastic changes
in human cellular processes and
epigenetic landscape *in vitro*

Received: 22 August 2018

Accepted: 20 February 2019

Published online: 15 March 2019

M. Verheijen¹, M. Lienhard², Y. Schroeders¹, O. Clayton³, R. Nudischer³, S. Boerno²,
B. Timmermann², N. Selevsek⁴, R. Schlapbach⁴, H. Gmuender⁵, S. Gotta⁵, J. Geraedts⁶,
R. Herwig², J. Kleinjans¹ & F. Caiment¹

- Los agentes crioprotectores presentes en los medios de vitrificación de FIV podrían afectar negativamente el perfil epigenético de los embriones
- El dimetilsulfóxido (DMSO) sería responsable de la alteración de la metilación global del ADN y de la disminución significativa del contenido de ATP
- Su uso debería ser reconsiderado en TRA

Abortos



Cell, Vol. 69, 915–926, June 12, 1992, Copyright © 1992 by Cell Press

Targeted Mutation of the DNA Methyltransferase Gene Results in Embryonic Lethality

- Desarrollo postimplantación: actividad DNMT3A y DNMT3B son esenciales para establecer perfil de metilación característico en el embrión en desarrollo.
- La metilación del ADN proporciona mecanismo regulador epigenético que protege a las células en diferenciación de la regresión al estado “indiferenciado”
- Embriones de ratones con actividad insuficiente de metilación del ADN mueren a mitad de la gestación como consecuencia de la desmetilación de todo el genoma

Table 1. Summary of effects induced by ART on epigenetic changes in oocytes, early embryos and their influence on offspring. “NE” indicates specific gene effects were not evaluated.



Stressor	Species	Genes Affected	Main Findings	Reference
Ovarian Stimulation				
Controlled ovarian stimulation	human	NE	Chromosomal aneuploidy	[168]
Superovulation	mouse	<i>Dnmt1, Dnmt3A, Dnmt3B</i>	Affected expression of methyltransferases in GV, MII oocytes, in one-cell and two-cell embryos	[169]
Superovulation	mouse	<i>Epab, Pabc1</i>	Altered expression of translational regulators mRNA in mouse GV and MII oocytes and in zygots	[170]
Superovulation	mouse	<i>Snrpn, Peg3, Kcnq1ot1, H19</i>	Disrupted methylation of imprinted genes in blastocysts	[171]
Superovulation	mouse	<i>Gfod2, Foxi3, Celf4, Syf2</i>	In oocytes, altered methylation of genes involved in glucose metabolism, nervous system development, cell cycle, cell proliferation, and mRNA processing	[172]
Superovulation	mouse	<i>H19</i>	Altered <i>H19</i> methylation in mouse blastocysts after in vivo fertilization	[173]
Superovulation	mouse	<i>Fasn, Dgat1, Dgat2</i>	Decreased fatty acid content in mice 2-cell embryos by reducing the <i>Fasn</i> and increasing the <i>Dgat1</i> and <i>Dgat2</i> expression.	[174]
Repeated superovulation	mouse	<i>Cox1, Cytb, Nd2, Nd4</i>	Altered expression of mitochondrial genes in mouse cumulus cells	[175]
Repeated superovulation	mouse	NE	Abnormalities in mitochondrial structure and distribution in mouse oocytes	[176]
Superovulation	mouse	NE	Decrease of mitochondrial activity and ATP production in mouse oocytes	[177]
Superovulation	bovine	<i>TXN2, PDX3</i>	Decline of mtDNA copy number in bovine oocytes., decreased expression of antioxidant genes in bovine cumulus cells	[93]
Oxidative stress				
Presence of reactive oxygen species	human	NE	Sperm originated changes to epigenetic regulation of human embryo development	[178]
Culture under 20% of oxygen	bovine	<i>CAT, GLRX2, HSP90AA1, KEAP1, NFR2, PRDX1, PRDX3, SOD1, TXN, TXNRD1, H2AFZ, H3F3B</i>	Increase of transcript of genes associated with epigenetic remodelling, oxidative stress and cellular stress response in blastocysts	[179]
Culture under 20% of oxygen	bovine	<i>DNMT3A</i>	Elevated DNMT3A expression and increase of global DNA methylation in 4-cell embryos and blastocysts	[180]
Oxidative stress (palmitic acid)	bovine	<i>PRDX3, HADHB, UQCRB, CYCS</i>	Upregulation of PRDX3 protein. Elevation of the mitochondrial HADHB, UQCRB and CYCS proteins in oocytes	[181]
Oxidative stress (H ₂ O ₂)	mouse	NE	Decrease in mitochondria-derived ATP and disassembly of spindles in in vitro cultured MII oocytes	[85]

In vitro techniques				
Stressor	Species	Genes Affected	Main Findings	Reference
Oocyte in vitro maturation	human	<i>HDAC1</i>	Compromised deacetylation in oocytes. Residual acetylation linked to aneuploidy	[182]
Oocyte in vitro maturation	bovine	<i>SIRT2</i>	Faulty mitochondria	[183]
Cytoplasmic transfer	human	Not tested yet	10–15% cytoplasm transfer into aged oocytes produced healthy offspring	[95]
Suboptimal culture media	rabbit	NE	Alteration of DNA methylation reprogramming in paternal pronuclei of zygotes	[184]
In vitro fertilization & ICSI	human	H19	ART caused demethylation resulted in the changes of genomic imprinting	[185]
Embryo in vitro culture	human	NE	miRNAs detected in spent culture medium downregulate embryonic mRNAs	[186]
Cryopreservation	human	<i>LINE1</i>	Differently methylated placental DNA between fresh and frozen embryo transfers	[187]
Suboptimal culture media	mouse	NE	Higher methylation disturbances in embryos from superovulated females and IVF	[188]
Intracytoplasmic sperm injection	mouse	<i>H19, Snrpn, Peg3, Igf2</i>	Imprinting defects in somatic tissues	[189]

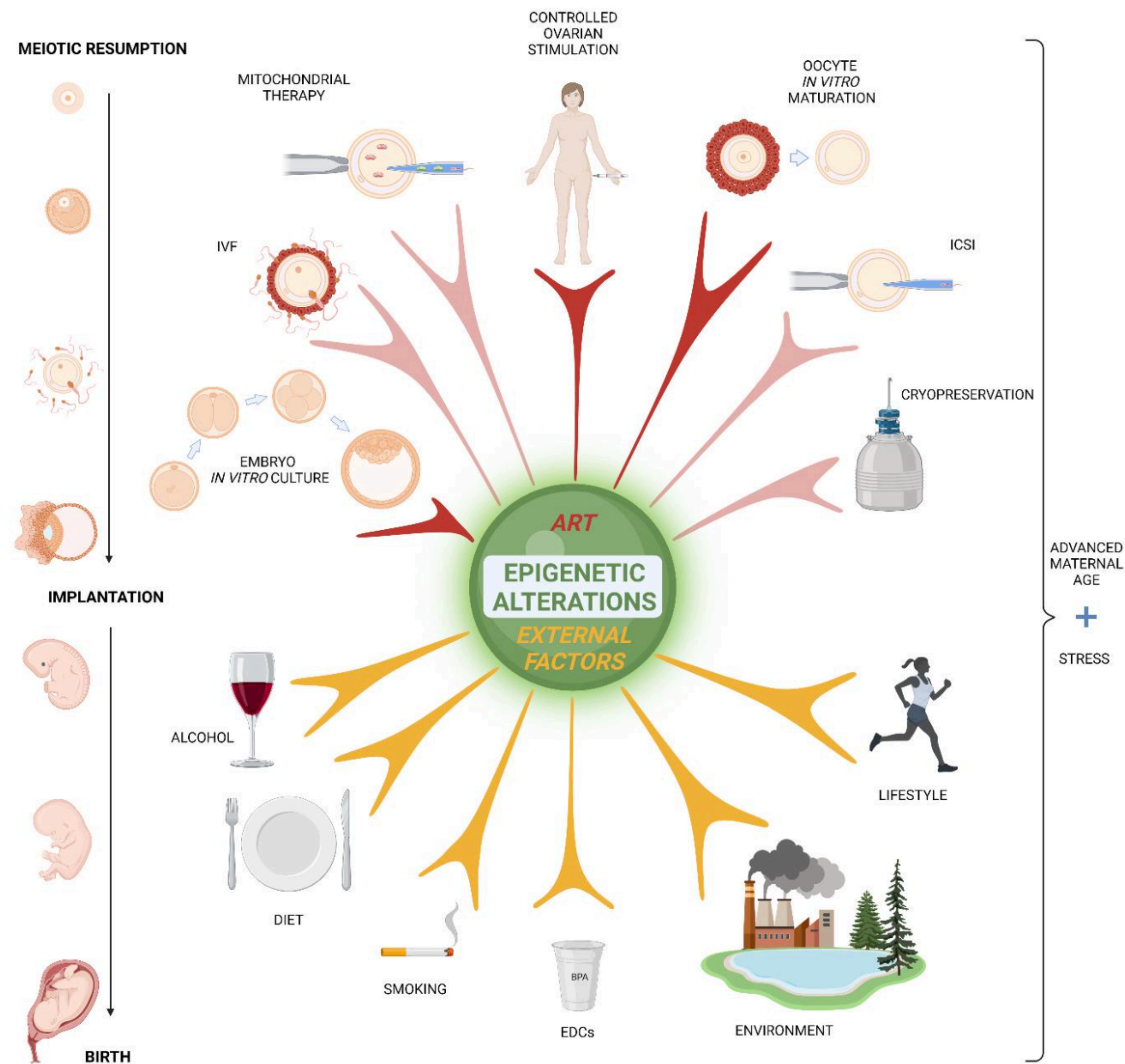


Figure 3. Assisted reproduction technology (ART) and external factors involved in epigenetic alterations: visualization of ART procedures employed in the process of oocyte meiotic maturation and early embryo development with proven (red arrows) or insignificant (pale red arrows) impact on the epigenome. External factors influencing epigenetics of post-implantation in utero embryo and fetal development (yellow arrows) are divided among nutritional (alcohol, diet) and lifestyle factors (advanced age, smoking, living environment, endocrine-disrupting chemicals (EDCs)). The image



RESEARCH

Open Access



Association of four imprinting disorders and ART

Hiromitsu Hattori^{1,2†}, Hitoshi Hiura^{1†}, Akane Kitamura¹, Naoko Miyauchi¹, Norio Kobayashi¹, Souta Takahashi¹, Hiroaki Okae¹, Koichi Kyono², Masayo Kagami³, Tsutomu Ogata⁴ and Takahiro Arima^{1*}

- Estudio epidemiológico nacional en Japón. 2777 deptos de Pediatría y se contactaron n=931 pacientes con enfermedades relacionadas con la impronta (117 Beckwith-Wiedeman, 227 Angelman, 520 Prader-Willi, 67 Silver-Russel)
- Frecuencia aumentada de **4.46 veces en BWS y 8.91 en SRS** asociados a TRA (FIV o ICSI) y mostraron metilación aberrante en el DNA improntado. **PWS frecuencia 3.44 veces** mayor en TRA
- En SRS concebido por TRA: variaciones en metilación más incompletas y generalizadas especialmente en regiones específicas masculinas
- Los trastornos en la impronta relacionados con las TRA **podrían tener lugar justo después de la fertilización cuando epigenoma es más vulnerable** y podría verse afectado por técnicas de manipulación y medio de cultivo.

A systematic review and meta-analysis of DNA methylation levels and imprinting disorders in children conceived by IVF/ICSI compared with children conceived spontaneously

Gabija Lazaraviciute¹, Miriam Kauser¹, Sohinee Bhattacharya¹, Paul Haggarty², and Siladitya Bhattacharya^{1,*}

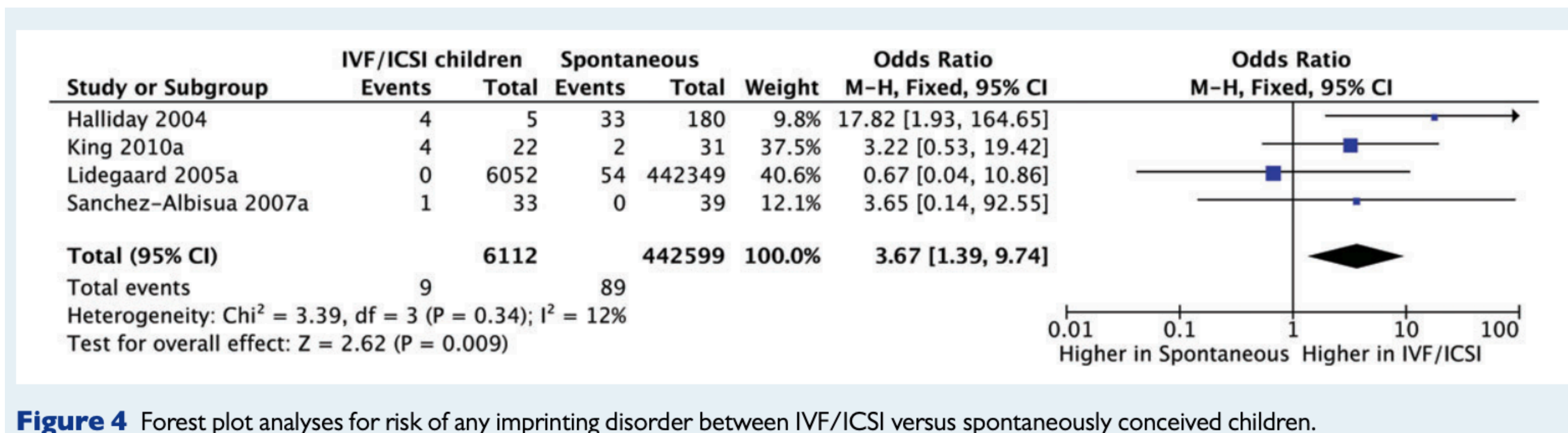


Figure 4 Forest plot analyses for risk of any imprinting disorder between IVF/ICSI versus spontaneously conceived children.

*No hubo evidencia de alteración significativa en la metilación del ADN asociado con la FIV en las regiones KvDMR/KCNQ1OT1, PEG1/MEST, IGF2, GRB10, PEG3, H19, o SNRPN



Congenital heart defects in IVF/ICSI pregnancy: systematic review and meta-analysis

V. GIORGIONE¹, F. PARAZZINI², V. FESSLOVA³, S. CIPRIANI², M. CANDIANI¹,
 A. INVERSETTI¹, C. SIGISMONDI¹, F. TIBERIO¹ and P. CAVORETTO¹

¹Department of Obstetrics and Gynecology, IRCCS San Raffaele Hospital, Vita-Salute University, Milan, Italy; ²Fondazione IRCCS Cà Granda, Dipartimento Materno-Infantile Clinica Ostetrico Ginecologica, Ospedale Maggiore Policlinico, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy; ³Center of Fetal Cardiology, Policlinico San Donato IRCCS, Milan, Italy

- 41 estudios, 25.856 fetos TRA / 287.995 embarazo espontáneo
- CC en 1.3% vs 0.68%
- Grupo TRA OR 1.45 (1.20-1.76, p=0.0001)

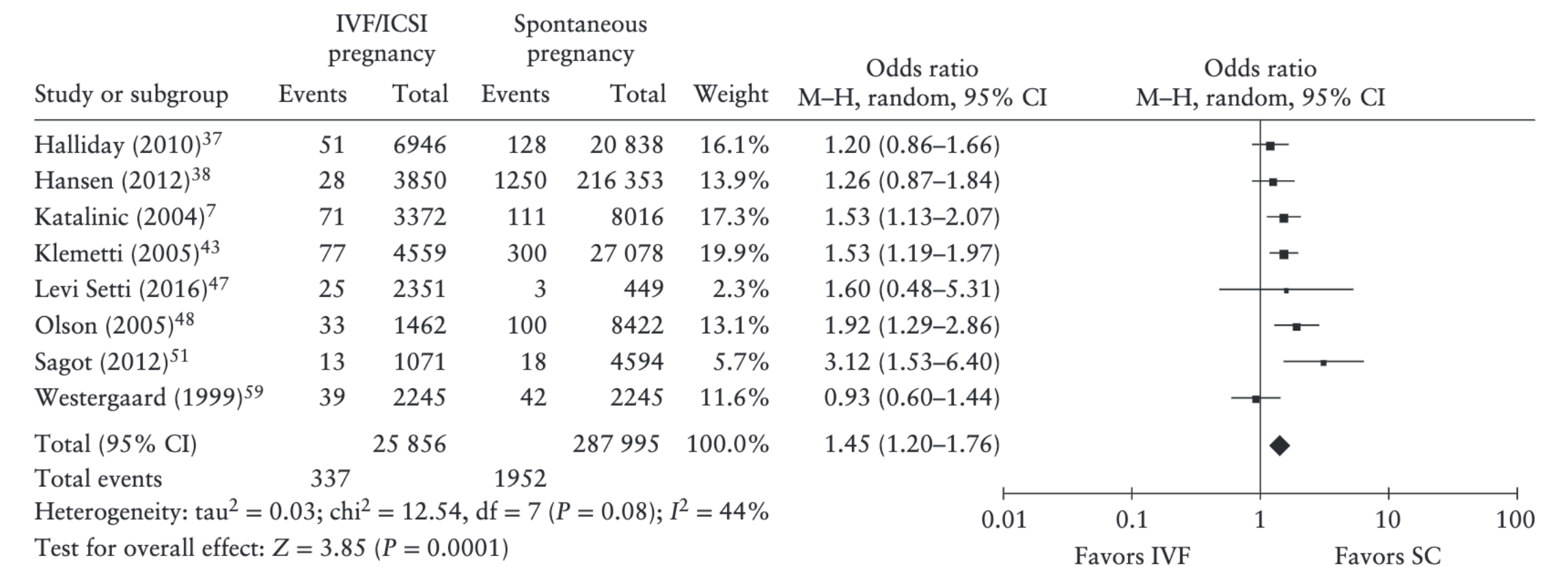


Figure 2 Forest plot for congenital heart defects detected in all *in-vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection (IVF) pregnancies and in all pregnancies conceived spontaneously (SC). Only first author of each study is given. M–H, Mantel–Haenszel.

Conclusiones



- La reproducción asistida es de enorme importancia para las parejas infértiles y para nuestra sociedad en general, por tanto es necesario centrarse en mejorar las TRA y minimizar los impactos negativos innecesarios.
- Los efectos epigenéticos a largo plazo de las terapias de reproducción asistida aún deben ser evaluados
- Limitaciones éticas en investigación
- No olvidar que después de una transferencia embrionaria el desarrollo intrauterino también se ve afectado epigenéticamente por estímulos externos como la dieta o la nutrición

Bibliografía



- Marshall KL, Rivera RM. The effects of superovulation and reproductive aging on the epigenome of the oocyte and embryo. *Mol Reprod Dev.* 2018 Feb;85(2):90-105.
- Shi W, Haaf T. Aberrant methylation patterns at the two-cell stage as an indicator of early developmental failure. *Mol Reprod Dev.* 2002 Nov;63(3):329-34.
- Huffman SR, Pak Y, Rivera RM. Superovulation induces alterations in the epigenome of zygotes, and results in differences in gene expression at the blastocyst stage in mice. *Mol Reprod Dev.* 2015 Mar;82(3):207-17.
- Liu S, Feng HL, Marchesi D, Chen ZJ, Hershlag A. Effect of gonadotropins on dynamic events and global deoxyribonucleic acid methylation during in vitro maturation of oocytes: an animal model. *Fertil Steril.* 2011 Mar 15;95(4):1503-6.e1-3.
- Market-Velker BA, Zhang L, Magri LS, Bonvissuto AC, Mann MR. Dual effects of superovulation: loss of maternal and paternal imprinted methylation in a dose-dependent manner. *Hum Mol Genet.* 2010 Jan 1;19(1):36-51.
- Anckaert E, Fair T. DNA methylation reprogramming during oogenesis and interference by reproductive technologies: Studies in mouse and bovine models. *Reprod Fertil Dev.* 2015 Jun;27(5):739-54.
- Dvoran M, Nemcova L, Kalous J. An Interplay between Epigenetics and Translation in Oocyte Maturation and Embryo Development: Assisted Reproduction Perspective. *Biomedicines.* 2022 Jul 13;10(7):1689.
- Menezo Y, Clément P, Dale B. DNA Methylation Patterns in the Early Human Embryo and the Epigenetic/Imprinting Problems: A Plea for a More Careful Approach to Human Assisted Reproductive Technology (ART). *Int J Mol Sci.* 2019 Mar 17;20(6):1342.
- Market-Velker BA, Fernandes AD, Mann MR. Side-by-side comparison of five commercial media systems in a mouse model: suboptimal in vitro culture interferes with imprint maintenance. *Biol Reprod.* 2010 Dec;83(6):938-50.
- Verheijen M, Lienhard M, Schrooders Y, Clayton O, Nudischer R, Boerno S, Timmermann B, Selevsek N, Schlapbach R, Gmuender H, Gotta S, Geraedts J, Herwig R, Kleinjans J, Caiment F. DMSO induces drastic changes in human cellular processes and epigenetic landscape in vitro. *Sci Rep.* 2019 Mar 15;9(1):4641
- Lazaraviciute G, Kauser M, Bhattacharya S, Haggarty P, Bhattacharya S. A systematic review and meta-analysis of DNA methylation levels and imprinting disorders in children conceived by IVF/ICSI compared with children conceived spontaneously. *Hum Reprod Update.* 2014 Nov-Dec;20(6):840-52.
- Hattori H, Hiura H, Kitamura A, Miyauchi N, Kobayashi N, Takahashi S, Okae H, Kyono K, Kagami M, Ogata T, Arima T. Association of four imprinting disorders and ART. *Clin Epigenetics.* 2019 Feb 7;11(1):21.
- V Giorgione et al. Congenital heart defects in IVF/ICSI pregnancy: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018 Jan;51(1):33-42. doi: 10.1002/uog.18932.

CERPO

Centro de Referencia Perinatal Oriente

Facultad de Medicina, Universidad de Chile



Impronta genómica y FIV

Dra. Macarena Gajardo U.

Dra. Catherine Díaz

Dr. Juan Guillermo Rodríguez

Marzo 2024