

# Genome and epigenome approaches in human assisted reproduction

Citation for published version (APA):

Koeck, R. M. (2024). *Genome and epigenome approaches in human assisted reproduction*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20240313rk>

## Document status and date:

Published: 01/01/2024

## DOI:

[10.26481/dis.20240313rk](https://doi.org/10.26481/dis.20240313rk)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Nederlandse samenvatting

### **Genomische en epigenomische benaderingen voor kunstmatige voortplantingstechnieken (ART) bij mensen**

In de 45 jaar sinds de geboorte van de allereerste 'reageerbuisbaby' in 1978 zijn kunstmatige voortplantingstechnieken (artificial reproductive technologies, ART in het Engels), zoals in-vitrofertilisatie (IVF), uitgegroeid tot speerpunt van de behandeling van onvruchtbaarheid. Jaar op jaar is er een stijging van het aantal ART-cycli. Wereldwijd worden er nu meer dan 3 miljoen behandelingen uitgevoerd. In landen als Nederland wordt tegenwoordig 2.5% van de baby's geboren door middel van ART. Deze cijfers weerspiegelen verschuivingen in maatschappelijke opvattingen over voortplanting, waarbij een toenemende leeftijd van ouders en een groter verlangen naar reproductieve autonomie (inclusief de wens om een gezond kind te krijgen) kernwaarden zijn.

Het vergroten van ons inzicht in de dynamiek van het genoom en het epigenoom, evenals hun interactie met de omgeving van het embryo tijdens de vroege embryogenese kan nieuwe inzichten opleveren. Deze inzichten kunnen op hun beurt de optimalisatie van ART-procedures en embryoselectie bevorderen. Het uiteindelijke doel is om de succespercentages van ART te verbeteren. Een praktische uitdaging is om de nieuwste omics (DNA, RNA, eiwit) methoden te integreren en te ontwikkelen voor toepassingen bij laboratorium- en bioinformatische en bioinformatische analyses van pre-implantatie genetische testen (PGT). Dit vergemakkelijkt het karakteriseren van het embryonale genoom en waarborgt betrouwbare en gemakkelijke toegang tot PGT.

In **hoofdstukken 2 en 3** onderzoeken we de invloed van het gebruik van verschillende ART-kweekmedia op het methyloom van de resulterende kinderen (neonaten en 9-jarigen). Klinisch onderzoek heeft aangetoond dat het gebruik van de vier kweekmedia in kwestie zowel de uitkomsten van de ART-behandeling als de groei van de daaruit voortvloeiende kinderen beïnvloedde. Het onderliggende mechanisme van dit verband was nog niet vastgesteld. De twee onderzoeken die in dit proefschrift worden gepresenteerd, hebben geen verschillen in de hoeveelheid DNA-methylatie gevonden in de kinderen uit de respectievelijke kweekmediumgroepen. In beide onderzoeken werden echter wel verschillen in variantie van de DNA-methylatie waargenomen. De betekenis van verschillen in variantie van de DNA-methylatie moet nog worden bepaald, maar het zou kunnen wijzen op selectiedruk uit de omgeving of prenatale blootstelling die een subgroep van de onderzoeksgroep ervaart. Omdat deze studies geen licht werpen op de moleculaire mechanismen die verantwoordelijk zijn voor de groeiverschillen die worden waargenomen bij de ART-kinderen die zijn verwerkt na IVF met verschillende kweekmedia, zouden toekomstige onderzoeken kunnen overwegen om het methyloom op een eerder tijdstip te onderzoeken, bijvoorbeeld tijdens de in vitro pre-implantatie ontwikkeling van het embryo. Daarbij kan ook worden gekeken

naar andere epigenetische kenmerken, zoals histon-modificaties.

In **hoofdstukken 4 en 5** wordt de implementatie en validatie van verbeteringen aan de huidige PGT methoden uiteengezet. Deze genetische testen, uitgevoerd op embryobiopsie-materiaal verzameld tijdens een IVF cyclus, zijn essentieel voor de selectie van een embryo zonder ernstige genetische afwijkingen voor terugplaatsing. **Hoofdstuk 4** belicht de ontwikkeling van een innovatief monstervolgsysteem dat unieke barcode-oligonucleotiden gebruikt. Deze oligonucleotiden, samen met gangbare genotyping-by-sequencing (GBS) protocollen, worden aan elk monster toegevoegd bij aanvang van de verwerking in het laboratorium. De oligonucleotiden kunnen worden getraceerd en garanderen daarmee de zuiverheid van sequentiegegevens en voorkomen monsterverwisselingen. We hebben aangetoond dat het monstervolgsysteem veilig kan worden geïmplementeerd om de afhankelijkheid van het 4-ogenprincipe (er kijkt altijd iemand mee bij het werk als controleur) te verminderen en om verkeerde diagnoses gerelateerd aan monsterverwisseling of monstercontaminatie te voorkomen, terwijl de kwaliteit van de gegeneerde diagnostische gegevens behouden blijft. In **hoofdstuk 5** wordt de PGT methode gebaseerd op Whole Genome Sequencing (WGS) geïntroduceerd. Deze methode, onderscheidt zich door zijn vermogen om meer gegevens van hogere kwaliteit te genereren, wat leidt tot een verhoogde diagnostische nauwkeurigheid. In tegenstelling tot eerdere methoden, biedt WGS-PGT een veelzijdige en generieke benadering. Het is geschikt voor alle bestaande vormen van PGT: (i) PGT voor monogene aandoeningen, (ii) PGT voor structurele aandoeningen, en (iii) PGT voor aneuploïdieën (met oorsprong), (iv) daarnaast is deze methode ook toepasbaar voor PGT voor paren met een risico op een mitochondriale ziekte.

In **hoofdstuk 6** wordt een diepgaande karakterisering van het chromosomale landschap van vroege miskramen gepresenteerd. Dit werd gedaan door een bioinformatica-methode (genoombrede haplarithmisis) toe te passen op vlokkenweefsels en op extra-embryonale mesodermweefsels afkomstig van miskramen. Hiermee werd inzicht verkregen in de chromosomale samenstelling van de weefsels die respectievelijk verwant zijn aan de placenta en aan de foetus. Deze geavanceerde karakterisering toonde aan dat aneuploïdieën vaker voorkomen in weefsel van miskramen dan dat voorheen werd gedacht. Dit heeft gevolgen voor de klinische behandeling van zwangerschapsverlies, evenals de interpretatie van PGT-resultaten waar deze aneuploïdieën ook kunnen worden gedetecteerd.

In **hoofdstuk 7** worden de beschikbare methoden voor niet-invasieve, vloeibare biopsieën ("liquid biopsy" in het Engels), gebaseerde diagnostiek besproken evenals de huidige toepassingen in de reproductieve geneeskunde. Het artikel bespreekt hoe de huidige methodologische beperkingen kunnen worden overwonnen en hoe deze methoden in de toekomst kunnen worden benut voor pre-implantatie en prenatale genetische testen.