



Module Y học Sinh sản

© *Quyền sở hữu trí tuệ thuộc về Module YHSS, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.*

CHƯƠNG VII.

SỰ PHÁT TRIỂN CỦA PHÔI GIAI ĐOẠN SỚM: NHỮNG VẤN ĐỀ VỀ DI TRUYỀN VÀ THỪNG DI TRUYỀN

Bài 1.**LÀM TỔ THẤT BẠI VÀ THAI NGHÉN THẤT BẠI SỚM**Âu Nhựt Luân¹, Đỗ Thị Ngọc Mỹ², Trần Thị Thanh Loan³

© Bộ môn Phụ Sản, Khoa Y, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

¹ Bộ môn Phụ Sản, Khoa Y, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, e-mail: aunhutluan@ump.edu.vn.² Bộ môn Phụ Sản, Khoa Y, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, e-mail: dtnmy2003@yahoo.com.³ Bộ môn Mô học – Phôi thai học, Khoa Y, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, e-mail: nntd2001@gmail.com.**Mục tiêu bài giảng**

- Trình bày cơ chế của thất bại làm tổ và thai nghén thất bại sớm.
- Liệt kê được các cơ chế tác động của thượng di truyền.
- Trình bày được sự ảnh hưởng của thượng di truyền trong sự làm tổ.

1. TỈ LỆ LÀM TỔ THÀNH CÔNG THẤP PHẢN ỨNG SỰ THẤT BẠI TRONG VIỆC GIẢI MÃ DI TRUYỀN

Ở loài người, có sự chênh lệch rất lớn giữa tỉ lệ có thai sinh hóa và tỉ lệ có thai lâm sàng.

Ở loài người, tỉ lệ làm tổ thất bại của trứng đã thụ tinh rất cao. Chỉ có khoảng chưa đến 30% số chu kỳ có phóng noãn và thụ tinh là đi đến thai lâm sàng.

Có 3 nhóm lý do chủ yếu để giải thích hiện tượng này:

- Lệch bội ở phôi
- Đáp ứng miễn dịch thiên lệch Th1
- Bất thường kiểm soát thượng di truyền

Lệch bội ở phôi là hiện tượng thường gặp.

Lý do thứ nhất khiến tỉ lệ làm tổ thành công thấp là các bất thường kiểu lệch bội ở bào thai.

Khảo sát tiền lâm tổ thực hiện trên các phôi có được từ thụ tinh trong ống nghiệm xác nhận tính phổ biến của lệch bội ở phôi tiền lâm tổ.

Bất thường di truyền ở các mức độ khác nhau có thể ảnh hưởng lên tiến trình điều hòa các gene quan trọng của phôi, làm ngưng tiến trình phát triển phôi.

Miễn dịch tế bào có ảnh hưởng quan trọng lên giai đoạn trước thai lâm sàng.

Về mặt miễn nhiễm, sau làm tổ, tương quan Th1:Th2 có ý nghĩa quan trọng trong thành công hay thất bại của thai kỳ.

Ưu thế Th1 (pro-inflammatory) thường dẫn đến một thai kỳ thất bại, hay các thai kỳ với kết cục sản khoa xấu (phát triển bào thai bất thường, tăng huyết áp thai kỳ...).

Ưu thế Th2 (anti-inflammatory) liên quan đến một thai kỳ thành công. Ưu thế Th2 sẽ được duy trì trong suốt thai kỳ bình thường.

Bất thường thượng di truyền của nội mạc tử cung hay của phôi ảnh hưởng đến khả năng phát triển của phôi.

Các bất thường của các yếu tố nội tại hay ngoại lai có thể ảnh hưởng đến các cơ chế kiểm soát thượng di truyền của cả nội mạc tử cung lẫn phôi thai.

Bất thường kiểm soát thượng di truyền trên nội mạc tử cung có thể có nguyên nhân nội sinh (như rối loạn phóng noãn) hay ngoại sinh (dùng thuốc ngoại lai) làm thay đổi tiến trình điều hòa gene của nội mạc tử cung, di dời vị trí của cửa sổ làm tổ, qua đó ảnh hưởng đến khả năng làm tổ của phôi.

Bất thường thượng di truyền của phôi, đặc biệt là các có được từ thụ tinh trong ống nghiệm, có thể ảnh hưởng đến chương trình hóa điều hòa gene, làm phôi thất bại trong phát triển.

Phân ly chức năng giữa lá nuôi và khối tế bào trong của phôi ngày càng rõ.

Diễn biến hCG phản ánh hoạt động lá nuôi.

Phôi càng phát triển, sự phân ly giữa phôi và lá nuôi càng trở nên rõ hơn.

Hoạt động xâm thực và chế tiết hCG của lá nuôi không liên quan và không phản ánh những gì xảy ra tại đĩa phôi. Hoạt

động của lá nuôi là sản xuất hCG để duy trì thai kỳ. Biểu hiện của hCG thể hiện tình trạng lành mạnh của hoạt động lá nuôi.

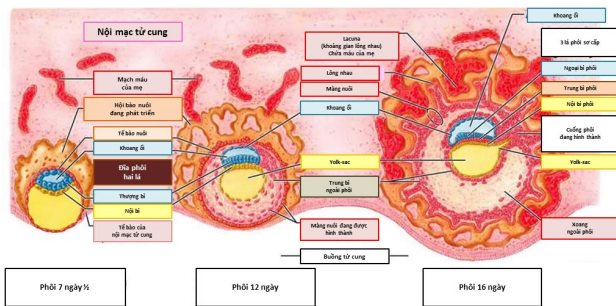
Trong khi đó, tại đĩa phôi, quá trình điều hòa gen, phân chia, biệt hóa thành tạo cơ quan là các sự kiện chính. Hoạt động của phôi không song hành, cũng không được thể hiện qua hoạt động của lá nuôi.

Ở thời điểm 3 tuần sau thụ tinh, thai kỳ được xác nhận trên lâm sàng bằng siêu âm.

Phôi hoàn tất tiến trình làm tổ vào ngày thứ 14.

Lông nhau và các cấu trúc màng đệm đã hình thành, tiếp cận với các hồ máu sơ khai.

Ở phôi, đã hình thành đĩa phôi 2 lá, túi ối (amnion) và túi noãn hoàng (yolk-sac).



Hình 7.1.1. Từ ngày thứ 10 đến ngày thứ 14.

N₁₀, hội bào nuôi bắt đầu phá vỡ thành công mạch máu của nội mạc. Máu từ các mạch máu bị vỡ lấp đầy khoảng trống tạo bởi các hội bào nuôi, cho phép diễn ra trao đổi chất trực tiếp giữa mẹ và phôi. Kể từ thời điểm này, phôi trực tiếp nhận dưỡng chất và thực hiện trao đổi khí với máu mẹ qua các hồ máu sơ khai. Mặt khác, hCG từ hội bào nuôi sẽ thông qua hồ máu để đi vào máu mẹ.

N₁₄, phôi hoàn tất tiến trình làm tổ. Lông nhau nguyên thủy và cấu trúc màng đệm đã hình thành, tiếp cận với hồ máu sơ khai. Trên phôi, hình thành đĩa phôi 2 lá, túi ối và yolk-sac.

Nguồn: apsubiology.org

Khoảng một tuần sau thời điểm này, tức 3 tuần sau thụ tinh, thai kỳ có thể nhìn thấy được qua siêu âm.

Kể từ khi nhìn thấy được trên siêu âm, ta gọi là người phụ nữ có thai lâm sàng.

2. YẾU TỐ THƯỢNG DI TRUYỀN ĐÓNG VAI TRÒ CỐT LÕI TRONG SỰ THÍCH NGHI VỚI MÔI TRƯỜNG MỚI

Sự điều chỉnh yếu tố thượng di truyền đề cập đến sự thay đổi kiểu hình (xuất hiện) hoặc sự biểu hiện gen do các cơ chế khác với sự thay đổi trình tự DNA cơ bản.

Các cơ chế thay đổi biểu sinh không hoàn toàn rõ ràng, nhưng việc sửa đổi các yếu tố phiên mã, methyl hóa DNA, và thay đổi histone có thể là chìa khóa trong việc thay đổi các sự kiện phát triển. Một số khuyết tật bẩm sinh, bao gồm các vấn đề phát triển thần kinh (ví dụ rối loạn phổ tự kỷ), có thể là kết quả của biểu hiện gen biến đổi do hóa chất môi trường, ma túy và stress của người mẹ hoặc thay đổi dinh dưỡng thay vì thay đổi chuỗi DNA

Genomic imprinting là một quá trình thượng di truyền, trong đó allele được thừa hưởng từ mẹ hoặc cha được đánh dấu bằng cách methyl hóa (in dấu), vô hiệu hóa gen và cho phép biểu hiện gen không được in lại từ người kia. Chỉ có allele của người cha hoặc mẹ (bất kỳ một trong số một hoặc nhiều gen khác nhau) của một gen hoạt động trong con cái do đó biểu hiện hoặc không biểu hiện của một số gen nhất định

Hiểu được vai trò của sự thay đổi thượng di truyền trong sự phát triển của phôi thai đã được mở rộng trong những năm gần đây. Thượng di truyền (epigenetics) khác biệt với di truyền học vì nó đại diện cho nghiên cứu về sự thay đổi di truyền trong chức năng của gen mà không thể giải thích bằng những thay đổi cơ bản trong chuỗi DNA. Định nghĩa kinh điển của thượng di truyền được mở rộng bao gồm nghiên cứu về sửa đổi như acetone hóa histone và phosphoryl hóa, trong đó mặc dù sự biểu hiện gen bị ảnh hưởng, sửa đổi không nhất thiết phải thừa kế.

Các cơ chế mạnh mẽ trong việc điều hòa thượng di truyền là biến đổi histone, methyl hóa DNA, và miRNAs.

Các dấu ấn thượng di truyền (mã thượng di truyền – epigenetics code) được điều hòa bởi các loại enzyme nhận biết các dấu hiệu thượng di truyền (reader), thêm các dấu hiệu thượng di truyền vào DNA hoặc histone (writers), hoặc loại bỏ dấu hiệu thượng di truyền (erasers).

Table 21-2 Proteins Essential for the Regulation and Interpretation of Epigenetic Marks

EPIGENETIC MODIFICATION	READER PROTEIN	WRITER PROTEIN	ERASER PROTEIN
Histone acetylation	Chromatin remodeling enzymes: SMARCA4 (formerly BRG1)	Histone acetyltransferases (HATs): E1A binding protein, 300-KD (EP300)	Histone deacetylases (HDACs): HDAC1
Histone methylation	Polycarb repressive complex: CBX2	Histone methylases (HMTs): EZH2	Histone demethylases: JARID1C
DNA methylation	MECP2	DNA methylases: DNMT1	Tet oncogene family members: methylcytosine dioxygenases (TET1)

Hình 7.1.2.

Rối loạn tái tạo sắc tố bao gồm Rett, Rubinstein-Taybi, và α -thalassemia / hội chứng chậm phát triển trí tuệ liên quan đến X và các loại ung thư khác nhau. Trong phòng thí nghiệm, ChIPseq (chẩn đoán miễn dịch nhiễm sắc thể kết hợp với trình tự DNA) và RNAseq (RNA sequencing) là những phương tiện có hiệu suất cao để xác định các gene mục tiêu của các yếu tố phiên mã trong toàn bộ hệ gen và đánh giá các mô hình biểu hiện gen bị thay đổi trong các giai đoạn phát triển hoặc trong các bệnh chẳng hạn như ung thư.

2.1. Biến đổi histone

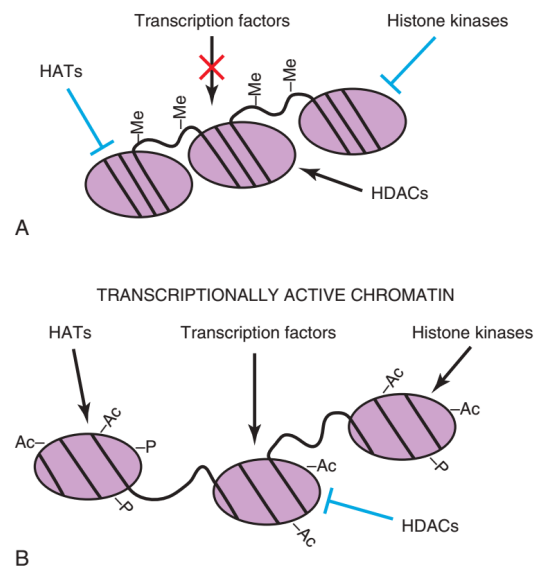
DNA di truyền (khoảng 140 cặp base) được cuộn chặt bởi các histone được gọi là nucleosome. Mỗi nucleosome gồm một đoạn ADN dài 146 bp quấn 2 vòng quanh lõi protein chứa 8 tiểu phần của 4 loại histone H2A, H2B, H3, H4. Sự biến đổi của các protein này là một con đường chung bằng cách yếu tố phiên mã điều hòa hoạt động của các promoter mục tiêu

DNA của tế bào eukaryote thì được bọc bởi những protein đặc hiệu là các histone. Histones là các protein hạt nhân tích điện (+) xung quanh DNA của bộ gen nào được cuộn lại trong các đơn vị khoảng 140 cặp base để gói chặt nó trong các cấu trúc gọi là nucleosome trong hạt nhân. Octamers histone bao gồm histone 2A, 2B, 3, và 4 tiểu đơn vị. Sự biến đổi của các protein này là một con đường chung mà theo đó các yếu tố phiên mã điều chỉnh hoạt động của các promoter mục tiêu của chúng. Ví dụ về sửa đổi histone bao gồm phosphoryl hóa, ubiquitin hóa, sumo hóa, acetyl hóa và methyl hóa.

Thông thường acetyl hóa và khử acetyl ở histone liên quan đến hoạt hóa hay kìm hãm hoạt động của gen.

Mỗi loại histone có thể được gắn nhóm acetyl ở những vị trí đặc hiệu bởi các enzym riêng biệt. Điều đó gây ra những tác động khác nhau đến biểu hiện của gen. Ngoài ra, quá trình acetyl hoá còn làm thay đổi cấu trúc của phức điều biến chromatin (*remodeling chromatin complexes*). Phức này có chức năng phá vỡ tạm thời cấu trúc lõi histone hay dịch chuyển nucleosome trên sợi nhiễm sắc. Chúng thường tương tác với vùng N-terminal của histone. Khi vùng này có mang nhóm acetyl, phức điều biến chromatin có thể làm cho các histone H2A-H2B bị di chuyển ra khỏi cấu trúc lõi nucleosome. Nhờ đó, các promoter được bộc lộ, cho phép quá trình tổng hợp ARNm được bắt đầu. Động học của phản ứng acetyl hoá và khử acetyl rất linh động, phức tạp, phụ thuộc vào hoạt tính của các enzym liên quan. Biến đổi thuận nghịch giữa hai dạng acetyl hoá và khử acetyl của histone phụ thuộc vào hai loại enzyme

histone acetyl transferase (HAT) và histone deacetylase (HDAC) cùng với các protein đồng hoạt hóa (*coactivator*) với HAT hoặc đồng ức chế (*corepressor*) với HDAC. Rõ ràng, hai quá trình acetyl hoá và khử acetyl có tác dụng ngược nhau trong việc làm thay đổi cấu trúc sợi nhiễm sắc và hoạt động của các gen. Các enzym deacetylase HDAC làm giảm mức độ acetyl hoá histone, dẫn đến kìm hãm quá trình phiên mã. Ngược lại, enzym acetyl transferase HAT tăng cường acetyl hoá kích thích quá trình phiên mã. Mặt khác, cạnh tranh giữa hai phản ứng acetyl hoá và khử acetyl giúp sợi nhiễm sắc thay đổi cấu trúc linh hoạt, đáp ứng kịp thời với tăng cường hoặc kìm hãm hoạt động của gen.



Hình 7.1.3. Các thay đổi thượng di truyền làm thay đổi tính chất phiên mã của chromatin

2.2. Sự methyl hóa DNA

Trái ngược với cơ chế năng động của sự thay đổi histone, **DNA methyl hóa được sử dụng để kìm hãm lâu dài các gene.**

Cytosine đơn phân được nhanh chóng methyl hoá ở dinucleotides GC sau khi cấy phôi bằng DNA methyltransferases (enzyme writer). Trong quá trình phát triển phôi, các gene đa năng, được thể hiện trong tế bào gốc phôi thai, bị kìm chế khi tế bào phân biệt. Phản ứng được duy trì bằng cách methyl hóa các loci trong các tế bào biệt hóa. Trạng thái methyl hóa này bị xóa bỏ trong các tế bào mầm nguyên thủy để cho phép tái biểu hiện các gene đa năng. DNA methyl hóa cũng được cơ thể sử dụng để đàn áp hiệu quả các bộ gene của virus được tích hợp vào

trong cơ thể chúng ta. Các dấu hiệu kiểm chế không được thiết lập lại trong các tế bào mầm nguyên thủy và thừa hưởng bởi con cháu.

Trong ung thư, các gen ức chế khối u thường bị vô hiệu hóa bởi sự methyl hóa DNA cho phép tăng trưởng tế bào không kiểm soát được. Các đột biến trong ECP2, gắn với DNA được methyl hóa (enzyme reader), dẫn đến hội chứng Rett rối loạn phát triển. Một số chất phân tách ADN như 5-azacytidin và decitabine, đang được sử dụng lâm sàng để điều trị các rối loạn khác nhau, bao gồm ung thư. Những thuốc này, cùng với chất ức chế HDAC như axit valproic, là những ví dụ về liệu pháp thượng di truyền

2.3. MicroRNAs

miRNA (μ RNA) là một non-coding RNA (vì nó không dùng để dịch mã thành protein) và đóng vai trò điều chỉnh *gene expression*. miRNA có chiều dài rất ngắn (21-23 nucleotides) và trước đây chỉ được xem là một “junk” RNA (nghĩa là không có vai trò gì cả). miRNA đầu tiên được tìm ra có tên là **lin-4** do Victor Ambros và các đồng nghiệp Rosalind Lee và Rhonda Feinbaum tại Đại học Harvard trong khi đang nghiên cứu sự phát triển của giun (nematode) *Caenorhabditis elegans* có đột biến.

Sự ra đời của miRNA cho thấy RNA không chỉ làm duy nhất công việc tạo ra protein.

Mục đích chính của miRNA là giảm biểu hiện gen (down regulate gene expression).

Có nhiều loại miRNA đóng vai trò này. Người ta dự đoán có khoảng 1000 miRNA trong con người, và khoảng 500 trong chúng đã được nhận diện.

Các miRNAs nhắm đến hơn một nửa các gen thể hiện trong quá trình phát triển, và mỗi miRNA đặc trưng cho hàng trăm gen. Mặc dù chúng không được coi là phương tiện biểu hiện cổ điển để thay đổi biểu hiện gen, chẳng hạn như methyl hóa DNA và biến đổi histone, miRNA cũng sửa đổi biểu hiện gen mà không thay đổi trình tự DNA. Các miRNA gấp lại để hình thành các kẹp tóc ngắn, có thể phân biệt với các phân tử RNA doubles-stranded.

MiRNA profiling đang được phát triển như là một loại dấu ấn sinh học tiên lượng cho kết quả bệnh. Công nghệ sinh học đã thông qua sức mạnh của can thiệp RNA để knock-out các biểu hiện RNA đặc hiệu, và những phương pháp này đang được giới thiệu đến lâm sàng như là một dạng của liệu pháp miRNA.

3. YẾU TỐ SINH HỌC PHÂN TỬ VÀ DI TRUYỀN ẢNH HƯỞNG ĐẾN SỰ LÀM TỔ

Hầu hết các nghiên cứu về sinh học phân tử và di truyền học của sự phát triển của động vật có vú sớm đã được thực hiện trên chuột, sau đó được thực hiện trên phôi của loài linh trưởng và được so sánh với kết quả nghiên cứu trên chuột.

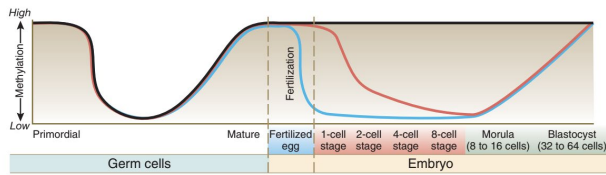
Hậu quả của việc thiếu lưu trữ ribosome và RNA lớn trong quá trình sinh sản của động vật có vú là hợp tử phải dựa vào các sản phẩm gene phôi rất sớm trong quá trình cắt, điển hình là ở giai đoạn hai tế bào hoặc bốn tế bào (4-8 tế bào ở người). Đường như không có sự chuyển đổi mạnh mẽ giữa sự chấm dứt sự phụ thuộc vào các sản phẩm gene thuần chủng và sự bắt đầu sao chép từ bộ gen phôi thai. Một số sản phẩm gen của người (ví dụ như đồng vị của β -glucuronidase và β 2-microglobulin) xuất hiện trong phôi rất sớm, trong khi actin mẹ và histone mRNAs vẫn đang được sử dụng để sản xuất các protein tương ứng. Như một dấu hiệu cho thấy phôi sớm dựa vào các sản phẩm gen của chính nó, sự phát triển qua giai đoạn hai tế bào không xảy ra ở chuột nếu quá trình mã hoá mRNA ức chế. Ngược lại, điều trị phôi ếch nhái tương tự không làm gián đoạn sự phát triển cho đến sự phân hủy muộn, tại thời điểm đó các phôi bắt đầu tổng hợp các mRNA cần thiết để kiểm soát các chuyển động hình thái và gastrulation.

Trứng trưởng thành và tinh trùng không hoạt động phiên mã. Một lý do chính cho điều này là DNA của chúng được methyl hóa cao.

Methylation, xảy ra trên dinucleotides CpG, thường làm bất hoạt gene liên quan. Sự ngưng hoạt động như vậy thường được gọi là quy luật biểu sinh bởi vì nó không làm thay đổi chuỗi DNA cơ bản. Methyl hoá có thể làm bất hoạt gen thông tin hoặc các nhà điều chỉnh của chúng (ví dụ, chất tăng cường hoặc chất kích thích). Các chu kỳ phát triển của methyl hóa và demethylation toàn cầu diễn ra trong suốt vòng đời của một cá thể (Hình 3-4). Trong vòng 4 giờ sau khi thụ tinh, bộ gen nguồn gốc cha để trải qua một quá trình khử methyl cực nhanh.

Demethylation của hệ genome sinh ra từ mẹ xuất hiện dần dần cho đến khi morula sớm, ở giai đoạn đó tất cả các DNA được demethylated tối đa. Sự tái methyl hóa xảy ra trong khối lượng tế bào bên trong, cho đến khi giai đoạn phôi nang muộn trở lại mức tối đa. Trong dòng tế bào mầm, các mức độ methyl hóa cao đặc trưng của phôi sớm giảm sau khi các tế bào mầm nguyên thủy đã vào xương sống bộ lạc. Trong quá trình phát triển giai đoạn sau, sự tái methyl hóa diễn ra. Sự phân loại này đặc điểm của người mẹ hoặc

người mẹ trên các giao tử và một số gen có ảnh hưởng sâu sắc đến phôi tạo ra từ các giao tử này.



Hình 7.1.4. Methylation của các lớp khác nhau của gen trong quá trình trưởng thành và phân chia.

Trong hai ngày đầu sau khi thụ tinh, hoạt tính phiên mã trong phôi phân chia rất thấp. Tương tự, trứng đã thụ tinh và phôi động vật có vú sớm có khả năng hạn chế dịch mRNAs. Yếu tố hạn chế hiệu quả dịch có thể là số lượng nhỏ các ribosome được lưu trữ trong trứng. Khi thu được từ cát, các sản phẩm từ các nhiễm sắc thể có mẹ và cha đang hoạt động trong việc hướng dẫn phát triển. Phôi haploid thường chết trong quá trình cắt hoặc ngay sau khi cấy ghép. Có nhiều bằng chứng, tuy nhiên, kiểm soát sự phát triển sớm liên quan đến nhiều hơn chỉ đơn giản là có một tập hợp các nhiễm sắc thể đôi trong mỗi tế bào.

Một gen quan trọng trong sự phát triển sớm là oct-4, một yếu tố phiên mã cụ thể liên kết octamer ATTTGCAT với DNA.

Có một mối quan hệ chặt chẽ giữa sự biểu hiện của gen oct-4 và trạng thái của các tế bào không phân biệt. Ở chuột, protein đực oct4 có nguồn gốc từ mẹ được tìm thấy trong quá trình phát triển noãn bào và hoạt động trong tử hợp. Sau khi bị mất cảm giác thực nghiệm của protein oct-4, sự phát triển bị bắt ở giai đoạn một tế bào. Các nghiên cứu này chỉ ra rằng cần có protein đầy oct4 đến mẹ để cho phép phát triển tiến tới giai đoạn hai tế bào, khi bắt đầu chuyển gen các phôi thai.

Gen oct-4 được biểu hiện trong tất cả blastomeres lên đến giai đoạn morula. Vì các tế bào phân biệt khác nhau bắt đầu nổi bật lên trong phôi, mức độ biểu hiện gen của oct-4 giảm xuống cho đến khi nó không còn phát hiện nữa. Sự sụt giảm như vậy được ghi nhận lần đầu tiên trong các tế bào hình thành các cấu trúc ngoài phôi và cuối cùng là trong các tế bào của các lớp mầm riêng biệt khi chúng xuất hiện từ rãnh nguyên thủy. Ngay cả sau khi hầu như tất cả các tế bào của phôi đã ngừng biểu hiện gen oct-4, nó vẫn có thể phát hiện được trong các tế bào mầm nguyên thủy khi chúng di chuyển từ vùng allantois đến các gờ sinh dục. Vì mô hình phân bố của nó, nên protein oct4-4 được coi là đóng vai trò điều tiết trong việc duy trì trạng thái không phân biệt và thiết lập các tế bào mầm và duy trì tính đa năng của chúng.

Gen quan trọng khác trong sự phát triển sớm là Nanog. Nanog đầu tiên xuất hiện trong morula cuối cùng và cùng với Oct-4 chức năng để duy trì tính toàn vẹn của tế bào mầm phôi. Trong trường hợp không có chức năng Nanog, các tế bào mầm phôi phân biệt thành endoderm ban đầu (hypoblast), trong khi thiếu chức năng của oct-4 làm cho tế bào tế bào bên trong phân biệt thành trophoblast.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yen & Jaffe's reproductive endocrinology, 6th edition. Tác giả Jerome F. Strauss III và Robert L. Barbieri. Nhà xuất bản Saunders Elsevier 2010.
2. Obstetrics and gynecology 7th edition. Tác giả Beckmann. Hợp tác xuất bản với ACOG. Nhà xuất bản Wolters Kluwer Health 2014.
3. Bruce M. Carlson, MD, PhD, Human Embryology and Developmental Biology 4th.
4. Keith L. Moore et al., The Developing Human- Clinically Oriented Embryology, 10e.
5. Nguyễn Thị Hồng Nhung, Sinh học và Di truyền.