



Universidad Médica Pinar
ISSN: 1990-7990
galeno@infomed.sld.cu
Facultad de Ciencias Médicas de Pinar del Río Dr.
Ernesto Ché Guevara de la Serna
Cuba

Utilización de las técnicas de reproducción asistida en la prevención de enfermedades mitocondriales

López-Catá, Felipe de Jesús; Sabourín-Divé, José; Aguilar-Iraola, Idenia Juana

Utilización de las técnicas de reproducción asistida en la prevención de enfermedades mitocondriales

Universidad Médica Pinar, vol. 17, núm. 2, 2021

Facultad de Ciencias Médicas de Pinar del Río Dr. Ernesto Ché Guevara de la Serna, Cuba

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=638268499011>

Utilización de las técnicas de reproducción asistida en la prevención de enfermedades mitocondriales

Assisted reproductive techniques in the prevention of mitochondrial diseases

Felipe de Jesús López-Catá

Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey "Carlos J.

Finlay", Cuba

felipelopez.cata@gmail.com

Redalyc: [https://www.redalyc.org/articulo.oa?](https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=638268499011)

id=638268499011

José Sabourín-Divé

Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey "Carlos J.

Finlay", Cuba

Idenia Juana Aguilar-Iraola

Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey "Carlos J.

Finlay", Cuba

RESUMEN:

Introducción: la mitocondria es un importante orgánulo que posee ADN propio sensible a mutaciones. Estas mutaciones pueden provocar enfermedades mitocondriales, grupo heterogéneo que sugiere disfunción mitocondrial.

Objetivo: argumentar el papel de la utilización de las técnicas de reproducción asistida en la prevención de las enfermedades mitocondriales.

Método: se realizó una revisión bibliográfica durante el mes de mayo del 2019 en las bases de datos SciELO, PubMed y ClinicalKey. Se consultando 20 artículos empleando la combinación de términos mediante fórmulas de búsqueda y se utilizaron métodos teóricos de análisis-síntesis, inducción-deducción e histórico-lógicos.

Desarrollo: parte de la información necesaria para la síntesis de los componentes mitocondriales está codificada en el ADN mitocondrial. Las enfermedades mitocondriales no tienen cura, aunque pueden evitarse mediante un grupo de cuatro terapias de reemplazo mitocondrial que incluyen la transferencia de pronúcleo, de huso, de cuerpo polar primario y de cuerpo polar secundario. No obstante, estas técnicas pueden acarrear fenómenos adversos como la reversión, el *carryover* y la incompatibilidad entre el ADN nuclear y el ADN mitocondrial. El uso de estas técnicas desencadena múltiples conflictos bioéticos y sociales, y gran variedad de opiniones a pesar de sus resultados positivos.

Conclusiones: para la prevención de la transmisión de las enfermedades mitocondriales existen terapias de reemplazo mitocondrial derivadas de la fertilización in vitro, las cuales han sido experimentalmente apoyadas y no están exentas de fenómenos biológicos adversos. Los profesionales que abogan por estos procedimientos enfrentan desafíos bioéticos y sociales independientemente del beneficio que puede traer a la humanidad.

PALABRAS CLAVE: ADN Mitocondrial, Enfermedades Mitocondriales, Reproducción, Técnicas Reproductivas.

ABSTRACT:

Introduction: the mitochondrion is an important organelle that has its own DNA that is sensitive to mutations. These mutations can cause mitochondrial diseases, a heterogeneous group that suggests mitochondrial dysfunction.

Objective: to analyze the role of the use of assisted reproductive techniques in the prevention of mitochondrial diseases.

Method: a bibliographic review was carried out during May 2019 in SciELO, PubMed and ClinicalKey databases. Twenty articles were consulted using the combination of terms through searching procedures and theoretical methods of analysis-synthesis, induction-deduction and historical-logical methods were applied.

Development: part of the information required for the synthesis of mitochondrial components is encoded in the mitochondrial DNA. Mitochondrial diseases have no cure, although they can be avoided by a group of four mitochondrial replacement therapies that include pronuclear, spindle, primary polar body and secondary polar body transfer. However, these techniques can lead to adverse phenomena such as reversal, carryover and incompatibility between nuclear and mitochondrial DNA. The use of these techniques triggers multiple bioethical and social conflicts and a wide diversity of opinions despite their positive results.

Conclusions: mitochondrial replacement therapies derived from in-vitro fertilization procedures are available to prevent the transmission of mitochondrial diseases. These therapies have been experimentally supported and are not exempt from adverse biological phenomena. Professionals who advocate for these procedures face bioethical and social challenges regardless of the benefit they may bring to humanity.

KEYWORDS: DNA, Mitochondrial; Mitochondrial Diseases; Reproduction; Reproductive Techniques.

INTRODUCCIÓN

La ciencia surge como herramienta en el proceso de resolver y de poner al conocimiento de todos los resultados a los problemas de la humanidad. Uno de estos problemas es la reproducción humana. La presencia de hijos en la vida de la mayoría de las personas constituye un elemento importante por significados sociales y culturales. Sin embargo, el logro de un embarazo o la presencia de hijos no es algo que ocurre siempre de manera simple y predecible, existiendo eventos indeseados que obligan reformular expectativas de paternidad. Un ejemplo lo constituye la infertilidad(1).

La infertilidad es un problema común, definida como incapacidad de lograr el embarazo luego del año de relaciones sexuales frecuentes sin protección en parejas en edad reproductiva. Según estudios realizados por Ramírez Morán y col(1) el 15 % de parejas en edad fértil a nivel mundial tienen problemas de fertilidad lo que representa entre 60 y 80 millones de parejas. En Cuba se plantea que entre el 12 % y 15 % de la población es infértil mientras que entre el 2 % y el 3 % acude a consulta por infertilidad(2).

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) se enfocan en lograr gestaciones satisfactorias en parejas con problemas de infertilidad. La reproducción asistida permite que gran parte de parejas infértiles por causas conocidas logren la gestación.(2) Entre los países conocidos por ser líderes en la implementación de las TRA a nivel mundial está España con clínicas como IVF-Spain, siendo el mayor representante europeo, mientras que Chile, Panamá y Estados Unidos se destacan en el continente americano con múltiples laboratorios que realizan procedimientos de avanzada tecnología(2).

Los Centros de Reproducción Asistida en Cuba se clasifican en centros de alta y baja tecnología. Los centros de alta tecnología utilizan técnicas sofisticadas y tratan los problemas de infertilidad de causas hormonales y fallas de inseminación, así como la realización de la fertilización in vitro (FIV), la ovo-donación e inyección intracitoplasmática de espermatozoides, con un total de cuatro centros en todo el país ubicados en los hospitales “Hermanos Ameijeiras” y “Ramón González Coro” de la Habana, Hospital “Gustavo Aldereguía Lima” en Cienfuegos y Hospital “Vladimir Ilich Lenin” en Holguín(2).

Los centros de baja tecnología realizan técnicas de estimulación ovárica mediante terapia hormonal y ultrasonografía, inseminación intrauterina y tratamiento de infecciones vaginales. Entre estos centros se encuentra el Servicio Provincial de Baja Complejidad de Camagüey ubicado en el Hospital Universitario Docente Ginecobstétrico “Ana Betancourt de Mora”. En la provincia de Camagüey son anualmente remitidos a ese centro unos 4 000 pacientes, y entre 2016 y 2017 fueron atendidos más de 8 400(2). Hasta el 2018 en Camagüey se lograron 31 embarazos exitosos mediante TRA(2).

Las TRA pueden dividirse en dos grupos según el grado de invasión microscópica: las que involucran manejo directo de gametos y la que no. En el primer grupo se encuentra la inseminación artificial y el coito programado, que se subdivide en dos tipos: por seguimiento del ciclo natural y por inducción de la ovulación. En el segundo grupo se encuentran la FIV y la subrogación gestacional(3).

La FIV es el tratamiento que con mayor frecuencia se realiza dentro de la reproducción asistida de alta tecnología. Es un procedimiento de fecundación médicamente asistida, aplicado a parejas infértiles con la finalidad que los espermatozoides fertilicen óvulos en el laboratorio cuando están imposibilitados para hacerlo en su sitio natural. El primer reporte de FIV data de 1893, realizada sin éxito por Onanoff en mamíferos. En 1978 el grupo dirigido por el biólogo Robert Edwards empleó esta tecnología en humanos y logró su primer éxito con el nacimiento de Louise Brown, en Reino Unido(4).

La reproducción asistida, a pesar de tener casi 40 años de existencia es un campo minado al involucrar factores que pueden definir la vida del ser humano. Por ello es restringido en la práctica médica, pero con un desarrollo investigativo fructífero. Anteriormente, el único objetivo perseguido era lograr la gestación, pero el desarrollo de nuevos métodos científicos y avances en la Embriología, Biología Molecular y Fisiología Reproductiva, ha permitido que muchas investigaciones estén enfocadas en evitar la transmisión de enfermedades vía parental a través de la reproducción asistida, como las enfermedades mitocondriales (EM)(3). Las EM son un grupo de enfermedades cuya causa común reside en un mal funcionamiento mitocondrial(4).

El 6 de abril de 2016 nació en México un bebé sano hijo de jordanos. Lo más sorprendente de este hecho a simple vista sea la nacionalidad de los padres en relación al lugar del nacimiento. Sin embargo, esto cambia al analizar que la madre del bebé era portadora de mitocondrias cuyo ácido desoxirribonucleico mitocondrial (ADNmt) poseía mutaciones que provocan el Síndrome de Leigh, enfermedad que generalmente causa la muerte temprana. Esta pareja tuvo en año 2005 una niña cuya causa de muerte a los 6 años fue esta enfermedad, la cual también cegó la vida del segundo hijo de la pareja con solo ocho meses. El nacimiento del tercer hijo de la pareja en perfectas condiciones de salud fue resultado del empleo de técnicas de reemplazo mitocondrial o MRT (Mitochondrial Replacement Therapy), grupo de TRA por fecundación in vitro(5).

Las EM son causa importante de discapacidad y muerte. Ante estas entidades no existen tratamientos con 100 % de efectividad y los existentes se reducen al apoyo paliativo(4). Para reducir el riesgo de tener hijos afectados producto de mujeres con ADNmt mutado, las estrategias se enfocan en prevenir o reducir la transmisión de estas mitocondrias con el empleo de TRA que favorecería el nacimiento de fetos sanos. La presente revisión se realizó con el objetivo de describir el papel de las técnicas de reproducción asistida en la prevención de enfermedades mitocondriales.

MÉTODO

Se realizó una revisión bibliográfica narrativa con búsqueda de información durante el mes de mayo del 2019. Se consultaron 20 artículos bibliográficos recuperados de las bases de datos SciELO Cuba, PubMed y ClinicalKey. Los métodos teóricos utilizados para la realización del trabajo fueron el análisis-síntesis, inducción-deducción e histórico-lógico.

Se emplearon filtros para la selección de artículos en los idiomas inglés y español, y estrategias de búsqueda empleando combinación de términos y operadores booleanos. Se consideró como criterio de selección aquella literatura publicada en correspondencia con el tema de la infertilidad, las mitocondrias y su ADN, las EM y las MRT. Los términos utilizados fueron: ADN mitocondrial, enfermedades mitocondriales, reproducción asistida, así como su traducción al inglés: mitochondrial DNA, mitochondrial diseases, assisted reproduction.

DESARROLLO

Las mitocondrias son orgánulos celulares presentes en casi todos los organismos eucariontes, de aproximadamente 2 nm y peso molecular de 10 kDa. Son membranosos y tienen como principal rasgo estructural la presencia de dos membranas, una externa y otra interna en forma de crestas, un espacio intermembranoso y una matriz mitocondrial delimitada por la membrana mitocondrial interna. En este último compartimento hay ribosomas para sintetizar proteínas locales como enzimas para las reacciones bioquímicas mitocondriales, nutrientes, iones y 2-10 moléculas de ADN llamado ADN mitocondrial (ADNmt)(6,7).

Las mitocondrias son productoras de energía, cubriendo el 90 % de los requerimientos energéticos en forma de ATP, a través de la respiración celular. Este proceso involucra ocho reacciones del ciclo de Krebs

y la cadena respiratoria constituida por la cadena transportadora de electrones y fosforilación oxidativa. La cadena respiratoria requiere cinco complejos multienzimáticos específicos, por lo que parte de la información contenida en el ADNmt está vinculada a la síntesis de sus componentes(7).

En humanos, el ADNmt está constituido por una molécula de ADN de 16 569 pares de bases organizado en 37 genes que codifican para 13 proteínas, 22 ARNt y 2 ARNr requeridos para la traducción de proteínas de los complejos multienzimáticos de la cadena respiratoria. Se divide para su estudio en dos cadenas de distinto gradiente de sedimentación, una H (heavy, “pesada”) y una L (light, “ligera”). Aunque estos genes son esenciales también requiere de productos de expresión de 79 genes nucleares(4,6).

Los genes nucleares también son responsables de codificar factores relacionados con componentes estructurales mitocondriales, así como el control replicativo, expresión del ADNmt y fisión mitocondrial. El número de mitocondrias de cada célula refleja su demanda energética, de ahí que tejidos como el nervioso y muscular tengan muchas, variando también de acuerdo a la etapa de desarrollo(6).

Los ovocitos fertilizables de ratón y seres humanos tienen alrededor de 250 000 copias de ADNmt, cada célula del blastocito tiene alrededor de 1 000 y a partir de este período suelen tener muchas menos. Estos números arrojan que el número máximo de mitocondrias que puede tener una célula es sumamente pequeño dadas las consecutivas reducciones, sobre todo durante la primera semana del desarrollo(6). Esto podría ser base del fenómeno llamado cuello de botella mitocondrial, en alusión a una teoría de selección natural de Darwin(8). En el caso específico de la mitocondria, el cuello de botella expresaría que debido a que el número de copias de ADNmt que se transmiten a cada generación es restringido, solo algunas pocas formarán parte del embrión por lo que todas las variaciones que puedan poseer las copias transmitidas se expresarán(6,8).

La tasa de mutaciones en el ADNmt es de 5 a 10 veces mayor que el ADNn debido a tres hechos: generación de radicales de oxígeno por la cadena respiratoria, ausencia de histonas protectoras y presencia de pocos sistemas de reparación. Las mitocondrias defectuosas acarrearán devastadoras enfermedades. Los tejidos de alto requerimiento energético así como aquellos que tienen un elevado número de mitocondrias son los más afectados. Los defectos son generalmente resultado de mutaciones en porciones del ADNn requeridas para una correcta función mitocondrial(6).

Las mutaciones de ADNn son heredadas de la misma forma que otros caracteres genéticos y pueden provenir de ambos progenitores. Se ha demostrado que en 1 de cada 5 000 nacimientos la causa de defectos mitocondriales se encuentra en el propio ADNmt, donde cada célula contiene una mezcla de mitocondrias, en la que algunas poseen ADNmt mutante y otras ADNmt normal. Su frecuencia no se encuentra en equilibrio a causa del cuello de botella mitocondrial. A esta mezcla de mitocondrias defectuosas y normales se denomina heteroplasmia y en ella interviene la distribución desigual de mitocondrias durante la división celular. Una célula con un solo tipo de ADNmt, ya sea normal o anormal, es una célula homoplásmica(6).

La herencia del ADNmt difiere de ADNn: El ADNmt es transmitido únicamente vía materna a través del ovocito. Es un proceso conservativo que depende de la mitofagia y vías de degradación proteosómica, en el cual las mitocondrias paternas son degradadas luego de la fecundación y antes del inicio de la segmentación(7).

De esta forma, una mujer que posea una mutación genética mitocondrial patogénica, independientemente de que se exprese en su fenotipo, la transmitirá a la mayor parte de su descendencia. La gravedad de la enfermedad dependerá de factores como las características de la mutación, proporción de ADNmt normal y anormal en cada célula, requerimiento energético de cada tejido, etc. Muchas EM se vuelven más severas con la edad y algunas no se manifiestan hasta avanzada la vida posnatal. La heteroplasmia varía de un tejido al otro y resulta en manifestaciones específicas de la enfermedad según el órgano o sistema afectado. La homoplasmia de ADNmt anormal, está asociado a las enfermedades más severas(6,7).

Las principales EM asociadas a mitocondrias defectuosas dependen del nivel en el cual está el defecto que puede ser del nivel del ADNmt o del ADNn. Entre ellas se encuentran síndrome MERRF, síndrome

MELAS, neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON), paraplejía espástica hereditaria, enfermedad de Huntington (HD), enfermedad de Wilson y el síndrome de Leigh.

En el síndrome MERRF se presenta epilepsia mioclónica, degeneración neuronal con atrofia cerebral y cerebelar y fibras rojas rasgadas en biopsia. Es causado por mutación A8344G en el ADNmt que genera proteínas anómalas en complejos de la cadena respiratoria(4).

El síndrome MELAS (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidentes cerebrovasculares) se encuentra relacionado con la mutación A3243G en 80 % de casos. Los síntomas se manifiestan entre 2 y 10 años, caracterizado por ataques recurrentes de cefalea, vómito, convulsiones focales y generalizadas, síntomas neurológicos focales y alteraciones visuales. La intolerancia al ejercicio y debilidad en extremidades proximales son las primeras manifestaciones(4).

La LHON es una de las primeras enfermedades asociadas con defectos en el ADNmt. Su expresión es predominante en hombres, la edad de presentación es entre 15 y 35 años. La pérdida visual es central y generalmente en un ojo semanas o meses después. En fases agudas se encuentra papila hiperémica, dilatación vascular, hemorragias y edema papilar. En la mayoría, la pérdida visual es la única manifestación, aunque se observan en familiares, alteraciones cardíacas, neurológicas y musculares(4).

La paraplejía espástica hereditaria es causada por mutaciones en proteínas mitocondriales que provocan un descenso en la producción de ATP, con formación de radicales libres y alteraciones en la homeostasis del calcio celular. En esta enfermedad se encuentra mutada la paraplegina, metaloproteasa mitocondrial que origina defectos en la fosforilación oxidativa(4).

La HD es producida por expansión de tripletes citosina-adenina-guanina en sus respectivas proteínas y se desconoce el mecanismo de muerte de neuronas. El gen HD aporta nuevos conocimientos acerca de la patogénesis causada por la huntingtina mutante que forma agregados nucleares. Se considera la muerte neuronal como resultado de sobreactividad de la neurotransmisión del glutamato, llamado excitotoxicidad. La huntingtina puede alterar el aparato posináptico, reducir el anclaje de la PSD-95 y promover la sensibilización de receptores glutamatérgicos NMDA(4).

La enfermedad de Wilson se produce resultado de mutaciones del gen ATP7B que codifica la ATPasa transportadora de cobre, genera acumulación y toxicidad por cobre en riñón, hígado y cerebro. La acumulación de cobre origina radicales libres de oxígeno, que inhiben la piruvato deshidrogenasa y α -cetoglutarato deshidrogenasa(4).

El síndrome de Leigh es una encefalomiopatía infantil fatal que comienza en los primeros meses de vida. En esta se presentan lesiones focales bilaterales en áreas del sistema nervioso central, incluido tronco encefálico, tálamo, ganglios basales, cerebelo y la médula espinal. Se caracteriza por la regresión psicomotriz, disfunción del tallo cerebral, anomalías respiratorias y crisis epilépticas que conducen a la muerte del niño en breve período de tiempo. La mayoría de casos se deben a alteraciones del genoma nuclear transmitidas con herencia recesiva. Entre el 10 y el 20 % de individuos portan la mutación T8993G o T8993C en el gen MT-ATP6(4).

Diagnóstico genético preimplantación (PGD)

El PGD es un método confiable para evitar el nacimiento de niños con EM por afecciones en su ADNn, porque solo el embrión que se predice que no estará afectado se emplea para la implantación. En casos de mutaciones de ADNmt la biopsia del embrión revela únicamente la proporción de heteroplasmia, la cual puede ser alta o baja pero raramente cero. El PGD para mutaciones de ADNmt es útil como estrategia de reducción de riesgo, al ser definido teniendo en cuenta la mutación específica y su expresión en otros miembros familiares. El primer PGD exitoso se reportó en 2006, con solo diez casos más reportados hasta 2016 con niveles de heteroplasmia estimados aceptables para remplazo embrionario. El PGD no es recomendable para mujeres con altos niveles ADNmt anormal en sus ovocitos(9).

En estos casos la transmisión de la enfermedad de ADNmt puede ser evitada gracias a novedosas técnicas que incluyen transferencia del huso maternal (MST), transferencia pronuclear (PNT) o transferencia del

cuerpo polar (PBT). En estos avances, llamados MRT, se aísla el huso de un ovocito en metafase II (MST), el primer o segundo cuerpo polar (PB1T o PB2T) o el pronúcleo de un cigoto (PNT). El PST y PB1T se realizan antes de la fertilización mientras que la PNT y la PB2T se realizan en cigotos. El desarrollo de estas técnicas es sencillo, aunque la microbiología implicada conlleva precisión nanométrica. Estas terapias se basan en manejo genético de eventos reproductivos sencillos y descifrados hace tiempo que encerraban un potencial no explotado(10).

Transferencia de pronúcleo (PNT)

La palabra pronúcleo designa núcleos individuales haploides de cada gameto antes de fusionarse con información genética nuclear de cada padre. Al fusionarse las membranas de los gametos durante la fecundación el contenido del espermatozoide es precipitado al interior del ovocito. Parte del contenido del espermatozoide es degradado en un proceso de mitofagia o autofagia, conservándose un centriolo que es empleado para formar el huso mitótico del cigoto y el genoma contenido en el pronúcleo. Una vez terminados estos procesos, de los cuales no está exento el pronúcleo materno que sufre cambios discretos, se fusionan los pronúcleos restableciendo la diploidía(11,12).

En esta terapia se emplean cigotos donde los pronúcleos no se han fusionado totalmente. El cigoto donado sano es anucleado formándose un citoplasto, inoculándole pronúcleos de la pareja extraídos del ovocito con mitocondrias anormales a punto de fusionarse. Estos luego de fusionarse se dividen como un núcleo único diploide, ocurriendo la segmentación(11).

Transferencia de huso maternal (MST)

El huso mitótico es un conjunto de microtúbulos provenientes del centriolo formados por tubulina. La tubulina es una proteína dímera de tubulina α y β que por polimerización-despolimerización forman fibras proteicas. En la división celular, estas fibras separan cromosomas por el cinetocoro (mitosis o meiosis II) o quiasmas en (meiosis I), por lo que en ciertas fases del ciclo celular, se puede obtener un huso mitótico fuertemente asociado al genoma celular del que se extrajo(10,13).

En las MST se toma un ovocito no fertilizado donado y se extrae el huso en metafase II. Este ovocito posee mitocondrias con ADNmt normal. Luego se toma el ovocito que contiene mitocondrias con ADNmt anormal y se extrae el huso mitótico con ADNn de la madre en la misma fase. Este huso es transferido al ovocito donado, inoculado en un medio que contenga el esperma del padre deseado, ocurriendo la fecundación. A partir de este momento, transcurre la meiosis II, se forma el cigoto con ADNn de los padres y ADNmt donado y el segundo corpúsculo polar que degenera(13).

Transferencia de cuerpos polares 1 y 2 (PB1T y PB2T)

Los cuerpos polares son resultado de la compartimentación desigual del citoplasma y sus componentes durante la meiosis del ovocito. Esta división está relacionada con el aumento de tamaño del ovocito, su preparación bioquímica y fisiológica para alojar al pre embrión y la dotación citoplasmática asimétrica. Se simula una gemación, formando luego de la meiosis I un ovocito primario y el primer cuerpo polar, una célula pequeña y rechazada pero con cierta funcionalidad que se aloja en el espacio perivitelino pero por lo general es expulsado. Este puede incluso experimentar una división, dando lugar a dos corpúsculos polares secundarios(14).

Cuando el ovocito es fecundado, se reanuda y culmina la meiosis II y se obtiene otro cuerpo polar. Este puede continuar en el espacio perivitelino incluso hasta etapas avanzadas de la segmentación y es proclive a sufrir otra división. La única diferencia entre un ovocito y un cuerpo polar secundario está en que el tamaño y la capacidad adquirida; donde el primero es mayor puesto que se desarrolla a expensas del segundo. No obstante, el cuerpo polar conserva información genética materna y una porción del contenido citoplasmático presenta pocas mitocondrias. Existen reportes de embarazos gemelares resultado de la fertilización del ovocito y de un cuerpo polar(14).

Las PBT difieren según el tipo de corpúsculo trasplantado. Estas terapias son más complicadas, requiriendo inocular con exactitud el cuerpo polar. Consiste en la capacidad del cuerpo polar de donar su contenido

al ovocito en caso de que se dañara o perdiera su material nuclear, condición que se cumple en un ovocito anucleado artificialmente(14).

Para transferir el cuerpo polar primario (PB1T) se toman el ovocito donado y el anormal antes de la fertilización en metafase II y se les extrae el huso materno y el cuerpo polar. Los de la donante son desechados mientras el huso materno del ovocito anormal se almacena y se transfiere el cuerpo polar al espacio perivitelino del donado. El cuerpo polar dona su genoma al ovocito, entrando en metafase y culminándola luego de fertilizado, obteniéndose el cigoto y un cuerpo polar secundario(14). Esta terapia es bivalente porque el huso materno es transferido a otro ovocito anucleado obteniéndose 2 cigotos simultáneamente por PB1T y MST, aumentando la posibilidad de éxito(10,14).

Por otra parte, para transferir el cuerpo polar secundario se toman ovocitos donados y anormal fertilizados por el mismo esperma, antes de la fusión de pronúcleos. Al ovocito donado se le extrae el cuerpo polar secundario y pronúcleo materno siendo desechados, mientras que al anormal se le extrae el cuerpo polar secundario, inoculándose en el espacio perivitelino del donado. El cuerpo polar dona su genoma al ovocito. El genoma polar se transforma en pronúcleo femenino y se fusiona con el masculino obteniéndose el cigoto, sin cuerpo polar secundario, ya que este se forma en meiosis II y es extraído previamente. Esta terapia es bivalente también porque se obtienen 2 cigotos simultáneamente por PB2T y PNT(14).

Para apoyar estas terapias, se realizaron experimentos tanto en animales mamíferos como humanos. Resultan interesantes investigaciones recientes sobre MRT en Macaca mulatta(9). Tachibana y col(13) reportaron 53 % de incidencia de fertilización anormal, sin embargo los embriones restantes se desarrollaron hasta la etapa del blastocito y formaron células madres embrionarias normales. Gammage y col(15) usaron activación partenogenética enfocándose en el problema del movimiento del ADNmt anormal durante las MRT, el cual fue detectado en proporciones menores al 1 % en mórula y blastocito.

Experimentos recientes sobre el uso de la transferencia de pronúcleos en cigotos humanos anormales también reveló la importancia del perfeccionamiento. La heteroplasma fue menor al 2 % mientras menos citoplasma se transfirió(12). Para los autores, despreciando las dificultades del trabajo con cigotos anormales, tanto la MST como la PNT tienen un alto potencial en la prevención de EM.

Se han redactado dos informes acerca de modificación de embriones humanos a través de MRT y su transferencia a la madre. Zhang y colaboradores(16) describieron el uso de PNT para establecer el embarazo en mujeres de 30 años con infertilidad inexplicada. Adicionalmente la transferencia de huso para tratar casos de síndrome de Leigh ha sido reportada: la transferencia de un blastocito euploide XY obtenido por MST resultó en el posterior nacimiento del feto. El neonato tuvo una tasa de mutación del ADNmt de 2,36 % variando según el tejido hasta no más de 9,23 % y se reportó que estuvo saludable hasta que finalizó la observación(16).

Existe un cúmulo de técnicas y retos biológicos a perfeccionar en los actuales protocolos de MRT:

En 2014 un dato disponible del panel de expertos mostró que en una minoría de líneas de células madres, la proporción de ADNmt defectuosos se incrementaba con el tiempo, alcanzando la homoplasma. La comunidad científica se refiere a este fenómeno como “reversión”. No hay un consenso en su mecanismo de producción. El avance biotecnológico actual lleva a indicar que si este fenómeno se convirtiera en factor de riesgo para MRT, los métodos para evitar la transferencia de ADNmt mutante podrían dirigirse a su destrucción redirigiendo la mitofagia o editando el genoma(6,10).

Es frecuente la preocupación sobre el hecho de que las MRT pueden disolver interacciones entre el genoma nuclear y mitocondrial debido a nuevas combinaciones (incompatibilidad de ADNn-ADNmt). Estudios enfocados en secuenciar todo el genoma de pacientes con EM y familiares no afectados promete relevar las variantes de predisposición a la enfermedad. Un estudio encontró potencialmente patogénico las mutaciones puntuales en el 24,6 % de los nuevos casos y uno de cada cinco casos analizados tenía una mutación en el gen nuclear POLG requerido para la replicación del ADNmt(7,10). Los autores consideran que los avances

de la secuenciación genética permitirán el descubrimiento de nuevos alelos letales y los mecanismos que los producen.

Puede existir transferencia de mitocondrias defectuosas asociadas al carioplasto al ovocito sano donado. Si no se transfiere mitocondrias asociadas al genoma nuclear del paciente se garantiza que la descendencia será totalmente sana en términos mitocondriales. Diversos investigadores afirman tener la clave de reducción del carryover empleando técnicas como manipulación de mitofagia celular, optimización de PBT, edición genómica, disrupción del citoesqueleto, minimización mecánica y generación de ovocitos in vitro(8).

Valoración ética de la MRT

Como todo procedimiento relacionado con la reproducción asistida, las MRT se enfrentan a retos sociales y regulatorios. Muchos están enfocados en el simple hecho filosófico y biológico que implica que bebés nacidos con estas técnicas tendrían dos madres y un padre biológico. Las controversias éticas y legales acarreadas por el nacimiento exitoso de un feto producto de una MRT significó un reto para la Food and Drug Administration de Estados Unidos. Es probable que más casos de aplicaciones clínicas sean reportadas luego que el Human Fertilization and Embryology Act (HFEA) otorgara permisos para llevar a cabo la PNT al Newcastle Fertility At Life(17).

Es alarmante el hecho de que las MRT cambian una parte importante del genoma celular de la descendencia, el genoma mitocondrial, por lo que los descendientes de una mujer nacida gracias a un procedimiento de MRT contendrán una combinación de ADNn-ADNmt probablemente no observado en la naturaleza de forma convencional(18).

Estas han sido algunas causas que evitan que procedimientos innovadores y beneficiosos se expandan a nivel mundial, limitando su legalidad a China y Reino Unido, además de cierta tolerancia en Estados Unidos(19). Es pronto hablar de futuras consecuencias de ser un “bebé triparental”, término popularizado por los medios, ya que el único caso de dominio público cumplirá cuatro años en abril del 2020, gracias al trabajo de Zhang y colaboradores(16).

A criterio de los autores, el acercamiento ético y filosófico de críticos que rechazan las MRT es hasta cierto punto válido, sin embargo, proviene del análisis superficial basado fundamentalmente en fuentes sensacionalistas, pseudocientíficas y exponentes de datos selectivamente incompletos. Evidencia de esto se puede recoger a través de simples investigaciones empleando motores de búsqueda estándar como Google sobre las MRT, notando el empleo de términos como “triparental”, obviando la esencia que es la prevención de enfermedades, en su mayoría letales, y evitando las consecuencias despreciables(20).

Es probable que los detractores, erróneamente se basen en la posibilidad de que las MRT sólo sean intentos de ciertas empresas de satisfacer con fines lucrativos necesidades reproductivas de algunas nuevas formas constitucionales de familia y matrimonio existentes en la sociedad contemporánea. Diametralmente diferentes serán los resultados de una investigación a partir de artículos científicos, principalmente porque estos tienen como fuente informativa datos del fenómeno in situ.

Estos procedimientos son técnicas positivas de avanzada, que si bien son invasivas microscópicamente, cambiarán de forma decisiva la vida de millones de familias; dando giro a la historia de la reproducción asistida y el tratamiento de las EM. Además, permitirá que padres con mutaciones genéticas raras tengan bebés sanos. En las MRT, no se destruyen embriones, no se deja progresar embriones ex utero por 14 días que es el límite reglamentario, y representan una vía difícil pero humana de salvar vidas de forma ética(20).

En Cuba no se reporta la utilización de MRT para la prevención de EM, no obstante, se han dado grandes pasos de avance en la introducción de las TRA al país como parte de la política del estado cubano. Esto se evidencia en la creación en 2007 del Programa de Atención a la Pareja Infértil que norma y protocoliza todos los procesos y actividades vinculadas con la atención a la infertilidad en el Sistema de Salud Pública Cubano(2).

Cuba ofrece a las parejas infértiles TRA y FIV gratuitas desde este programa gubernamental que comienza en la Atención Primaria de Salud de cada municipio con consultas de infertilidad y Servicios

de Reproducción Humana insertados en cada Hospital Ginecobstétrico o General, los cuales brindan una atención individualizada, además de la existencia de un tercer nivel de centros de alta tecnología para los casos que no encuentren solución(2).

CONCLUSIONES

Las mitocondrias son organelos celulares productoras de energía metabólica, estando codificada parte de la información para la síntesis de sus componentes en el ADNmt. Las enfermedades mitocondriales se originan por defectos del ADNn, del ADNmt o interacciones anómalas entre estos, y aunque no tienen cura, pueden evitarse mediante un grupo de terapias de remplazo mitocondrial derivadas de la fertilización *in vitro*: la transferencia de pronúcleo, de huso, de cuerpo polar primario y de cuerpo polar secundario. Estas son experimentalmente apoyadas y no exentas de fenómenos biológicos adversos. Estos procedimientos y los profesionales que abogan por ellos se enfrentan múltiples desafíos bioéticos y sociales, así como a una variedad de opiniones independientemente del beneficio que puede traer a la humanidad su empleo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

FJLC y JSD se encargaron de la conceptualización. FJLC se encargó de la metodología, administración del proyecto y supervisión. JSD se encargó de la visualización. IJAI se encargó de la curación de los datos y recursos. Todos los autores participaron en la redacción del borrador original, revisión y edición.

FINANCIACIÓN

Los autores no recibieron financiación de ninguna institución durante la realización del presente artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramírez-Morán AF, Cala-Bayeux A, Fajardo-Iglesia D, Grave de Peralta RS. Factores Causales de Infertilidad. Rev Inf Cient [Internet]. 2019 [citado 22/03/2020]; 98(2):[aprox. 10p.]. Disponible en: <http://www.revinfcientifica.sld.cu/index.php/ric/article/view/2235>
2. Rodríguez-Abalo OC, Morales-Tajarano L, Morales-Tajarano M, Méndez-Guerrero G. Impacto social de los resultados del Servicio de Reproducción Asistida de Baja Complejidad de Camagüey. Rev Hum Med [Internet]. 2019 [citado 22/03/2020]; 19(1):1-15. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-81202019000100001&Ing=es
3. Rodríguez-Martínez K, Méndez Vidal J. Factores clínico-terapéuticos que influyen en el logro de embarazo en pacientes tratadas por fertilización *in vitro*. Revista Cubana De Endocrinología [Internet]. 2015. [citado 22/03/2020]; 26(2):108-123. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1561-29532015000200002&script=sci_arttext&tlng=en
4. Pérez-Hidalgo ME, Boue Ávila A, Boue Ávila AD, Martínez Cañete M, Cruz Lage L. Actualización sobre el tema de las enfermedades mitocondriales. Correo Científico Médico [Internet]. 2015 [citado 22/03/2020]; 19(3):483-496. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812015000300009&Ing=es
5. Palacios-González C, Medina Arellano MJ. Mitochondrial replacement techniques and Mexico's rule of law: on the legality of the first maternal spindle transfer case. J. Law Bio Sci [Internet]. 2017 [citado 22/03/2020]; 4(1):50-69. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/article/PMC5570699/>
6. Ramírez-Miranda A, Navas Pérez A, Gurria Quintana L, Vargas Ortega J, Murillo Correa C, Zenteno JC. Detección de deleciones en DNA mitocondrial heteroplásmico. Arch Soc Esp Oftalmol. [Internet]. 2008 [citado 22/03/2020]; 83(3). 155-9. Disponible en: <http://www.oftalmo.com/se/archivos/maquetas/9/0AC17772-4594-00C8-F3F8-000022D59829/articulo.pdf>
7. Wolf DP, Hayama T, Mitalipov S. Mitochondrial genome inheritance and replacement in the human germline. EMBO J [Internet]. 2017 [citado 22/03/2020]; 36(2):2177-2181. DOI: 10.15252/embj.201797606. Disponible en: <https://www.embopress.org/doi/10.15252/embj.201797606>

8. Kang E, Wu J, Martin-Gutiérrez N, Koski A, Tippner-Hedges R, Agaronyan K, et al. Mitochondrial replacement in human oocytes carrying pathogenic mitochondrial DNA mutations. *Nature* [Internet]. 2016 [citado 22/03/2020]; 540(1):270–275. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nature20592>
9. Lee HS. Rapid mitochondrial DNA segregation in primate preimplantation embryos precedes somatic and germline bottleneck. *Cell Reports* [Internet]. 2012 [citado 22/03/2020]; 1(5):506–515. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124712000964>
10. Greenfield A, Braude P, Flinter F, Lovell-Badge R, Ogilvie C, Perry ACF. Assisted reproductive technologies to prevent human mitochondrial disease transmission. *Nature Biotechnology* [Internet]. 2017 [citado 22/03/2020]; 35(11):1059–68. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nbt.3997>
11. Hyslop LA, Blakeley P, Craven L, Richardson J, Fogarty NME, Fragouli E, et al. Towards clinical application of pronuclear transfer to prevent mitochondrial DNA disease. *Nature* [Internet]. 2016 [citado 22/03/2020]; 534(2):383–6. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nature18303>
12. Zhang J. Pregnancy derived from human zygote pronuclear transfer in a patient who had arrested embryos after IVF. *Reprod. Biomed. Online* [Internet]. 2016 [citado 22/03/2020]; 33(9): 529–533. Disponible en: [https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(16\)30439-4/fulltext](https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(16)30439-4/fulltext)
13. Tachibana M, Kuno T, Yaegashi N. Mitochondrial replacement therapy and assisted reproductive technology: A paradigm shift toward treatment of genetic diseases in gametes or in early embryos. *Repr Med and Biol* [Internet]. 2018 [citado 22/03/2020]; 17(4):[aprox. 6p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6194288/>
14. Ma H. Functional Human Oocytes Generated by Transfer of Polar Body Genomes. *Cell Stem Cell* [Internet]. 2017 [citado 22/03/2020]; 20(2):112–119. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5218919/>
15. Gammage PA, Gaude E, Van Haute L, Rebelo-Guiomar P, Jackson CB, Rorbach J, et al. Near-complete elimination of mutant mtDNA by iterative or dynamic dose-controlled treatment with mtZFNs. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2016 [citado 22/03/2020]; 44(16):7804–7816. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/gkw676>
16. Zhang J, Liu H, Lou S. Live birth derived from oocyte spindle transfer to prevent mitochondrial disease. *Reprod. Biomed. Online* [Internet]. 2017 [citado 22/03/2020]; 34(3):361–368. Disponible en: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(17\)30041-X/fulltext](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(17)30041-X/fulltext)
17. Pompei M, Pompei F. Overcoming bioethical, legal, and hereditary barriers to mitochondrial replacement therapy in the USA. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [Internet]. 2019 [citado 22/03/2020]; 36(1):383–393. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10815-018-1370-7#citeas>
18. Beriain-Iñigo M, Atienza-Macías E, Armanza-Armanza E.J. Algunas consideraciones sobre la transferencia mitocondrial: ¿un nuevo problema para la bioética? *Acta bioeth.* [Internet]. 2016 [citado 22/03/2020]; 22(2):203–11. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-569X201600200007&Ing=es
19. Appleby JB, Scott R, Wilkinson S. The ethics of mitochondrial replacement. *Bioethics* [Internet]. 2017 [citado 22/03/2020]; 31(2):2–5. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/bioe.12313>
20. Bladilo A, Torre N de la, Herrera M. Las técnicas de reproducción humana asistida desde los derechos humanos como perspectiva obligada de análisis. *Rev. IUS* [Internet]. 2017 Jun [citado 22/03/2020]; 11(39):[aprox. 6p.]. Disponible en: