



REVISIÓN SOBRE EL USO DE LA REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES MITOCONDRIALES

Autores: Felipe de Jesús López Catá^{1*}, José Sabourín Divé², Miguel Alfredo Matos Santisteban³, Idenia Juana Aguilar Iraola⁴

¹ Estudiante de 3^{er} de Medicina. Alumno ayudante de Neurocirugía

² Estudiante de 3^{er} de Medicina. Alumno ayudante de Cirugía General

³ Estudiante de 4^{to} de Estomatología. Alumno ayudante de Cirugía Máxilo-Facial

⁴ Especialista de 1^{er} grado en Pediatría. Especialista en Embriología. Máster en Atención Integral al Niño. Profesor asistente

Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey "Carlos J. Finlay", Camagüey, Cuba

* Correo electrónico: felipelopez.cata@gmail.com

RESUMEN

Introducción: La mitocondria es un importante orgánulo que posee ADN propio o mitocondrial sensible a mutaciones. Estas mutaciones pueden provocar enfermedades mitocondriales, grupo multisistémico y heterogéneo que sugiere disfunción mitocondrial. **Objetivos:** describir el papel de la utilización de las técnicas de reproducción asistida en la prevención de las enfermedades mitocondriales. **Materiales y métodos:** Se realizó una revisión bibliográfica durante el mes de mayo del 2019 empleando recursos disponibles de Infomed. Se consultando 20 artículos. **Resultados:** Se caracterizó la mitocondria desde el punto de vista estructural y funcional, así como su relación con el ADN mitocondrial y se mencionaron las principales enfermedades mitocondriales y sus formas clínicas. Se identificaron las Técnicas de Reemplazo Mitocondrial, su evaluación experimental y fenómenos adversos, así como los conflictos bioéticos derivados de su utilización. **Conclusiones:** Para la prevención de la transmisión de las enfermedades mitocondriales existen 4 Terapias de Reemplazo Mitocondrial derivadas de la fertilización *in vitro*: Transferencia de Pronúcleo, de Huso, de Cuerpo Polar Primario y de Cuerpo Polar Secundario, 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.

DeCS: ADN mitocondrial, enfermedades mitocondriales, reproducción asistida

ABSTRACT

Introduction: the mitochondria is an important organelle that has its own or mitochondrial DNA sensitive to mutations. These mutations can cause mitochondrial diseases, a multisystemic and heterogeneous group that suggests mitochondrial dysfunction. **Objectives:** to describe the role of the use of assisted reproduction techniques in the prevention of mitochondrial diseases. **Materials and methods:** a bibliographic review was carried out during the month of May 2019 using resources available from Infomed. You are consulting 20 articles. **Results:** mitochondrial was characterized from a structural and functional point of view, as well as its relationship with mitochondrial DNA and the main mitochondrial diseases and their clinical forms were mentioned. Mitochondrial Replacement Techniques, their experimental evaluation and adverse phenomena were identified, as well as the bioethical conflicts derived from their use. **Conclusions:** for the prevention of the transmission of mitochondrial diseases there are 4 Mitochondrial Replacement Therapies derived from in vitro fertilization: Pronucleus, Spindel, Primary Polar Body and Secondary Polar Body Transfer, which have been experimentally supported and not they are free of adverse biological phenomena. Professionals who advocate these procedures face bioethical and social challenges regardless of the benefit it can bring to humanity.

DeCS: mitochondrial DNA, mitochondrial diseases, assisted reproduction.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo científico-tecnológico es producto genuino de la naturaleza humana. El hombre, dotado de inteligencia superior al resto de animales, está motivado por un llamado de su interior que lo obliga a descubrir más allá de los límites de sus sentidos. La ciencia nace como herramienta en el proceso de develar, de poner al conocimiento de todos, la maravilla de la naturaleza. Una de esas maravillas es la reproducción humana. La presencia de un hijo en la vida de la mayoría de 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/maternidad. Un ejemplo lo constituye la infertilidad.



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 colaboradores⁽¹⁾ el 15 % de parejas en edad fértil a nivel mundial tienen problemas de fertilidad lo que representa entre 60-80 millones de parejas. En Cuba se plantea que del 12-15 % de la población es infértil mientras que entre el 2-3 % acude a consulta por infertilidad. En Camagüey son anualmente remitidos al Servicio de Reproducción Asistida de Baja Tecnología unos 4000 pacientes, y entre 2016 y 2017 fueron atendidos más de 8400 pacientes⁽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. Algunos autores dividen las TRA según grado de invasión microscópica en dos grupos: las que involucran manejo directo de gametos y la que no⁽³⁾.

Las técnicas que no involucran el manejo directo de gametos incluyen los coitos programados, que se subdividen en dos tipos: seguimiento del ciclo natural e inducción de ovulación; y la inseminación artificial. Las técnicas que involucran el manejo directo de gametos incluyen la fertilización *in vitro* (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. La reproducción asistida, a pesar de tener casi 40 años de existencia, es campo minado ya que involucra factores que pueden definir la vida del ser humano, por lo que es restringido en la práctica médica, pero con 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. Quizá lo más sorprendente de este hecho a simple vista sea la nacionalidad de los



padres en relación al lugar del nacimiento, no obstante esto cambia al analizar que la madre del bebé era portadora de mitocondrias cuyo ADN 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 tan solo 8 meses. El nacimiento del tercer hijo de la pareja en perfectas condiciones de salud ocurrió 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 mujeres con mitocondrias anormales de tener hijos afectados, 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 hijos de padres enfermos, posibilidad que constituye la fuerza motriz de la presente revisión bibliográfica. El problema científico que motivó la realización del presente trabajo pretende dilucidar qué papel juegan las TRA en la prevención de las EM.

OBJETIVO:

General: Describir el papel de la utilización de las Técnicas de Reproducción Asistida en la prevención de enfermedades mitocondriales.

Específicos:

- Caracterizar la mitocondria desde el punto de vista estructural y funcional.
- Mencionar las principales enfermedades mitocondriales y sus formas clínicas de presentación.
- Identificar las Técnicas de Reemplazo Mitocondrial, su evaluación experimental y fenómenos adversos.
- Valorar los conflictos bioéticos derivados de la utilización de las Técnicas de Reemplazo Mitocondrial.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó una revisión bibliográfica con búsqueda de información durante el mes de mayo del 2019 empleando recursos disponibles de Infomed, en bases de datos de SciELO Cuba y PubMed. Los descriptores utilizados fueron: ADN mitocondrial, enfermedades mitocondriales, reproducción asistida. Se



consultaron 20 artículos bibliográficos, 85 % enmarcados en los últimos 3 años. Los métodos utilizados para la realización del trabajo fueron análisis-síntesis, inducción-deducción e histórico-lógico.

DESARROLLO

Las mitocondrias son orgánulos celulares presentes en casi todos los organismos eucariontes, de aproximadamente 2 μm 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 donde hay ribosomas para sintetizar proteínas locales como enzimas para las reacciones bioquímicas mitocondriales, nutrientes, iones y 2-10 moléculas de ADN circular desnudo 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 8 reacciones del ciclo de Krebs y la cadena respiratoria constituida por la cadena transportadora de electrones y fosforilación oxidativa. La cadena respiratoria requiere 5 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 exceptuando el II. 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 además 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. 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. Esto podría ser base del fenómeno llamado *cuello de botella* mitocondrial, en alusión a una teoría de



selección natural de Darwin. 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. 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 encuentran en el propio ADNmt, donde cada célula contiene una mezcla de mitocondrias, en la que algunas poseen ADNmt mutante y otras ADNmt normal, cuyas frecuencias no se encuentran 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 proteasómicas y 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, y 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:**

Presenta epilepsia mioclónica, degeneración neuronal con atrofia cerebral y cerebelar y fibras rojas rasgadas en biopsia. Causado por mutación A8344G en el ADNmt que genera proteínas anómalas en complejos de la cadena respiratoria⁽⁴⁾.

- **Síndrome MELAS:**

Síndrome MELAS (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidentes cerebrovasculares) relacionado con la mutación A3243G en 80 % de casos. Los síntomas se manifiestan entre 2-10 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⁾.

- **Neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON):**

Una de las primeras enfermedades asociadas con defectos en el ADNmt. Su expresión es predominante en hombres, la edad de presentación es entre 15-35 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. Existen tres mutaciones en ADNmt, la primera en el 90-95 % en nucleótido de ADNmt posición 11 778⁽⁴⁾.

- **Paraplejía espástica hereditaria:**

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⁾.

- **Enfermedad de Huntington (HD):**

Producida por expansión de tripletes citosina-adenina-guanina en sus respectivas proteínas. 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 NMDA47⁽⁴⁾.

- **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⁾.

- **Síndrome de Leigh:**

Encefalomielopatía infantil, invariablemente fatal, comienza en los primeros meses de vida, presenta lesiones focales bilaterales en áreas del sistema nervioso central, incluido tronco encefálico, tálamo, ganglios basales, cerebelo y la médula espinal. Caracterizado por 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 10-20% de individuos portan la mutación T8993G o T8993C en el gen MT-ATP6⁽⁴⁾.

Diagnóstico genético preimplantación (PGD)

Para quienes tienen mutaciones del ADNn, el PGD es un método confiable para evitar el nacimiento de niños con EM, porque solo el embrión que se predice que no estará afectado se emplea para la implantación. Sin embargo, 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 0. El PGD para mutaciones de ADNmt es útil como estrategia de reducción de riesgo, pudiendo 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 variables 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 materno (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 dímero de tubulina α y β que por polimerización-despolimerización forman fibras proteicas. En 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 espermatozoide 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, simulando 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. Cuando el ovocito es fecundado y se reanuda y culmina la meiosis II 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 por 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 con 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⁾.

PB1T. Para transferir el cuerpo polar primario 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 es 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).

PB2T. 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 colaboradores⁽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 colaboradores⁽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 acto potencial en la prevención de EM en humanos.

Ha habido 2 reportes 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⁾.

Valoración ética de la MRT

Como todo procedimiento relacionado con la reproducción asistida, las MRT se enfrentan a retos sociales y regulatorios, muchos 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. No obstante, es probable que más reportes 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*, termino popularizado por los medios, ya que el único caso de dominio público cumplirá cuatro años en abril del 2020, gracias al trabajo del doctor estadounidense 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 y dando giro a la historia de la reproducción asistida y el tratamiento de las EM, además de permitir 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.

CONCLUSIONES

Las mitocondrias son organelas celulares que por su relación estructura-función producen energía metabólica, para lo cual requieren diversos componentes, estando codificada parte de la información para la síntesis en el ADNmt. Las EM no tienen cura, pueden originarse por defectos del ADNn, ADNmt o interacciones anómalas entre estos y son un grupo multisistémico



que afecta, sobre todo, el tejido muscular y nervioso, ocasionando invalidez permanente o muerte.

Para la prevención de la transmisión de estas enfermedades vía materna existen 4 Terapias de Reemplazo Mitocondrial derivadas de la FIV: la Transferencia de Pronúcleo, de Huso, de Cuerpo Polar Primario Secundario, experimentalmente apoyadas y no exentas de fenómenos biológicos adversos. Estos procedimientos y los profesionales que abogan por ellos se enfrentan desafíos bioéticos y sociales y variedad de opiniones independientemente del beneficio que puede traer a la humanidad su empleo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramírez Morán A.F, Cala Bayeux A, Fajardo Iglesia D, Grave de Peralta R.S. Factores Causales de Infertilidad. Rev Inf Cient [Internet]. 2019 [citado 22 May 2019]; 98(2):[aprox. 10p.]. Disponible en:
<http://www.revinfcientifica.sld.cu/index.php/ric/article/view/2235>
2. Rodríguez Abalo O.C, 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 Abr [citado 22 May 2019]; 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 May. [citado 2 May 2019]; 26(2):108-123. Disponible en:
<http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=9c5dc53f-23b0-4242-9cd2-b65691b4d7>
4. Pérez Hidalgo M.E, Boue Ávila A, Boue Ávila A.D, Martínez Cañete M, Cruz Lage L. Actualización sobre el tema de las enfermedades mitocondriales. Correo Científico Médico [Internet]. 2015 [citado 25 May 2019]; 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 M.J. 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 20 May 2019]; 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 5 May 2019]; 83(3). 155-9. Disponible en: <http://www.oftalmo.com/seo/archivos/maquetas/9/0AC17772-4594-00C8-F3F8-000022D59829/articulo.pdf>

7. Wolf D.P, Hayama T, Mitalipov S. Mitochondrial genome inheritance and replacement in the human germline. EMBO J [Internet]. 2017 Jul [citado 15 May 2019]; 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 15 May 2019]; 540(1):270–275. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nature20592>

9. Lee H.S. Rapid mitochondrial DNA segregation in primate preimplantation embryos precedes somatic and germline bottleneck. Cell Reports [Internet]. 2012 May [citado 15 May 2019]; 1(5):506–515. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124712000964>
DOI: 10.1016/j.celrep.2012.03.011

10. Greenfield A, Braude P, Flinter F, Lovell-Badge R, Ogilvie C, Perry A.C.F. Assisted reproductive technologies to prevent human mitochondrial disease transmission. Nature Biotechnology [Internet]. 2017 [citado 10 May 2019]; 35(11):1059-68. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nbt.3997>
DOI: 10.1038/nbt.3997

11. Hyslop L.A, Blakeley P, Craven L, Richardson J, Fogarty N.M.E, Fragouli E, et al. Towards clinical application of pronuclear transfer to prevent mitochondrial DNA disease. Nature [Internet]. 2016 [citado 15 May 2019]; 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 15 May 2019]; 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)



DOI: 10.1016/j.rbmo.2016.07.008

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 Sep [citado 15 May 2019]; 17(4):[aprox. 6p.]. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/327759261_Mitochondrial_replacement_therapy_and_assisted_reproductive_technology_A_paradigm_shift_toward_treatment_of_genetic_diseases_in_gametes_or_in_early_embryos DOI:

10.1002/rmb2.12230

14. Ma H. Functional Human Oocytes Generated by Transfer of Polar Body Genomes. *Cell Stem Cell* [Internet]. 2017 Ene [citado 15 May 2019]; 20(2):112–119. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5218919/>

15. Gammage P.A, Gaude E, Van Haute L, Rebelo-Guiomar P, Jackson C.B, Rorbach J, et al. Near-complete elimination of mutant mtDNA by iterative or dynamic dose-controlled treatment with mtZFNS. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2016 Jul [citado 15 May 2019]; 44(16):7804–7816. DOI: 10.1093/nar/gkw676. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/305689539_Near-complete_elimination_of_mutant_mtDNA_by_iterative_or_dynamic_dose-controlled_treatment_with_mtZFNS

16. Zhang, J, Liu H, Lou S. Live birth derived from oocyte spindle transfer to prevent mitochondrial disease. *Reprod. Biomed. Online* [Internet]. 2017 [citado 15 May 2019]; 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)

DOI: 10.1016/j.rbmo.2017.01.013

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 10 May 2019]; 36(1):383–393. Disponible en:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s10815-018-1370-7#citeas>

DOI: 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 Nov [citado 10 May 2019]; 22(2):203-11. Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-569X2016000200007&Ing=es

DOI: 10.4067/S1726-569X2016000200007

19. Appleby J.B, Scott R, Wilkinson S. The ethics of mitochondrial replacement. *Bioethics* [Internet]. 2017 [citado 15 May 2019]; 31(2):2–5. Disponible en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/bioe.12313>

DOI: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 20 May 2019]; 11(39):[aprox. 6p.]. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-21472017000100002&Ing=es&tIng=es