

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

O IMPACTO DA TRANSFERÊNCIA PRONUCLEAR NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS MITOCÔNDRIAS: UMA REVISÃO DE LITERATURA.

Millena Campos Felix dos Santos, João Antônio de Souza Ferreira.

Faculdade Anhanguera de São José dos Campos, Av. Dr. João Batista de Souza Soares, 4009 -
Cidade Morumbi -12236-660, São José dos Campos-SP, Brasil, millena.c.felix@outlook.com,
joao.as.ferreira@anhanguera.com.

Resumo

As mutações que ocorrem no DNA mitocondrial (mtDNA) podem afetar significativamente o desempenho das mitocôndrias, comprometendo a produção de energia e levando a problemas de saúde. Esse estudo tem por objetivo avaliar por meio de uma revisão de literatura, a relevância clínica da transferência pronuclear no processo de evitar a transmissão de doenças mitocôndrias da mãe para o embrião. Foram selecionados 12 artigos a partir da busca literária, com os critérios de inclusão citados e temas que abordam o impacto da transferência pronuclear. Os estudos demonstraram que esse tratamento consiste em criar oócitos funcionais, de modo a evitar a herança de genes mutantes. Para isso, o núcleo é retirado de um oócito ou zigoto que possui mutações mitocondriais e é inserido em um doador de células normais sem núcleo. De acordo com os dados obtidos conclui-se, que é possível reconstruir zigotos e oócitos humanos usando a técnica de transferência pronuclear.

Palavras-chave: Doenças Mitocôndrias. mtDNA. Transferência Pronuclear.

Área do Conhecimento: Ciências da saúde, Biomedicina.

Introdução

Os distúrbios mitocondriais se apresentam como uma causa frequente de doenças metabólicas hereditárias, com a possibilidade de afetar um órgão isolado ou ser uma condição sistêmica. Essas condições podem se manifestar tanto na infância quanto na vida adulta, seguindo um padrão de herança materna, e são causadas principalmente por mutações genéticas que predominantemente impactam a fosforilação oxidativa e a produção de ATP (SCHON et al, 2021).

Atualmente, não existe uma cura para as doenças mitocôndrias e os tratamentos existentes têm como objetivo principal diminuir os sintomas e desacelerar a progressão da doença. Diante disso, as mulheres diagnosticadas com uma mutação genética associada à doença mitocondrial frequentemente buscam aconselhamento genético visando reduzir o risco de transmissão da doença (CRAVEN et al, 2019).

As doenças mitocondriais exibem uma ampla variedade de características devido à natureza intrínseca e função da mitocôndria, que contém seu próprio material genético, conhecido como DNA mitocondrial (mtDNA) (PITCEATHLY et al, 2021).

A transferência pronuclear é um procedimento utilizado para prevenir a transmissão de doenças mitocôndrias hereditárias por meio do DNA mitocondrial (mtDNA). Nessa técnica, o núcleo de um óvulo é substituído pelo núcleo de um óvulo de uma doadora que possui o mtDNA saudável, evitando assim a transmissão de doenças mitocôndrias (CRAVEN et al, 2019).

O objetivo desse estudo é avaliar por meio de uma revisão de literatura, a relevância clínica da transferência pronuclear no processo de evitar a transmissão de doenças mitocôndrias da mãe para o embrião.

Metodologia

O presente estudo consiste em uma pesquisa de revisão bibliográfica, apresentando dados sobre a transferência pronuclear e doenças mitocôndrias, foram realizadas buscas de artigos científicos com as seguintes palavras – chave “Doenças mitocôndrias”, “mtDNA”, “Transferência Pronuclear” nas bases de dados: Google Acadêmico, Lilac's, e PubMed.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Os critérios de inclusão dos 12 estudos selecionados foram obtidos a partir dos artigos que continham as palavras-chave citadas, de forma isolada ou conjunta, com linguagem em inglês, espanhol e português, compreendidos nas datas de publicação entre os períodos 2010 - 2021, os artigos que não se enquadravam nos critérios de inclusão e com o objetivo do estudo foram excluídos.

Resultados

Foram selecionados 12 artigos a partir da busca literária, com os critérios de inclusão citados e temas que abordam o impacto da transferência pronuclear na prevenção de doenças mitocondriais, correlacionados com as palavras – chave como demonstra a tabela a seguir.

Tabela 1 – Classificação dos artigos em ordem alfabética de autores sobre os temas abordados.

Autor	Ano	Tipo de Estudo	Resumo	Conclusão
Angelica Godoy de Fraga, Virgínia Meneghini Lazzari.	2021.	Revisão Bibliográfica.	As células eucarióticas contêm dois tipos de DNA: o DNA nuclear (nDNA), que é organizado em cromossomos e está localizado no núcleo celular; e o DNA mitocondrial(mtDNA), presente dentro das mitocôndrias.	Concluimos que, apesar dos resultados promissores, ainda é cedo para assegurar a aplicabilidade clínica de técnicas de substituição de mtDNA em seres humanos.
Felipe de Jesús López Catá, José Sabourín Divé, Miguel Alfredo, Matos Santisteban, Idenia Juana Aguilar Iraola.	2020.	Revisão Bibliográfica.	A mitocôndria é uma importante organela que possui DNA próprio ou mitocondrial sensível a mutações. Essas mutações podem causar doenças mitocondriais, um grupo multissistêmico e heterogêneo que sugere disfunção mitocondrial.	Para a prevenção da transmissão de doenças mitocondriais, existem 4 Terapias de Substituição Mitocondrial derivadas da fertilização in vitro: Transferência de Pronúcleo, Fuso, Corpo Polar Primário e Corpo Polar Secundário.
Gareth D Greggains, Lisa M Lister, Helen AL Tuppen, Qi Zhang, Louise H Needham, Nilendran Prathalingam, Louise A Hyslop, Lyndsey Craven, Zbigniew Polanski, Alison P Murdoch, Douglass M Turnbull, Mary Herbert.	2014.	Estudos de Casos.	As mutações do DNA mitocondrial causam defeitos na função da cadeia respiratória, resultando em doenças multissistêmicas que afetam pelo menos 1 em 10.000 adultos. No entanto, as mutações patogênicas são mais prevalentes e estima-se que estejam presentes em 1 a cada 200 bebês nascidos.	O número de cópias de DNA mitocondrial para oócitos enucleados, carioplastos fusiformes e fibroblastos foi calculado a partir de uma curva padrão produzida a partir de diluições em série triplicadas de 10 vezes de um modelo MT-ND1, de número de cópias conhecido.
Hana Carolina Moreira Farnezi, Ana Carolina Xavier	2020.	Revisão Integrativa.	Este estudo apresenta uma revisão das técnicas de substituição mitocondrial	Apesar dos relatos com resultados positivos, ainda há

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Goulart, Adriana Dos Santos, Mariana Gontijo Ramos, Maria Lectícia Firpe Penna.			desenvolvidas e sua capacidade de prevenir doenças hereditárias.	dúvidas sobre a quantidade de carga de mtDNA durante o procedimento. Portanto, mais estudos devem ser realizados em humanos para comprovar sua eficácia.
Izabel Rodrigues da Silva, Maisa Castelo Branco Couto de Miranda, Yara Rocha Bastos Castelo Branco, Rafael Soares Silva.	2021.	Revisão Bibliográfica.	As doenças mitocondriais constituem um importante grupo de distúrbios metabólicos hereditários com expressão clínica e genética heterogênea.	Os resultados mostram a concentração de estudos sobre doenças mitocondriais no sudeste do Brasil.
John Zhang, Hui Liu, Shiyu Luo, Zhuo Lu, Alejandro Chávez-Badiola, Zitao Liu, Mingxue Yang, Zaher Merhi, Sherman J Silber, Santiago Munné, Michalis Konstantinidis, Dagan Wells, Jian J Tang, Taosheng Huang.	2017.	Estudos de Casos.	Mutações no DNA mitocondrial (mtDNA) são herdadas da mãe e podem causar distúrbios mitocondriais fatais ou debilitantes.	A gravidade dos sintomas clínicos é frequentemente associada ao nível de carga de mutação do mtDNA ou grau de heteroplasmia. As opções clínicas atuais para prevenir a transmissão de mutações do mtDNA para a prole são limitadas.
Katherine R Schon, Rita Horvath, Wei Wei, Claudia Calabrese, Arianna Tucci, Kristina Ibañez, Thiloka Ratnaike, Robert DS Pitceathly, Enrico Bugiardi, Rosaline Quinlivan, Michael G Hanna.	2021.	Estudo de coorte.	345 pacientes com suspeita de distúrbios mitocondriais recrutados para o Projeto 100.000 Genomas na Inglaterra entre 2015 e 2018.	O sequenciamento completo do genoma é um teste diagnóstico útil em pacientes com suspeita de distúrbios mitocondriais, gerando um diagnóstico em mais 31% após a exclusão de causas comuns.
Lyndsey Craven, Helen A Tuppen, Gareth D Greggains, Stephen J Harbottle, Julie L Murphy, Lynsey M Cree, Alison P Murdoch, Patrick F Chinnery, Robert W Taylor, Robert N Lightowlers, Mary Herbert, Douglass M Turnbull.	2010.	Estudos de Casos.	Houve um sucesso muito limitado no desenvolvimento de tratamento eficaz para a doença do mtDNA e o aconselhamento genético combinado com o diagnóstico genético pré-natal ou pré-implantação está sendo cada vez mais oferecido a mulheres que carregam mutações patogênicas do mtDNA.	Acreditamos que a transferência pró-nuclear entre zigotos, bem como a recentemente descrita transferência do fuso metafásico II, tem o potencial de prevenir a transmissão da doença do mtDNA em humanos.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Lyndsey Craven, Doug M Turnbull.	2019.	Revisão Sistemática.	As doenças mitocondriais são distúrbios genéticos comuns frequentemente associados a uma alta carga de doenças e mortalidade significativa.	Houve grandes avanços recentes no desenvolvimento de técnicas de fertilização in vitro para prevenir a transmissão de doenças do DNA mitocondrial.
Masahito Tachibana, Paula Amato, Michelle Sparman, Joy Woodward, Dario Melguizo Sanchis, Hong Ma, Nuria Marti Gutierrez, Rebecca Tippner-Hedges, Eunju Kang, Hyo-Sang Lee, Cathy Ramsey, Keith Masterson, David Battaglia, David Lee, Diana Wu, Jeffrey Jensen, Phillip Patton, Sumita Gokhale, Richard Stouffer, Shoukhrat Mitalipov.	2013.	Estudos de Casos.	Investigamos a viabilidade da substituição do mtDNA em oócitos humanos por transferência do fuso.	O mtDNA pode ser eficientemente substituído em oócitos humanos. Embora alguns oócitos ST tenham apresentado fertilização anormal, os embriões restantes foram capazes de se desenvolver em blastocistos e produzir células-tronco embrionárias semelhantes aos controles.
Mitsutoshi Yamada, Kazuhiro Akashi, Reina Ooka, Kenji Miyado, Hidenori Akutsu.	2020.	Revisão Bibliográfica.	As doenças mitocondriais são um grupo heterogêneo de doenças hereditárias sem cura, nas quais o mtDNA mutante é transmitido de mães para filhos por meio do citoplasma do óvulo materno.	A substituição mitocondrial (MR) é uma tecnologia de transferência de genoma na qual o mtDNA portador de mutações relacionadas à doença é substituído por mtDNA presumivelmente livre de doença.
Robert DS Pitceathly, Nandaki Keshavan, Joyeeta Rahman, Shamima Rahman.	2021.	Revisão Bibliográfica.	As doenças mitocondriais primárias representam alguns dos distúrbios metabólicos hereditários mais comuns e graves. A complexidade da doença mitocondrial contribui para a falta de opções terapêuticas para os pacientes.	Esta revisão discutiu terapias farmacológicas e genéticas para doenças mitocondriais, abrangendo desde tratamentos ainda em fase pré-clínica de desenvolvimento até aqueles que atingiram ensaios clínicos de fase III.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Discussão

As mitocôndrias, desempenham um papel fundamental no processo de síntese de ATP celular. Elas possuem seu próprio material genético, responsável por codificar proteínas e RNAs para o funcionamento seu funcionamento adequado (DA SILVA et al., 2021). É importante ressaltar que determinadas mutações no mtDNA podem resultar em doenças associadas às mitocôndrias, e essas condições podem afetar significativamente o seu desempenho, comprometendo a produção de energia e levando a problemas de saúde (YAMADA et al., 2020).

De acordo com o artigo publicado por Yamada (2020) cerca de 1 em cada 5.000 nascimentos apresenta uma mutação patogênica no mtDNA. Foi realizado um estudo com amostras de sangue do cordão umbilical de recém-nascidos que revelou que 1 em cada 200 bebês carregava uma das dez mutações patogênicas mais comuns no mtDNA.

A patogenidade é predominantemente influenciada pela proporção de moléculas de mtDNA mutadas e não mutadas, sendo que os efeitos fenotípicos geralmente são observados quando a proporção de mutação de mtDNA atinge um nível crítico mínimo, entre 60% a 90% (GREGGAINS et al., 2014).

Disfunções nas mitocôndrias têm o potencial de desencadear enfermidades relacionadas ao mtDNA, tais como encefalomiopatia mitocondrial, acidose láctica, epilepsia mioclônica, fraqueza muscular neurogênica, ataxia, retinite pigmentosa, neuropatia óptica hereditária de Leber, e síndrome de Leigh (DE FRAGA et al., 2021).

Segundo o estudo de Farnezi (2020) as técnicas de substituição de mtDNA oferecem a mulheres com disfunções mitocondriais a oportunidade de ter filhos biológicos saudáveis. Esse tratamento consiste em criar oócitos funcionais, de modo a evitar a herança de genes mutantes. Para isso, o núcleo é retirado de um oócito ou zigoto que possui mutações mitocondriais e é inserido em um doador de células normais sem núcleo. Essa abordagem visa garantir a integridade das mitocôndrias e, consequentemente, proporcionar uma opção reprodutiva viável para essas mulheres.

É possível realizar a transferência do núcleo de oócitos e zigotos por meio de diversas técnicas, como transferência pronuclear, transferência de fuso, transferência de corpo polar e transferência de vesícula germinativa. Essas abordagens oferecem alternativas para manipular e inserir o material genético de maneira controlada, visando alcançar objetivos específicos em pesquisas e tratamentos relacionados à reprodução e genética (CATÁ et al., 2020).

A transferência pronuclear é uma técnica de reprodução assistida avançada com o objetivo de evitar a herança de doenças mitocondriais hereditárias. Essas doenças resultam de alterações no mtDNA e são passadas de mãe para filho. O propósito dessa técnica é impedir que a criança herde uma mutação genética que seja responsável pela doença mitocondrial (TACHIBANA et al., 2013).

Em um estudo pioneiro realizado por Craven (2010), foi empregada a técnica em seres humanos pela primeira vez. Nessa pesquisa, foram utilizados zigotos humanos com anormalidades. Os resultados revelaram que essa abordagem conseguiu reduzir a taxa de mtDNA mutante para apenas 2% na maioria dos zigotos reconstruídos. Essa descoberta representa um avanço significativo no campo da manipulação do mtDNA e abre caminho para potenciais aplicações em tratamentos e pesquisas relacionadas a problemas mitocondriais.

Em um comparativo com uma pesquisa conduzida por Zhang (2017), a técnica de transferência pronuclear foi aplicada, resultando em um total de 7 zigotos reconstruídos com êxito. Cinco desses zigotos foram transferidos para a paciente, o que levou ao início de uma gravidez tripla. Embora a gestação não tenha sido levada a termo, os fetos não apresentaram heteroplasmia (mistura de material genético) e os exames revelaram um cariótipo normal.

A transferência de pró-núcleos entre zigotos humanos com anormalidades fertilizados resulta em uma transferência mínima de mtDNA do zigoto doador, e isso é compatível com o subsequente desenvolvimento in vitro até o estágio de blastocisto (CRAVEN et al., 2010).

O bebê resultante dessa técnica de transferência pronuclear terá três fontes genéticas distintas: uma proveniente do pai através dos espermatozoides, outra da mãe biológica, representada pelo DNA nuclear, e uma terceira proveniente da doadora do citoplasma, contendo DNA mitocondrial livre de mutações patológicas, resultando em um bebê triparental (FARNEZI et al., 2020).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Conclusão

De acordo com os dados obtidos nesse estudo, conclui-se que é possível reconstruir zigotos e oócitos humanos usando a técnica de transferência pronuclear, com a perspectiva de evitar a transmissão de doenças relacionadas ao mtDNA. Essa mesma abordagem pode colaborar para uma gravidez bem-sucedida, com um cariótipo normal. A técnica contribui diretamente para evitar a herança de mutações mitocondriais prejudiciais e oferecer uma opção de reprodução saudável para casais em risco de transmitir essas doenças.

Referências

CATA, Felipe de Jesús López et al. REVISÃO SOBRE O USO DA REPRODUÇÃO ASSISTIDA NA PREVENÇÃO DAS DOENÇAS MITOCONDRIAS. 2020.

CRAVEN, Lyndsey et al. Transferência pronuclear em embriões humanos para prevenir a transmissão de doenças do DNA mitocondrial. **Nature**, v. 465, n. 7294, pág. 82-85, 2010.

CRAVEN, Lyndsey; TURNBULL, Doug M. Reproductive options for women with mitochondrial disease. **Diagnosis and Management of Mitochondrial Disorders**, p. 371-382, 2019.

DA SILVA, Izabel Rodrigues et al. Caracterização Bioquímica das Doenças Mitocondriais: uma revisão integrativa em teses e dissertações no período de (2000 a 2020). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e151101119320-e151101119320, 2021.

DE FRAGA, Angélica Godoy; LAZZARI, Virgínia Meneghini. Técnicas de substituição de DNA mitocondrial para reduzir a transmissão da síndrome de Leigh. **Pesquisa Clínica e Biomédica**, v. 41, n. 1, 2021.

FARNEZI, Hana Carolina Moreira et al. Three-parent babies: Mitochondrial replacement therapies. **JBRA Assisted Reproduction**, v. 24, n. 2, p. 189, 2020.

GREGGAINS, Gareth D. et al. Therapeutic potential of somatic cell nuclear transfer for degenerative disease caused by mitochondrial DNA mutations. **Scientific reports**, v. 4, n. 1, p. 3844, 2014.

PITCEATHLY, Robert DS et al. Moving towards clinical trials for mitochondrial diseases. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 44, n. 1, p. 22-41, 2021.

SCHON, Katherine R. et al. Use of whole genome sequencing to determine genetic basis of suspected mitochondrial disorders: cohort study. **Bmj**, v. 375, 2021.

TACHIBANA, Masahito et al. Towards germline gene therapy of inherited mitochondrial diseases. **Nature**, v. 493, n. 7434, p. 627-631, 2013.

YAMADA, Mitsutoshi e cols. Deriva genética mitocondrial após transferência nuclear em oócitos. **Jornal internacional de ciências moleculares**, v. 21, n. 16, pág. 5880, 2020.

ZHANG, John e cols. Nascido vivo derivado da transferência do fuso oocitário para prevenir a doença mitocondrial. **Biomedicina reprodutiva online**, v. 34, n. 4, pág. 361-368, 2017.