

Μεταφορά μητρικής ατράκτου και προπυρηνική μεταφορά στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

Maternal spindle transfer and pronuclear transfer in assisted reproduction

Ιωάννα Γεωργιλάκη
Προπτυχιακή Φοιτήτρια
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών/Κατεύθυνση Ιατρικών
Εργαστηρίων, ΠαΔΑ
joanna.georgilaki1@gmail.com

Ευστάθιος Μιχαλόπουλος
Ειδικός Λειτουργικός Επιστήμονας Β΄
Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος
Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών
smichal@bioacademy.gr

Εγκρίθηκε τον Ιούλιο του 2024

Περίληψη – Η μεταφορά μητρικής ατράκτου και η προπυρηνική μεταφορά αποτελούν καινοτόμες μεθόδους που συνδράμουν στην πρόληψη μιτοχονδριακών νόσων από την μητέρα στο νεογνό. Οι μιτοχονδριακές διαταραχές κληρονομούνται αποκλειστικά από την μητέρα στο έμβryo και προκαλούν συχνές, σοβαρές ακόμα και θανατηφόρες ασθένειες με επίμονα συμπτώματα. Με διακολπική ωοληψία λαμβάνονται ωάρια μίας υγιούς δότριας και μέσω των μεθόδων προκύπτουν αναδιαμορφωμένα ωάρια με το φυσιολογικό πυρηνικό γονιδίωμα του ζευγαριού που επιθυμεί να τεκνοποιήσει, και τα φυσιολογικά μιτοχόνδρια της δότριας. Ακολουθεί επιλογή των καλύτερης ποιότητας αναδιαμορφωμένων ωαρίων τα οποία εμφυτεύονται στο ενδομήτριο της μέλλουσας μητέρας και εξελίσσονται σε φυσιολογικά ανθρώπινα έμβρυα. Οι τεχνικές αποτελούν νέα επιστημονική εξέλιξη με τις κλινικές και πειραματικές δοκιμές τους να είναι περιορισμένες. Στοιχεία σχετικά με την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των μεθόδων μελετώνται καθημερινά στοχεύοντας στα βέλτιστα αποτελέσματα με σκοπό την γέννηση απογόνων με υγιή ζωή απαλλαγμένη από μιτοχονδριακές νόσους αισθανόμενα ευγνωμοσύνη και επιθυμία.

Λέξεις κλειδιά: υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, μιτοχονδριακές ασθένειες, θεραπείες μιτοχονδριακής αντικατάστασης, δωρεά μιτοχονδρίων, υγεία.

Summary – Maternal spindle transfer and pronuclear transfer are innovative methods that help prevent mitochondrial diseases from mother to newborn. Mitochondrial disorders are inherited exclusively from mother to fetus and cause frequent, serious and even fatal diseases with painful symptoms. With transvaginal egg retrieval, eggs of a healthy donor are obtained and through the methods remodeled eggs are obtained with the normal nuclear genome of the couple wishing to have children, and the normal mitochondria of the donor. This is followed by a selection of the best quality remodeled eggs that are implanted in the endometrium of the expectant mother and develop into normal human embryos. The techniques are a new scientific development with their clinical and experimental trials being limited. Data on the safety and efficacy of the methods are studied daily, aiming at optimal results, aiming at the birth of offspring with a healthy life free from mitochondrial diseases, feeling gratitude and desire.

Keywords: assisted reproduction, mitochondrial diseases, mitochondrial replacement therapies, mitochondrial donation, health.

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ευνοούν καθημερινά τον τομέα της αναπαραγωγικής ιατρικής, προσφέροντας αισιοδοξία σε ζευγάρια που είτε αντιμετωπίζουν προβλήματα υπογονιμότητας, είτε κινδυνεύουν να μεταδώσουν γενετικές ασθένειες στα παιδιά τους. Μεταξύ των καινοτόμων τεχνικών που αναπτύχθηκαν τα τελευταία χρόνια είναι η μεταφορά μητρικής ατράκτου maternal spindle transfer (MST) και η προπυρηνική μεταφορά pronuclear transfer (PNT), οι οποίες έχουν σχεδιαστεί για την πρόληψη της μετάδοσης μιτοχονδριακών ασθενειών από τη μητέρα στο νεογνό. Στόχος των τεχνικών είναι η αντικατάσταση των μιτοχονδρίων της ασθενούς μητέρας, με αυτά μίας υγιούς δότριας. Εκτός από την πρόληψη μιτοχονδριακών ασθενειών, οι δύο μέθοδοι συμβάλλουν και στη θεραπεία της υπογονιμότητας, καθώς γυναίκες που φέρουν μιτοχονδριακές νόσους εμφανίζουν αυξημένη στειρότητα και πολλές ανεπιτυχείς προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης. Οι MST και PNT αντιπροσωπεύουν σημαντικές εξελίξεις στον τομέα της αναπαραγωγής, παρέχοντας νέους δρόμους για γενετική παρέμβαση. Το συγκεκριμένο άρθρο διερευνά λεπτομερώς αυτές τις δύο μεθόδους, μελετώντας τις διαδικασίες, τις εφαρμογές, τις βιοηθικές εκτιμήσεις και τις μελλοντικές προοπτικές τους (1).

II. ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ ΤΩΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ

Τα μιτοχόνδρια είναι ενδοκυτταρικά οργάνδια που βρίσκονται στα περισσότερα ευκαρυωτικά κύτταρα με σημαντικές λειτουργίες όπως παραγωγή ενέργειας μέσω οξειδωτικής φωσφορύλιωσης, ρύθμιση μεταβολικών οδών, διαχείριση αντιδραστικών ριζών οξυγόνου, θερμορύθμιση και απόπτωση κυττάρων. Περιέχουν το δικό τους γονιδίωμα καταδεικνύοντας την βακτηριακή προέλευσή τους το οποίο

Georgilaki I, Michalopoulos E. Maternal spindle transfer and pronuclear transfer in assisted reproduction. J Med Sci 2024; Jul (2):35-49

αναπαράγεται ανεξάρτητα από αυτό του ξενιστή (2). Οι γενετικές βλάβες των μιτοχονδρίων προκαλούν σοβαρές αλλαγές στη λειτουργικότητά τους και μετέπειτα μιτοχονδριακές ασθένειες. Οι βλάβες μπορεί να οφείλονται σε τυχαίες και κληρονομικές μεταλλάξεις μιτοχονδριακού DNA, σε φάρμακα, σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, σε μεταλλάξεις γονιδίων που κωδικοποιούν μιτοχονδριακές πρωτεΐνες (3) και στην γήρανση (4). Οι επιστήμονες έχουν ταυτοποιήσει πάνω από 300 διαφορετικές μιτοχονδριακές ασθένειες με συμπτώματα όπως η σχιζοφρένεια, η διπολική νόσος, η άνοια, η επιληψία, τα εγκεφαλικά επεισόδια, η νόσος Parkinson, το παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο, η καρδιομυοπάθεια, η στεφανιαία νόσος, το σύνδρομο χρόνιας κόπωσης, η ινομυαλγία, η μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια, η απώλεια ακοής, ο διαβήτης, η ηπατίτιδα C και η πρωτοπαθής χολική κίρρωση. Οι ασθένειες είναι συχνές με 1 στα 5,000 άτομα να πάσχει από αυτές, συχνά ανιάτες και μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την ποιότητα ζωής (5).

III. ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΜΗΤΡΙΚΗΣ ΑΤΡΑΚΤΟΥ

Η μεταφορά μητρικής ατράκτου είναι μια τεχνική που στοχεύει στην αντικατάσταση των ελαττωματικών μιτοχονδρίων της μέλλουσας μητέρας, με υγιή δότριας. Πρόκειται για διαδικασία εξωσωματικής γονιμοποίησης με τα ακόλουθα βήματα να είναι απαραίτητα για την επιτυχή πραγματοποίηση της τεχνικής (6).

ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΩΟΘΗΚΩΝ. Πρώτο βήμα είναι η διέγερση ωοθηκών τόσο της ασθενούς όσο και της δότριας ώστε να παράγουν πολλά ωάρια για επιλογή ενός ή περισσοτέρων εμβρύων καλής ποιότητας για μεταφορά στο ενδομήτριο. Χορηγούνται στις γυναίκες ορμόνες, με βάση καθορισμένα πρωτόκολλα, οι οποίες περιλαμβάνουν ανάλογα της εκκριτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών, ωοθηλακιοτρόπο ορμόνη και χοριακή γοναδοτροπίνη (7).

ΩΟΛΗΨΙΑ. Μέσω της διακολπικής υπερηχογραφικά καθοδηγούμενης ωοληψίας, λαμβάνεται από τις δυο γυναίκες ωοθυλακικό υγρό που περιέχει ωάρια (8).

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ. Ακολουθεί η προετοιμασία του ανδρικού σπέρματος κατά την οποία διαχωρίζονται τα φυσιολογικά κινητικά σπερματοζωάρια από τα μη (9).

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΩΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΑΤΡΑΚΤΟΥ ΣΕ POLSCOPE. Το ακριβώς επόμενο βήμα για μία επιτυχημένη MST είναι η προσεκτική προετοιμασία των ωαρίων. Η μειωτική άτρακτος, παρατηρείται κατά το στάδιο της μετάφασης της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης και απαρτίζεται από υπερσυμπυκνωμένα χρωμοσώματα. Η διαδικασία μεταφοράς μητρικής ατράκτου απαιτείται να πραγματοποιείται όταν τα χρωμοσώματα τόσο της μητέρας όσο και της δότριας βρίσκονται στο στάδιο της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης, όπου είναι εύκολα ευδιάκριτα κάτω από το μικροσκόπιο πολωμένου φωτός (10). Αρχικά τα ωάρια απογυμνώνονται από κοκκιώδη κύτταρα που αποτελούν το εξωτερικό κυτταρικό στρώμα του ωαρίου και σχηματίζονται από κύτταρα ωοθυλακίων που

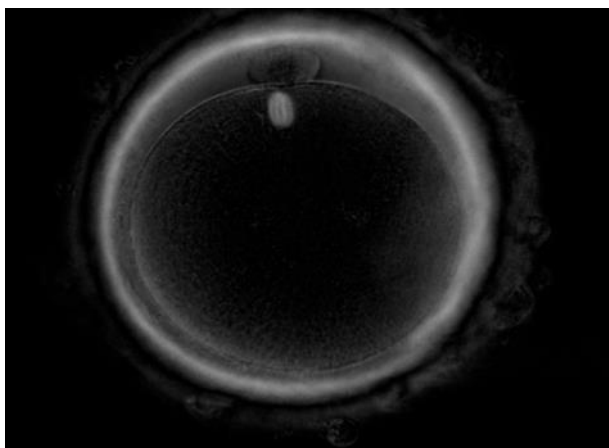
προσκολλώνται στο ωάριο πριν απελευθερωθεί από το ωοθυλάκιο. Αυτά περιλαμβάνουν τα κύτταρα που περιβάλλουν τα ωάρια περιμετρικά της διάφανης ζώνης σε ένα ωοθυλάκιο (corona radiata), καθώς και τα κοκκιώδη κύτταρα που βρίσκονται περιμετρικά της εξωτερικής πλασματικής μεμβράνης του ωοθυλακίου (cumulus granulosa). Η απογύμνωση των ωαρίων από τα παραπάνω κύτταρα διευκολύνει τόσο την αξιολόγηση της πυρηνικής ωριμότητας όσο την ακριβή εκτίμηση της μορφολογίας του πρώτου πολικού σωματίου και την καλύτερη διείσδυση του σπερματοζωαρίου (11). Παράλληλα τα ωάρια επωάζονται σε μέσο με κυτταροσκελετικούς αναστολείς, ώστε να μην προκληθεί λύση των κυττάρων κατά την εκπυρήνωση των ωαρίων (12). Ακολουθεί η διαδικασία μεταφοράς της μητρικής ατράκτου η οποία πραγματοποιείται κάτω από ειδικευμένα πολωτικά μικροσκόπια (polscope) με φως φωτεινού πεδίου (brightfield). Αρχικά αφαιρούνται τα χρωμοσώματα σε σχηματισμό ατράκτου με σιφώνιο αναρρόφησης τόσο από τα ωάρια της ασθενούς, όσο και της δότριας. Ύστερα απορρίπτονται τα εκπυρωμένα ωάρια της ασθενούς, και τα χρωμοσώματα της δότριας. Παράλληλα μεταφέρονται τα χρωμοσώματα σε μορφή ατράκτου της ασθενούς, στα εκπυρωμένα υγιή ωάρια της δότριας. Δημιουργείται έτσι ένα νέο αναδιαμορφωμένο ωάριο με το μιτοχονδριακό γονιδίωμα της δότριας και το πυρηνικό της μέλλουσας μητέρας. Το ωάριο στη συνέχεια γονιμοποιείται (13).

ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΕΓΧΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ. Η ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (Intracytoplasmic Sperm Injection ή ICSI) πραγματοποιείται 30 λεπτά μετά την δημιουργία των ανασυντηθμένων ωαρίων μέσω polscope και περιλαμβάνει την διείσδυση ενός σπερματοζωαρίου στο εσωτερικό κάθε ωαρίου (14).

IN VITRO ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΜΒΡΥΩΝ. Τα ζυγωτά αναπτύσσονται σε καλλιέργειες με συστατικά όπως υδατάνθρακες, αμινοξέα, EDTA, βιταμίνες, νουκλεοτίδια, στεροειδή, αυξητικοί παράγοντες και κυτοκίνες, σε διάφορες συγκεντρώσεις. Ταυτόχρονα παρακολουθούνται διαρκώς μέσω time-lapse. Καλλιεργούνται είτε μέχρι το στάδιο διάσπασης την 3η ημέρα καλλιέργειας, είτε μέχρι το στάδιο βλαστοκύστης την 5η με 6η ημέρα (15). Παράλληλα κατατάσσονται σε ομάδες ανάλογα με την ποιότητα των εμβρύων, σε έμβρυα άριστης, μέτριας και κακής ποιότητας. Τα έμβρυα άριστης ποιότητας είναι αυτά που μεταφέρονται στη μήτρα της ασθενούς (16).

ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΕΜΒΡΥΩΝ. Ακολουθεί προαιρετικός προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος κατά τον οποίο μέσω βιοψίας των καλής ποιότητας εμβρύων ελέγχεται εάν υπάρχει γενετική μιτοχονδριακή βλάβη στο έμβρυο. Ο έλεγχος διαρκεί περίπου 15 ημέρες, χρόνος κατά τον οποίο τα έμβρυα καλής ποιότητας καταψύχονται (17). Όταν διαπιστωθεί πως δεν υπάρχει γενετική ανωμαλία, τα έμβρυα αποψύχονται και μέσω καθετήρα μεταφέρονται στο ενδομήτριο της γυναίκας (18).

Georgilaki I, Michalopoulos E. Maternal spindle transfer and pronuclear transfer in assisted reproduction. J Med Sci 2024; Jul (2):35-49



Εικόνα 1: Απεικόνιση μειωτικής ατράκτου κάτω από μικροσκόπιο πολωμένου φωτός. Εικόνα ελεύθερης χρήσης από την Wikipedia (19).

IV. ΠΡΟΠΥΡΗΝΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ

Η προπυρηνική μεταφορά είναι και αυτή μία τεχνική πρόληψης μιτοχονδριακών νόσων με τα ακόλουθα στάδια:

ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΩΟΘΗΚΩΝ, ΩΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΩΑΡΙΩΝ. Όπως και στην μεταφορά μητρικής ατράκτου, λαμβάνονται ωάρια από τις ωοθήκες των γυναικών (8) και το ανδρικό σπέρμα διαχωρίζεται ώστε να χρησιμοποιηθούν μόνο τα φυσιολογικά κινητικά σπερματοζωάρια (9).

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΩΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΕΓΧΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ. Τα πυρηνικά χρωμοσώματα των ωαρίων πρέπει να βρίσκονται υπερσυμπυκνωμένα στη μετάφαση της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης όπως και στην μεταφορά ατράκτου. Παράλληλα τα ωάρια στο στάδιο της προετοιμασίας τους πρέπει να απογυμνωθούν από κύτταρα cumulus granulosa και corona radiata (11). Ύστερα γίνεται έγχυση του ίδιου ανδρικού σπέρματος στα ωάρια δότριας και ασθενούς (20).

ΠΡΟΠΥΡΗΝΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ. Οι προπυρήνες είναι δυο απλοειδείς πυρήνες σε ένα γονιμοποιημένο ζυγωτό. Τα φυσιολογικά ζυγωτά, που εμφανίζουν δυο προπυρήνες και δυο πολικά σωμάτια μετά την γονιμοποίηση τους, υποβάλλονται σε μεταφορά πυρηνίων. Η PNT πραγματοποιείται είτε 16 με 20 ώρες μετά την ICSI (αργή PNT) είτε 8 με 10 ώρες μετά από ICSI (γρήγορη PNT). Οι χειρισμοί πραγματοποιούνται χρησιμοποιώντας ανεστραμμένο μικροσκόπιο. Αρχικά τα ζυγωτά τοποθετούνται σε μέσω με κυτταροσκελετικούς αναστολείς. Αφαιρούνται οι σχηματισμένοι προπυρήνες από τα ωάρια τόσο της δότριας όσο και της ασθενούς, ενώ ταυτόχρονα απορρίπτονται τα εκπυρωμένα ωάρια της ασθενούς και οι προπυρήνες των ζυγωτών της δότριας. Ακολούθως μεταφέρονται οι προπυρήνες του ζευγαριού που επιθυμεί να τεκνοποιήσει στα εκπυρωμένα υγιή ωάρια της δότριας. Προκύπτουν έτσι αναδιαμορφωμένα ζυγωτά με μιτοχονδριακό γονιδίωμα της δότριας και πυρηνικό γονιδίωμα των γονέων (21).

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΟΜΕΤΑΦΟΡΑ. Ακολουθούν όπως και στην προηγούμενη τεχνική οι ίδιες διαδικασίες, ώστε να μεταφερθεί ένα καλής ποιότητας έμβρυο (22) στην μήτρα της ασθενούς και να επιτευχθεί εγκυμοσύνη (18).



Εικόνα 2: Προπυρήνες κάτω από συμβατικό ανεστραμμένο μικροσκόπιο (23). Κατόπιν άδειας του δημιουργού.

V. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ

Τόσο η μεταφορά ατράκτου μετάφασης II όσο και η μεταφορά προπυρηνίων έχουν εφαρμοστεί με επιτυχία σε πολλές χώρες. Η επιλογή της τεχνικής που θα χρησιμοποιηθεί από το ζευγάρι, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως της εμπειρογνομosύνης του εμβρυολόγου, του ιστορικού του ζευγαριού, της ηλικίας της γυναίκας, της νομοθετικής στάσης της χώρας στην οποία πρόκειται να πραγματοποιηθεί η διαδικασία και άλλα.

ΠΙΝΑΚΑΣ I ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΘΟΔΩΝ MST, PNT (24)

	MST	PNT
Χρονική στιγμή	Πριν τη γονιμοποίηση	Μετά τη γονιμοποίηση
Γενετικό υλικό	Άτρακτος που περιέχει μητρικά χρωμοσώματα	Προπυρήνες γενετικού υλικού των δυο γονέων
Μικροσκόπιο	Polscope	Συμβατικό ανεστραμμένο
Σταθερότητα DNA	Πιο εύθραστο στην άτρακτο	Λιγότερο εύθραστο στους προπυρήνες

VI ΒΙΟΗΘΙΚΟΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟΙ

Η χρήση των MST και PNT εγείρει αρκετά ηθικά ζητήματα που χρειάζονται προσεκτική εξέταση:

Γενετική τροποποίηση: Και οι δύο τεχνικές περιλαμβάνουν την αλλαγή της γενετικής σύνθεσης του εμβρύου, εγείροντας ανησυχίες για πιθανές απρόβλεπτες συνέπειες και μακροπρόθεσμες επιπτώσεις στην ανθρώπινη γονιδιακή δεξαμενή (25).

Georgilaki I, Michalopoulos E. Maternal spindle transfer and pronuclear transfer in assisted reproduction. J Med Sci 2024; Jul (2):35-49

Καταστροφή εμβρύων: Στην μεταφορά ατράκτου απορρίπτονται πυρηνικά χρωμοσώματα ενώ στην προπυρηνική μεταφορά απορρίπτονται γονιμοποιημένα ζυγωτά (έμβρυα) τα οποία υπό άλλες συνθήκες θα εξελίσσονταν σε νεογνά (26).

Κίνδυνος εκμετάλλευσης γυναικών: Μπορεί να προκύψει υπερδιέγερση των ωθηκών ορισμένων γυναικών λόγω της ανάγκης για αύξηση των κλινικών δοκιμών. Κρίνεται έτσι αναγκαίο να θεσπιστούν κανονισμοί προστασίας των δωτών μιτοχονδρίων (27).

Κίνδυνος γέννησης παιδιού προβλήματα υγείας: Η καινοτομία των τεχνικών προϋποθέτει πως δεν υπάρχουν ακόμα σίγουρα δεδομένα για την αποτελεσματικότητά τους, η οποία και δεν εξαρτάται μόνο από τον θεράποντα ιατρό. Σε περίπτωση που γεννηθεί παιδί μέσω των μεθόδων, αλλά εμφανίσει κάποια δυσλειτουργία στο μέλλον, δεν πρέπει να αποδίδονται όλες οι ευθύνες στον ιατρό καθώς οι τεχνικές βρίσκονται σε πολύ αρχικό στάδιο (26).

Επιλογή φύλου: Στις ΗΠΑ γίνεται επιλογή αρσενικών εμβρύων για την εκτέλεση των τεχνικών, με το επιχείρημα ότι επειδή η μιτοχονδριακή κληρονομικότητα είναι αποκλειστικά μητρικής προέλευσης, η επιλογή αρσενικών γαμετών για εμβρυομεταφορά, θα εμπόδιζε την εξάπλωση της μιτοχονδριακής ασθένειας στις επόμενες γενιές (25).

VII ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Το μέλλον των MST και PNT φαίνεται πολλά υποσχόμενο, με συνεχιζόμενη έρευνα που στοχεύει στη βελτίωση των τεχνικών και στην επέκταση των εφαρμογών τους. Οι πιθανές εξελίξεις περιλαμβάνουν:

Βελτίωση των τεχνικών: Οι εξελίξεις στις τεχνολογίες μικροχειρισμού και απεικόνισης θα μπορούσαν να ενισχύσουν την ακρίβεια και τα ποσοστά επιτυχίας των MST και PNT (12).

Διευρυμένες εφαρμογές: Η ερευνητές διερευνούν τη χρήση αυτών των τεχνικών για άλλες γενετικές διαταραχές, διευρύνοντας ενδεχομένως τον αντίκτυπό τους πέρα από τις μιτοχονδριακές ασθένειες (28).

Μακροχρόνιες μελέτες: Η συνεχής παρακολούθηση των παιδιών που γεννιούνται μέσω MST και PNT θα παρέχει πολύτιμα δεδομένα σχετικά με τη μακροπρόθεσμη ασφάλεια και αποτελεσματικότητα αυτών των μεθόδων (29).

Παγκόσμια προσβασιμότητα: Τα νομοθετικά πλαίσια των τεχνικών σε χώρες όπως η Αμερική, ο Καναδάς και η Γερμανία είναι πολύ αυστηρά, με τις μεθόδους να απαγορεύονται ρητά. Ωστόσο σε άλλες χώρες όπως η Ελλάδα, η Αγγλία, η Ουκρανία, και το Μεξικό, οι τεχνικές είναι νόμιμες με αυξημένα επίπεδα ιατρικού τουρισμού (30). Κρίνονται σκόπιμες οι προσπάθειες να καταστούν αυτές οι τεχνολογίες προσβάσιμες σε περισσότερες χώρες, όπως και σε περιβάλλοντα χαμηλότερων οικονομικών πόρων ώστε να συμβάλουν στην αντιμετώπιση των παγκόσμιων ανισοτήτων στον τομέα της υγείας που σχετίζονται με τις μιτοχονδριακές ασθένειες (31).

VIII ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι μιτοχονδριακές νόσοι είναι σοβαρές και συχνά εμφανιζόμενες ασθένειες που δεν έχουν αποτελεσματική θεραπεία. Κρίνεται λοιπόν σημαντική η ενίσχυση των τεχνικών μιτοχονδριακής αντικατάστασης για την πρόληψη των νόσων. Οι τεχνικές μεταφοράς μητρικής ατράκτου και προπυρηνικής μεταφοράς, προσφέρουν ελπίδα στις γυναίκες που πάσχουν από μιτοχονδριακή ασθένεια, αλτρουιστική χαρά στις δότριες μιτοχονδρίων, καθώς μάλιστα αισθήματα ευγνωμοσύνης, επιθυμίας και αγάπης στα παιδιά που γεννιούνται μέσω αυτών. Ενώ και οι δύο μέθοδοι δείχνουν μεγάλη υπόσχεση για την πρόληψη μετάδοσης των εξουθενωτικών ασθενειών, παρουσιάζουν επίσης ηθικές και τεχνικές προκλήσεις που απαιτούν προσεκτική εξέταση. Καθώς η έρευνα και η τεχνολογία συνεχίζουν να εξελίσσονται, τα MST και PNT έχουν τη δυνατότητα να μεταμορφώσουν το τοπίο της αναπαραγωγικής ιατρικής, παρέχοντας νέες δυνατότητες για γενετική παρέμβαση και πρόληψη ασθενειών. Δημόσιες συζητήσεις, πορείες, πειράματα και μελέτες, θα είναι ουσιαστικής σημασίας για να διασφαλιστεί ότι οι τεχνολογίες αυτές χρησιμοποιούνται με ασφάλεια και υπευθυνότητα, ανοίγοντας τον δρόμο για υγιέστερες μελλοντικές γενιές (32).

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Reznichenko AS, Huyser C, Pepper MS. Mitochondrial transfer: Implications for assisted reproductive technologies. *Appl Transl Genom.* 2016;11:40-7.
2. Annesley SJ, Fisher PR. Mitochondria in health and disease. *Cells.* 2019;8(7):680.
3. Ylikallio E, Suomalainen A. Mechanisms of mitochondrial diseases. *Ann Med.* 2012;44(1):41-59.
4. Trifunovic A, Larsson NG. Mitochondrial dysfunction as a cause of ageing. *J Intern Med.* 2008;263(2):167-78.
5. Neustadt J, Pieczenik SR. Medication-induced mitochondrial damage and disease. *Mol Nutr Food Res.* 2008;52(7):780-8.
6. Amato P, Tachibana M, Sparman M, Mitalipov S. Three-parent in vitro fertilization: gene replacement for the prevention of inherited mitochondrial diseases. *Fertil Steril.* 2014;101(1):31-5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.11.030.
7. Revelli A, Chiadò A, Dalmaso P, Stabile V, Evangelista F, Basso G, et al. "Mild" vs. "long" protocol for controlled ovarian hyperstimulation in patients with expected poor ovarian responsiveness undergoing in vitro fertilization (IVF): a large prospective randomized trial. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31:809-15.
8. Leung AS, Dahan MH, Tan SL. Techniques and technology for human oocyte collection. *Expert Rev Med Devices.* 2016;13(8):701-3.
9. Nasr-Esfahani MH, Deemeh MR, Tavalae M. New era in sperm selection for ICSI. *Int J Androl.* 2012;35(4):475-84.
10. Sendra L, Garcia-Mares A, Herrero MJ, Aliño SF. Mitochondrial DNA Replacement Techniques to Prevent

Georgilaki I, Michalopoulos E. Maternal spindle transfer and pronuclear transfer in assisted reproduction. J Med Sci 2024; Jul (2):35-49

- Human Mitochondrial Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021;22(2):551. doi: 10.3390/ijms22020551.
11. Monroy A. Fertilization. *Encyclopedia Britannica.* 2024 Mar 28. Available from: <https://www.britannica.com/science/fertilization-reproduction>.
 12. Craven L, Tuppen HA, Greggains GD, Harbottle SJ, Murphy JL, Cree LM, et al. Pronuclear transfer in human embryos to prevent transmission of mitochondrial DNA disease. *Nature.* 2010;465(7294):82-5. doi: 10.1038/nature08958.
 13. Claiborne A, English R, Kahn J, editors. *Mitochondrial Replacement Techniques: Ethical, Social, and Policy Considerations.* Washington (DC): National Academies Press (US); 2016. Chapter 1, Introduction.
 14. Gardner DK, Schoolcraft WB. In vitro culture of human blastocysts. In: *Toward reproductive certainty: Fertility and genetics beyond 1999.* London: Parthenon Publishing; 1999. p. 378-88.
 15. Sunde A, Brison D, Dumoulin J, Harper J, Lundin K, Magli MC, et al. Time to take human embryo culture seriously. *Hum Reprod.* 2016;31(10):2174-82.
 16. Jain M, Singh M. Assisted Reproductive Technology (ART) Techniques. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576409/>.*
 17. Greco E, Litwicka K, Minasi MG, Cursio E, Greco PF, Barillari P. Preimplantation genetic testing: where we are today. *Int J Mol Sci.* 2020;21(12):4381.
 18. Schoolcraft WB, Surrey ES, Gardner DK. Embryo transfer: techniques and variables affecting success. *Fertil Steril.* 2001;76(5):863-70.
 19. Maliuta Olga. *Metaphase Meiosis II.* 2023 Oct 20. Available from: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e7/Metaphase_meiosis_II.png/640px-Metaphase_meiosis_II.png
 20. Lu Z, Zhang X, Leung C, Esfandiari N, Casper RF, Sun Y. Robotic ICSI (intracytoplasmic sperm injection). *IEEE Trans Biomed Eng.* 2011;58(7):2102-8.
 21. Sharma H, Singh D, Mahant A, Sohal SK, Kesavan AK, Samiksha. Development of mitochondrial replacement therapy: A review. *Heliyon.* 2020;6(9). doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04643.
 22. Coughlan C. What to do when good-quality embryos repeatedly fail to implant. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;53:48-59.
 23. Brook N. In-Vitro Fertilization (IVF). Available from: www.southamptonfertilityspecialist.co.uk/in-vitro-fertilisation-and-icsi/.
 24. Craven L, Elson JL, Irving L, Tuppen HA, Lister LM, Greggains GD, et al. Mitochondrial DNA disease: new options for prevention. *Hum Mol Genet.* 2011;20(R2).
 25. Newson AJ, Wilkinson S, Wrigley A. Ethical and legal issues in mitochondrial transfer. *EMBO Mol Med.* 2016. doi: 10.15252/emmm.201606281.
 26. Palacios-González C. Are there moral differences between maternal spindle transfer and pronuclear transfer? *Med Health Care Philos.* 2017;20:503-11.
 27. Gómez-Tatay L, Hernández-Andreu JM, Aznar J. Mitochondrial modification techniques and ethical issues. *J Clin Med.* 2017;6(3):25. doi: 10.3390/jcm6030025.
 28. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Mitochondrial Replacement Techniques: Ethical, Social, and Policy Considerations.* Washington, DC: National Academies Press; 2016. doi: 10.17226/21871.
 29. Craven L, Rai PK, Hoogewijs K, Russell OM, Lightowlers RN. Advances in methods for reducing mitochondrial DNA disease by replacing or manipulating the mitochondrial genome. *Essays Biochem.* 2018;62(3):455-65. doi: 10.1042/EBC20170113.
 30. Cohen IG, Adashi EY, Gerke S, Palacios-González C, Ravitsky V. The Regulation of Mitochondrial Replacement Techniques Around the World. *Annu Rev Genom Hum Genet.* 2020. doi: 10.1146/annurev-genom-111119-101815.
 31. Herbrand C, Dimond R. Mitochondrial donation, patient engagement and narratives of hope. *Sociol Health Illn.* 2018;40(4):623-38.
 32. Craven L, Alston CL, Taylor RW, Turnbull DM. Recent advances in mitochondrial disease. *Annu Rev Genom Hum Genet.* 2017;18:257-75