

# Com a PALAVRA

Nuno Costa-Borges

Gloria Calderón



## Strategies for oocyte rejuvenation: to what extent?

(Original article)

*Infertility attributed to male and female factors affects millions of couples worldwide. Although assisted reproductive technologies (ART) can circumvent some of these fertility problems, the efficacy of the treatments is greatly dependent on the quality of the oocytes used. Frequently, oocytes from patients of advanced age or with other fertility disorders (e.g, polycystic ovarian syndrome, endometriosis) fail to fertilize, produce embryos that arrest during the first stages of their development in vitro or develop into chromosomally abnormal blastocysts. The use of donated oocytes can represent an effective approach to improve the chances of successful IVF treatment in these patients, however, the resultant children are not genetically related to the intended mothers and thus it desirable to develop other alternatives.*

*Several studies suggest that aberrant meiosis or early developmental failure are caused by deficiencies in the oocyte cytoplasmic content, which contains a vast diversity of organelles, mRNAs, proteins, ribosomes and other factors. In particular, mitochondria are thought to play a key role in the oocyte metabolism, since they supply the ATP needed for the oocyte to support critical events such as maturation, spindle formation, segregation of chromosomes and chromatids and polar bodies extrusion.*

*Mitochondrial dysfunctions have in fact been identified as a major cause of poor oocyte quality and high aneuploidy rates in women of advanced age, where altered levels of mtDNA have also been associated with aneuploidy and reduced implantation potential.*

*Techniques like cytoplasmic transfer or the injection of autologous mitochondria were proposed to restore the viability of compromised oocytes in patients with a history of repeated IVF failures. However, the safety and/or benefits of these methods to treat infertility have been questioned either due to concerns related to heteroplasmy (i.e., the co-existence of two mtDNA genomes) after cytoplasmic transfer or because injection of autologous mitochondria did not show improvements in clinical outcomes.*

***"The techniques known as mitochondrial replacement therapies (MRTs) have originally been proposed to prevent the transmission of mitochondrial diseases."***

*An alternative approach that holds a great promise to address infertility problems of maternal (oocyte) origin is the transfer of the nuclear genome from an affected oocyte into a new healthier cytoplasmic content (enucleated oocyte) from a young donor. These techniques, known as mitochondrial replacement therapies (MRTs), have originally been proposed to prevent the transmission of mitochondrial diseases.*

*Over the last years, our group has been exploring the potential of one of these MRTs, the maternal spindle transfer (MST), to overcome infertility problems related to poor oocyte quality. In proof-of-concept experiments, we have shown that MST can be effective to overcome a massive embryo developmental arrest characteristic of a sensitive mouse strain and that the resultant embryos can give rise to healthy and fertile animals with very low heteroplasmy levels (Paper Prize Award ASRM 2017).*

***"The results obtained so far are encouraging"***

*Interestingly, in the same study, we conducted follow up experiments on the MST offspring and their descendants over several generations, which also showed they had higher oocyte quality than their progenitors and normal levels of fertility. Next, in a translational research project using human oocytes donated for research, we confirmed that the technique does not compromise aneuploidy rates. At present, we are evaluating the effectiveness of MST as part of a clinical pilot trial (SRCTN ref # 34844) in patients under 40 y/o that have been recruited in base of their long history of several previous unsuccessful IVF attempts characterized by massive embryo development arrest.*

*The results obtained so far are encouraging and demonstrate that MST is effective at overcoming embryo development arrest, and MST-derived embryos are able to implant and sustain a healthy pregnancy to term. However, follow-up studies on the children born and more controlled trials are needed to ensure the safety of this still experimental procedure. A question that also needs to be addressed is whether MST can also represent a valuable strategy to reduce the incidence of oocyte aneuploidies in patients of more advanced age (over 40 y/o). The nature of the aneuploidy in aged oocytes can occur either due to segregation errors in chromosomes throughout meiosis I or in chromatids segregation during meiosis II.*

*We hypothesize that MST could eventually ameliorate errors occurring during meiosis II or those of mitotic origin during cell divisions post-fertilization. However, because the majority of errors associated with advanced age tend to occur during the first meiosis, it is likely that the transfer of a MII-stage spindle into a more competent cytoplasm, may not be sufficient to avoid aneuploidies. If this is the case, other strategies may need to be developed to overcome this major problem in this patient's group. ■*

# Com a **PALAVRA**

Nuno Costa-Borges

Gloria Calderón



## Estratégias para rejuvenescimento de óvulos: até que ponto?

(Texto em livre tradução)

Infertilidade atribuída a fatores masculinos e femininos afeta milhões de casais no mundo (Niederberger et al., 2018). Apesar das Tecnologias de Reprodução Assistida (TRA) conseguirem driblar alguns desses problemas de fertilidade (Niederberger *et al.*, 2018), a eficácia dos tratamentos depende muito da qualidade dos óvulos utilizados. Frequentemente, óvulos de pacientes com idade materna avançada ou com outros distúrbios de fertilidade (como síndrome do ovário policístico e endometriose) apresentam falha de fertilização, produzem embriões que param de se desenvolver durante os primeiros estágios de desenvolvimento *in vitro* ou que formam blastocistos cromossomicamente anormais (Niederberger *et al.*, 2018; Munne *et al.*, 2002; Pellicer *et al.*, 1995).

O uso de óvulos doados pode ser uma abordagem eficaz para melhorar as chances de sucesso do tratamento de FIV nessas pacientes, porém os bebês gerados não são geneticamente relacionados às mães tentantes e, por isso, seria desejável desenvolver outras alternativas.

Diversos estudos sugerem que erros meióticos ou falha de desenvolvimento em fases iniciais são causados por deficiências no conteúdo do citoplasma oocitário, que contém uma vasta diversidade de organelas, mRNAs, proteínas, ribossomos e outros fatores (Conti, 2018; Chappel, 2013). Em particular, as mitocôndrias são consideradas essenciais no metabolismo oocitário, uma vez que oferecem o ATP necessário para o óvulo sustentar eventos críticos como maturação, formação do fuso, segregação dos cromossomos e cromátides e extrusão

dos corpúsculos polares (Conti, 2018; Chappel, 2013). Disfunções mitocondriais têm sido, de fato, identificadas como a maior causa de baixa qualidade oocitária e elevadas taxas de aneuploidia em mulheres de idade avançada, em que níveis alterados de mtDNA também foram associados com aneuploidia e reduzido potencial de implantação embrionário (Van Blerkom, 2011; May-Panloup *et al.*, 2007).

Técnicas como transferência de citoplasma ou injeção de mitocôndria autóloga foram propostas como formas de restaurar a viabilidade de óvulos comprometidos em pacientes com histórico de repetidas falhas de FIV (Cohen *et al.*, 1998; Fakhri *et al.*, 2015). Entretanto, a segurança e os benefícios desses métodos tem sido questionados no que se refere à heteroplasmia (coexistência de dois genomas de mtDNA) após transferência de citoplasma, e porque a injeção de mitocôndria autóloga não mostrou melhora nos resultados clínicos (Labarta *et al.*, 2019).

**"Disfunções mitocondriais têm sido identificadas como a maior causa de baixa qualidade oocitária e elevadas taxas de aneuploidia"**

Uma técnica alternativa que traz bastante esperança para infertilidade de origem materna (oocitária) é a transferência do genoma nuclear do óvulo afetado para o citoplasma saudável de um óvulo enucleado, de uma doadora mais jovem. Essas técnicas, conhecidas como terapias de substituição de mitocôndria (MRTs), foram inicialmente propostas para prevenir a transmissão de doenças mitocondriais (Tachibana *et al.*, 2009; Craven *et al.*, 2010; Paull *et al.*, 2013; Hyslop *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, nosso grupo tem explorado o potencial de uma dessas MRTs, a transferência de fuso materno (MST), para superar problemas de infertilidade ligados à baixa qualidade oocitária. Em experimentos de validação, mostramos que a MST pode ser eficaz para superar uma importante característica de parada de desenvolvimento em uma variedade sensível de camundongos e que os embriões resultantes podem dar origem a animais saudáveis e férteis com níveis muito baixos de heteroplasmia (Paper Prize Award ASRM) (Costa-Borges, 2017; Costa-Borges *et al.*, 2020). Curiosamente, no mesmo estudo, conduzimos experimentos posteriores nos descendentes de MST e em seus respectivos descendentes por várias gerações, que também mostraram melhor qualidade oocitária que seus progenitores, bem como níveis normal de fertilidade (Costa-Borges *et al.*, 2020).

## ■ COM A PALAVRA ■

Além disso, num estudo translacional utilizando óvulos humanos doados para pesquisa, confirmamos que a técnica não compromete as taxas de aneuploidia (Costa-Borges, 2018). Atualmente, estamos avaliando a eficácia da MST como parte de um ensaio clínico piloto (SRCTN ref #34844) em pacientes com menos de 40 anos que foram recrutadas com base em seu longo histórico de várias tentativas malsucedidas de FIV caracterizadas por expressiva parada de desenvolvimento embrionário.

Os resultados obtidos até o momento são animadores e demonstram que a MST é eficaz para superar parada de desenvolvimento embrionário, e embriões derivados de MST são capazes de implantar e sustentar uma gravidez saudável a termo. Entretanto, estudos subsequentes em crianças nascidas e ensaios mais controlados são necessários para garantir a segurança desse procedimento ainda experimental. Uma questão que também precisa de atenção é se a MST poderia também representar uma estratégia válida para reduzir a incidência de aneuploidias oocitárias em pacientes com idade avançada (mais de 40 anos).

**"Os resultados obtidos até o momento são animadores"**

A natureza da aneuploidia em óvulos envelhecidos pode ocorrer tanto por erros de segregação de cromossomos durante a meiose I ou segregação de cromátides na meiose II (Franasiak *et al.*, 2014). Nossa hipótese é de que a MST poderia eventualmente amenizar erros ocorridos durante a meiose II ou aqueles de origem mitótica durante as divisões celulares após a fertilização. Entretanto, devido ao fato de que a maioria dos erros associados com idade materna avançada ocorrerem durante a primeira meiose (Franasiak *et al.*, 2014), é provável que a transferência de um fuso em estágio MII para um citoplasma mais competente pode não ser suficiente para evitar aneuploidias. Se esse for o caso, talvez outras estratégias tenham que ser desenvolvidas para superar essa grande questão nesse grupo específico de pacientes.■