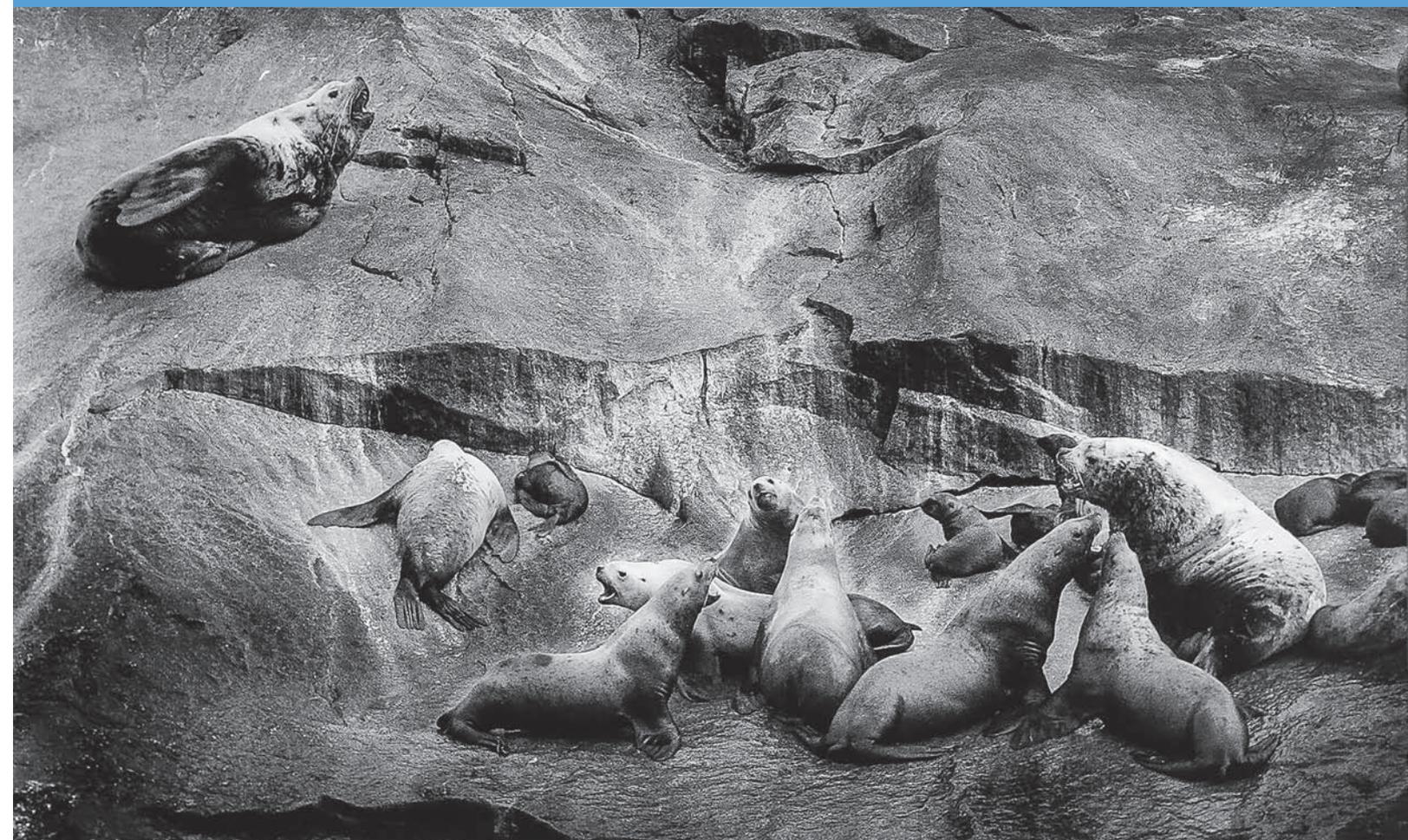


Revista

del COLEGIO OFICIAL
DE MÉDICOS DE ASTURIAS



Abril 2017



Tribuna Médica

Tribuna Libre

Conversaciones con...

Formación

Esta Revista se financia íntegramente con la publicidad. El Ilustre Colegio Oficial de Médicos de Asturias dedica, desde 1986, al menos el 0,7% de su presupuesto a programas de desarrollo sanitario en el Tercer Mundo.



Dr. Marcelo Palacios Alonso

Presidente del Comité Científico de la Sociedad Internacional de Bioética (SIBI).

¿Por qué fracasa la clonación en mamíferos?

En la clonación se incluyen la molecular y celular, la paraclonación, la gemelación y la partenogénesis. Aquí se analiza la clonación verdadera por transferencia del núcleo de una célula somática adulta, programada y diferenciada, a

un óvulo previamente enucleado. Ello da lugar a una *célula nueva*, obviamente con un estatuto biológico propio, y, según se utilice, estatutos legal y ético; y ha de tener un nombre, por lo que tras el nacimiento de la oveja *Dolly* por este procedimiento, anunciado en

1997, la llamé *nuclóvulo*, término que al menos en el ámbito de habla hispana se ha ido aceptando.

El núcleo somático extraído ha de ser reprogramado al estado similar de una célula embrionaria pluripotente (no diferenciada), reprogramación de mecanismos aún poco conocidos a la que, si marra o es incompleta (regulación y expresión del ADN y el ARN, epigenética, metilación, imprinting, etc.) se atribuyen los fracasos y patologías en el laboratorio, durante la preñez de los animales y en las crías después del parto o más tarde, si bien creo que *la manipulación técnica es, en sí, lo determinante de los fracasos*.

Han pasado veinte años desde que Dolly abrió la espita a incontables clonaciones en distintas especies de mamíferos, y a grandes expectativas para la clonación humana exclusivamente a fines terapéuticos (medicina regenerativa), así como a intensos debates sobre la posibilidad de la clonación humana reproductiva, generalmente rechazada.

Pero los resultados de la clonación en mamíferos son muy pobres, con pérdidas biológicas enormes. Y en la llamada clonación humana terapéutica, con pocos y fallidos intentos, no hubo un solo caso de aplicación clínica de las células madre embrionarias.

En 2008, el investigador mexicano Merchant Larios (Departamento de Biología Celular y Fisiología del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM), sobre la clonación en mamíferos, asegura (1): “Los resultados son todavía poco alentadores en términos de su aplicación práctica. El costo es oneroso y su eficiencia pobre. Con algunas excepciones, los pocos individuos clonados que logran nacer, muestran alteraciones en su desarrollo que sobrepasa a las detectadas en individuos desarrollados a partir del ovocito fertilizado”. “En el caso de la clonación reproductiva, los resultados obtenidos hasta ahora en modelos animales, indican una alta tasa de mortalidad fetal y alteraciones en el desarrollo de los individuos clonados”.

Y en 2012, Kenneth Eilertsen (Departamento de Epigenética y Reprogramación Nuclear del Centro de Investigación Biomédica de Pennington, Louisiana, EE.UU.), afirma (2) que “la tasa de éxito de la clonación es todavía baja, con una eficiencia global -que cambia entre las especies- de solo un 1%, lo que no es realmente viable para especies tan importantes como el ganado”. Y, “a pesar de inmensas promesas, la reprogramación celular somática todavía se enfrenta a un desafío crítico. Específicamente, cada método descrito hasta la fecha se caracteriza por bajas tasas de eficiencia que van desde ~0,0006-1%, que no han mejorado después de una década de intensa investigación, y limitan el desarrollo y la aplicación”.

Miles y miles de intentos fueron al traste, constatando (a veces con verificación también por autopsias) que la altísima morbilidad y mortalidad eran debidas a:

1) En el laboratorio gran cantidad los *nuclóvulos* tuvieron un desarrollo inviable.

El 12 diciembre de 2001 la investigadora Tanja Dominko (3) de ACT (Advanced Cell Technology), en una conferencia la semana anterior en Washington presentó los resultados de clonación de monos (*macacus rhesus*) cuando trabajaba en el equipo de Gerald Schatten, en el Centro Regional de Investigación en Primates de Beaverton, Oregón (EE. UU). La científica había analizado los 265 embriones (*nuclóvulos*) que produjeron en tres años, y aunque varios parecían sanos todos se perdieron. Investigando las causas, con el análisis celular y molecular desde estado de desarrollo de cigotos de dos células y las sucesivas divisiones celulares (blastómeros), encontró todo tipo de anomalías que calificó como un verdadero “museo de los horrores”: múltiples núcleos, núcleo donante totalmente desincronizado con el citoplasma del óvulo, anomalías en la separación de

los cromosomas, falta de cromosomas, pérdida de centrosomas, blastómeros con aspecto canceroso, etc. Algunos llegaron al estado de 32 células, pero ahí empezaron a presentarse anomalías en las células, con inviabilidad.

2) Preñeces complicadas con malformaciones y desgarros de la placenta, fallos en el desarrollo, aberraciones graves, órganos supernumerarios, deformaciones del cordón umbilical, tumores, abortos, partos prematuros.

3) Después del nacimiento, crías de gran tamaño, o con hiperpotasemia y pulmones inmaduros; o crías aparentemente normales que murieron al poco de nacer, con el bazo atrofiado, envejecimiento precoz (progeria), cáncer, así como trastornos inmunológicos y de reparación o del metabolismo ácido-básico, etc.

4) Otras patologías observadas en fetos o nacidos fueron: anomalías del corazón, trastornos respiratorios e hipertensión pulmonar, edemas generalizados, derrames internos, neumonías, infecciones, acidosis metabólica o hipotermia, graves deficiencias del sistema inmune, necrosis y fibrosis hepática, trastornos renales, diabetes, fallos del sistema nervioso, atrofia muscular, etc., sin agotar aquí los hallazgos patológicos.

Estudiando ratones clonados, expertos del Instituto Whitehead de Investigación Biomédica de la Universidad de Hawai (4), han comprobado que “sus genes se expresan de forma irregular, y que en clones aparentemente normales pueden existir aberraciones ocultas en la expresión de los genes, que no tienen por qué ser detectadas en el animal clonado”. “El análisis muestra una acusada disregulación de varios cientos de genes en las placentas de los ratones clonados, representando al menos el 4% de los genes expresados, resultados coherentes con la hipótesis de que la mayoría de los clones pueden tener anomalías de la expresión genética, causando fenotipos sutiles. Estudios recientes muestran muerte prematura, neumonía,

fallos hepáticos y obesidad en ratones clonados adultos, que podrían ser consecuencia de esas anomalías de la expresión de esos genes”.

¿A qué se deben realmente los fracasos de la clonación, en particular en mamíferos?

En mi criterio (5) se ha puesto demasiado énfasis en el fallo de la reprogramación, olvidando, sobre todo -al hervor de algunos éxitos patrióticos, mediáticos o comerciales-, aspectos mecánicos de la técnica decisivos, pues provoca lesiones a las dos estructuras implicadas: el núcleo somático y, fundamentalmente, el óvulo al que este se transfiere.

Para realizar la clonación se recurre a medios agresivos: i), en su extracción el núcleo somático es “desgarrado” y “desconectado” de orgánulos adheridos a él (retículo endoplasmático rugoso), con lo que se altera la esencial continuidad de los canales de los poros de su membrana, vías de intercambio con el citoplasma y sus componentes; ii), en el óvulo hay que perforar sus membranas dos veces, una para quitarle el núcleo (el 10-12% de su masa total), y otra para introducirle el núcleo somático, lo que se provoca sucesivamente un colapso y una presión interna, no siendo de extrañar que se dañen sus orgánulos: mitocondrias, trama de filamentos y túbulos, aparato de Golgi, etc.

De modo que la técnica de clonación, expoliadora y siempre invasiva, hace que el *nuclóvulo* creado sea una célula herida, en cuyo desarrollo embriológico son de esperar efectos negativos, como viene ocurriendo, con inviabilidad, patologías y muertes.

Los trabajos experimentales sobre el desarrollo de Christiane Nüsslein-Volhard (6), Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1995, primero en la mosca de la fruta (*drosophila melanogaster*) y posteriormente en el pez cebra, ilustran que la polaridad u orientación interior de la célula es de capital importancia para la normal realización de sus funciones, durante la embriogé-

nesis (procesos naturales que controlan el desarrollo del óvulo fecundado o *ci-goto* hasta un individuo maduro, y que en el caso de la clonación lo harían en el *nuclóvulo*), y después, de modo que cuando se desbarata su configuración se afecta el desarrollo embrionario (y en un mamífero, el feto y el futuro individuo, y su salud). En la mosca de la fruta, “la eliminación del citoplasma con sus orgánulos de un segmento interior o su traslocación, produce cambios de la localización de extremidades y órganos, etc., con graves malformaciones de todo tipo”.

El citoesqueleto, orgánulo descubierto en la década de los 80 por Keith R. Porter, biólogo celular experto en microscopía electrónica, es un entramado tridimensional dinámico de filamentos (microfilamentos, filamentos intermedios y microtúbulos) que interviene en el mantenimiento de la forma de la célula eucariota, su organización, tráfico interno y división. Según Donald E. Ingber (Director del Instituto Wyss de Ingeniería Biológica en la Universidad de Harvard, y profesor de Bioingeniería en la Escuela de Bioingeniería y Ciencias Aplicadas John A. Paulson) desde un punto de

vista mecánico (7) el citoesqueleto hace que la célula se comporte como las estructuras arquitectónicas denominadas *estructuras de tensegridad* (tensional integrity o tensegrity, en inglés, término acuñado por el arquitecto Richard B. Fuller, famoso por sus diseños o domos geodésicos, como la Biosfera, pabellón de los EE.UU. Expo 1967, Montreal, Canadá). El citoesqueleto es esencial para el correcto funcionamiento celular, que los artificios de la técnica de clonación perturban.

De un trabajo de Rosa M^a Ríos y otros (8), se extrae que “las funciones del aparato de Golgi se ven alteradas cuando se modifica su posición y su estructura en células humanas”, y “también afecta a la formación del cilio primario, una estructura sensora esencial para el funcionamiento celular”, pues “esta perturbación causa multitud de enfermedades conocidas como ciliopatías”.

En suma, los deterioros que causa la técnica a las estructuras y funcionamiento del *nuclóvulo* son trascendentes y juegan un papel fundamental en los fracasos y patologías. Creo que la clonación en mamíferos fracasa con frecuen-

cia en gran medida por los daños que causa la técnica en el óvulo y el núcleo somático, y que los escasos éxitos tienen lugar si este daño es poco significativo. Por otra parte, extrapolar los fatales resultados de la clonación animal a los humanos, a la par que las consideraciones éticas, sería un acto de irresponsabilidad científica y social intolerable.

En mi reciente publicación (5) abordo estas cuestiones, con un cuádruple alegato:

1º. En defensa del avance científico útil y controlado relativo a la clonación de mamíferos no humanos y a la obtención y posible uso terapéutico de células madre.

2º. Demandando una información estadística, pública, completa y universal sobre las secuelas de la clonación en mamíferos en todos sus pasos.

3º. En defensa del máximo bienestar de los mamíferos no humanos sometidos a investigaciones científicas, y en concreto a los partícipes, engendrados o nacidos por técnicas de clonación o similares, en pos de evitarles sufrimientos.

4º. En contra de la clonación humana reproductiva. ■

BIBLIOGRAFÍA

(1) Horacio Merchant Larios: *Clonación humana: implicaciones biológicas y éticas*. Mensaje Bioquímico, Vol XXXII. Universidad Nacional Autónoma.DF, México (2008). (http://bq.unam.mx/mensaje_bioquímico).

(2) Kenneth Eilertsen: El Mundo, A. López, 24.2.2012
-Pennington Biomedical Research Center. LSU. Dr. Eilertsen's research interests and laboratory activities. *Somatic Cell Nuclear Transfer. Somatic/Adult/Progenitor cell reprogramming*. <https://www.pbrc.edu/research-and-faculty>.

(3) -New Scientist (www.newscientist.com) y Folha de Sao Paulo, Brasil 12.12.2001.
-Dominko, T., Simerly, C., Navara, C., Payne, C., Capuano, S., Gosman G., Kowitz-Yu, C., Takahashi, D., Chance, C., Compton, D., Hewitson, L., and Schatten, G.. *Molecular Correlates of Primate Nuclear Transfer Failures*. Science 300, 2003.
-Simerly, C., Navara, C., Hyun, S.H., Lee, B.C., Kang, S.K., Capuano, S., Gosman, G.,

Dominko, T., Chong, K.Y., Compton, D., Hwang, W.S., Schatten, G.. *Embryogenesis and blastocyst development after somatic cell nuclear transfer in nonhuman primates: overcoming defects caused by meiotic spindle extraction*. Dev. Biol. 276, 2004.

(4) -Rudolf Jaenisch, Eric S. Lander, Ryuzo Yanagimachi and alt.: *Abnormal gene expression in cloned mice derived from embryonic stem cell and cumulus cell nuclei*. Science, 22 de julio 2002.

(5) Marcelo Palacios: *La célula herida. La oveja Dolly y el nuclóvulo*. Edit. Círculo Rojo, diciembre 2016.

(6) Nüsslein-Volhard C., Wieschaus E.F.: *Mutations affecting segment number and polarity in Drosophila*. Nature, 1980.
-Nüsslein-Volhard C., Dahm R: *Zebrafish: a practical approach*. Oxford University Press, 2002.
-Anderson K.V., Jurgens G., Nüsslein-Volhard C.: *Establishment of dorsal-ventral pola-*

city in the Drosophila embryo: Genetic studies on the role of the Toll gene product. Cell, 1985.

(7) Donald E. Ingber: *Cellular tensegrity: defining new rules of biological design that govern the cytoskeleton*. Journal of Cell Science 104, 1993.
-Donald E. Ingber, Laura Dike, Linda Hansen, Seth Karp y otros: *Cellular Tensegrity: Exploring How Mechanical Changes in the Cytoskeleton Regulate Cell Growth, Migration, and Tissue Pattern during Morphogenesis*. International Review of Cytology, Volume 150, 1994.

(8) Rosa María Ríos y otros: *La ubicación del aparato de Golgi en la célula es vital para el organismo* Química.es Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) el 17.06.2011, con referente en L. Hurtado, C. Caballero, M. P. Gavilán, J. Cárdenas, M. Bornens, and R. M. Ríos *Disconnecting the Golgi ribbon from the centrosome prevents directional cell migration and ciliogenesis*, The Journal of Cell Biology, 30 de mayo 2011.