

¿POR QUÉ FRACASA LA CLONACIÓN EN MAMÍFEROS NO HUMANOS?

Marcelo Palacios

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

Resumen

Han pasado veinte años desde que Dolly nació por clonación (somatic cell nuclear transfer, SCNT) pero los resultados de la clonación en mamíferos no humanos son muy pobres, y causa patologías animales y pérdidas biológicas enormes. Hasta hoy la reprogramación de células somáticas manifiesta tasas muy bajas de eficiencia (~0.0006-1%), que no han mejorado en esas dos décadas de continua investigación. Creo que la clonación SCNT en mamíferos fracasa con una frecuencia tan elevada por los daños que causa la propia técnica en el óvulo y el núcleo somático, y que *los escasos éxitos tienen lugar solamente si este daño es poco significativo*.

Abstract

Twenty years have passed since Dolly the sheep was born by cloning (somatic cell nuclear transfer, SCNT) but the results of non-human mammalian cloning are very poor, and cause animal diseases and huge biological losses. So far the reprogramming of somatic cells shows very low rates of efficiency (~0.0006-1%) that have not improved in the last two decades of continuous research. I believe that the reprogramming errors are not the only cause of these low rates of cloning; the mammalian SCNT fails with a very high frequency mainly due to the damage that the technique itself inflicts in the egg and the somatic nucleus, and the very few successful cases occur only when the damage is not significant.

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. Esta *célula nueva*, el *nuclóvulo*, es distinta del *cigoto resultado de la fecundación*, en cuanto a que en su creación no participa el espermatozoide, si bien ambas pueden desarrollarse como embriones y dar lugar a descendencia

Previo a la clonación, la célula somática (diferenciado) cuyo núcleo será extraído y transferido debe ser reprogramada al estado similar de una célula embrionaria pluripotente (no diferenciada), reprogramación de mecanismos aún poco conocidos a la que, si falla o es incompleta (regulación y expresión genética, epigenética, 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, en sí, es lo determinante de los fracasos*.

“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”. (1)

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”. “La tasa de éxito de la clonación es todavía baja, con una eficiencia global -que cambia entre las especies- de sólo un 1%, lo que no es realmente viable para especies tan importantes como el ganado”. La cifra se puede elevar al 2-3 % y en el ganado por encima del 5-10 % (2).

* Nota: En realidad es mucho más de una década, pues desde el nacimiento de *Dolly* en 1996, o sea, hace 20 años.

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

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

El 12 diciembre de 2001 la investigadora Tanja Dominko de ACT (Advanced Cell Technology), en una conferencia la semana anterior en Washington presentó los resultados de la 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 que produjeron en tres años, y aunque varios parecían sanos todos se perdieron. Investigando las causas, con el análisis celular y molecular desde el estado de desarrollo de cigotos de 2 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 (3).

-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.

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

-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.

¿Cuál es la causa de tantos fracasos de la clonación en mamíferos no humanos?

Aún con los avances en investigación celular, y el hervor de algunos éxitos, se ha puesto demasiado énfasis en los fracasos errores de la reprogramación, olvidando, sobre todo, aspectos mecánicos de la técnica que son decisivos, pues provoca lesiones a las dos estructuras implicadas: el núcleo somático y, sobre todo, el óvulo al que se transfiere(4).

El óvulo y las células somáticas son factorías de una gran complejidad, y cuando se manipulan con la SCNT en sus distintos pasos, sus componentes estructurales (los del citoplasma, núcleo somático y las membranas) se resienten y sus funciones se alteran. Téngase en cuenta que para realizar la SCNT se recurre a medios agresivos: i), al extraer el núcleo somático es “desconectado”, desgarrado, de los orgánulos adheridos a él (retículo endoplasmático rugoso), con lo que se altera la esencial continuidad de los canales de los poros de su membrana (Complejos de Poro Nuclear, NPC), 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 internos, y no es de extrañar que al taladrarlo se dañen en mayor o menor medida sus orgánulos: citoesqueleto, mitocondrias, retículo endoplasmático, aparato de Golgi, etc.,. Resulta difícil admitir, si no imposible, que la manipulación del óvulo y la célula somática cuyo núcleo se le trasplanta no cause perturbaciones morfológicas y funcionales en ellos, y que no tengan que ver con algunas malformaciones y enfermedades que se producen a causa de la clonación.

De modo que la SCNT, 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. Recordemos:

“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” (5).

“Desde un punto de vista mecánico el citoesqueleto hace que la célula se comporte como las estructuras arquitectónicas denominadas *estructuras de tensegridad* (tensional integrity o tensegrity). El citoesqueleto es esencial para el correcto funcionamiento celular, funcionamiento que la SCNT perturba (6).

“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” (7).

En suma, los deterioros que causa la técnica de transferencia nuclear a las estructuras y funcionamiento del óvulo y el núcleo somático que se le transfiere son trascendentes y juegan un papel fundamental en los fallos, patologías y pérdidas. Creo que la clonación en mamíferos fracasa con una frecuencia tan elevada en gran medida por los daños que causa la técnica en el óvulo y el núcleo somático, y que *los escasos éxitos tienen lugar solamente si este daño es poco significativo*.

Desde un punto de vista bioético, el legítimo entusiasmo científico no puede excusar la inmensa pérdida de material biológico y genético, el volumen exorbitante de complicaciones, el sufrimiento animal causado por preñeces anormales y las secuelas patológicas de las crías, tras el nacimiento y después.

¿Se debería renunciar a la clonación reproductiva en mamíferos no humanos? Razonablemente no es de esperar en el futuro una mejora sustancial de los muy bajos porcentajes de éxito a no ser que se apliquen procedimientos no traumáticos cuando se realiza la TNS o clonación.

En mi reciente publicación “La Célula herida. La oveja Dolly y el nucléulo” abordo estas cuestiones, concluyendo además, al extrapolar los fatales resultados en mamíferos y a la par que las consideraciones éticas, que la clonación en los humanos sería un acto de irresponsabilidad científica y social intolerable.

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: *Dr. Eilertsen's research interests and laboratory activities. Somatic Cell Nuclear Transfer. Somatic/Adult/Progenitor cell reprogramming*. <https://www.pbrc.edu/research-and-faculty>. Pennington Biomedical Research Center. LSU. 2017

-N. Rodríguez-Osorio, R. Urrego, J. B. Cibelli, K. Eilertsen, E. Memili: *Reprogramming mammalian somatic cells* Theriogenology 78(9) September 2012.

-*Quince años después de Dolly, la ciencia revisa la clonación*. El Mundo, A. López, 24 de febrero 2012.

(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) 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 polarity in the Drosophila embryo: Genetic studies on the role of the Toll gene product*. Cell, 1985.

(5) 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.

(6) 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.

- (7) Hurtado, C. Caballero, M. P. Gavilán, J. Cárdenas, M. Bornens, and R. M. Rios *Disconnecting the Golgi ribbon from the centrosome prevents directional cell migration and ciliogenesis*, The Journal of Cell Biology, 30 de mayo 2011.
- (8) Palacios, Marcelo: *La célula herida. La oveja Dolly y el nucléolo*. Edit. Círculo Rojo, diciembre 2016.
- Palacios, Marcelo: *¿Por qué fracasa la clonación en humanos?* Revista del Colegio Oficial de Médicos de Asturias. Abril 2017

Marzo 2017

Marcelo Palacios.

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

Plaza del Humedal, 3 33206 GIJÓN (ESPAÑA)

e-mail:bioética@sibi.org. www.sibi.org Telf. 34+985348185