

TRANSFERENCIA NUCLEAR Y CLONACION

Las tecnologías de transferencia nuclear y de clonación tienen un inmenso potencial para interrogantes científicos básicos, como así también para aplicaciones prácticas en la medicina tanto humana como veterinaria. Son varias las técnicas de aplicación posible para la clonación y la transferencia nuclear. Una de ellas consiste en lograr la **desdiferenciación** de células somáticas, y su posterior diferenciación como células embrionarias. Esta técnica, por el momento, sólo se había podido lograr en vegetales. Otra posibilidad, teórica, consiste en inducir sucesivos ciclos de mitosis en un embrión sin permitir su diferenciación para obtener suficiente número de células para producir múltiples embriones.

En la ganadería se aplica la bisección para dividir embriones de animales valiosos y así aumentar el rendimiento de crías nacidas por transferencia embrionaria a vientres de escaso valor genético¹. De cada embrión pueden lograrse hasta un máximo de cuatro individuos, dado que este es el límite mínimo de masa celular requerida para formar un blastocisto competente. Un procedimiento de este tipo fue aplicado por Stillman y Hill² a embriones humanos inviábiles, lográndose desarrollar pares de embriones que obviamente no fueron transferidos pues procedían de fertilizaciones polispermicas.

Finalmente deben tenerse en cuenta las técnicas basadas en la transferencia de núcleos a ovocitos previamente enucleados. El origen de los núcleos a transferir puede ser las células de un embrión, aunque también podría ser de líneas celulares originadas por el cultivo de la masa celular interna de blastocistos, de núcleos de líneas germinales diploides, o de células somáticas. El ovocito receptor del núcleo transferido cumple diversas funciones, entre ellas las de desdiferenciación y reprogramación del núcleo, también contribuye con sus organelas y principalmente sus mitocondrias al futuro organismo. Además provee la masa citoplasmática requerida para los ciclos de división necesarios para alcanzar el número de células que forman un blastocisto viable.

El trasplante de núcleos originados en células embrionarias se viene realizando desde hace tiempo. Utilizando ovocitos de un anfibio, *Xenopus laevis*, Briggs y King³ demostraron que los núcleos de células en estadio de preblástula podían tomar el comando del desarrollo de ovocitos enucleados. Poco tiempo después se logró obtener adultos por trasplante nuclear en *Xenopus*⁴ y *Rana pipiens*⁵. En 1981, Illmensee y Hoppe⁶ publicaron la aplicación exitosa de la técnica en ratón, pero sus resultados no pudieron ser reproducidos. Sin embargo, en otras especies de mamíferos la técnica desarrollada con batracios fue utilizada con éxito lográndose el nacimiento de ovejas⁷, bovinos⁸, conejos⁹, y cerdos¹⁰.

Sólo recientemente Ian Wilmut et al¹¹ lograron producir un animal a través de la transferencia de núcleos de tejidos adultos. Según estos autores la clave del éxito de sus experimentos posiblemente se debió a la inducción de un estado de reposo en las células utilizadas como donantes de núcleos, lo cual se logró eliminando el suero del medio de cultivo. El desarrollo temprano del embrión es controlado por ARN y proteínas que son producidos por el ovocito sin fertilizar cuando aún se encuentra en el ovario. En un estadio determinado del desarrollo del embrión, que varía según la especie, estos productos son destruidos y otros nuevos, codificados por el genoma del embrión, toman el control del desarrollo. Las células somáticas tienen su genoma en actividad, y cuando uno de estos núcleos es transferido a un ovocito enucleado las posibilidades de desarrollo dependen al parecer de que este núcleo pueda detener su actividad para luego reiniciarla cuando corresponda. Los núcleos de las células embrionarias tendrían más plasticidad para adaptarse a esta reprogramación. En cambio, las células somáticas requerirían ser llevadas a un estado de **aquiescencia**, en el que sus núcleos estarían relativamente inactivos, facilitando su reprogramación. Ejemplos específicos de reprogramación han sido descritos en anfibios, así por ejemplo las células embrionarias que darán lugar al tejido muscular: ya en el estadio de gástrula producen actina, una proteína específica. Si se transfieren núcleos de estas células a ovocitos enucleados la síntesis de ARN específico de actina cesa; cuando el nuevo embrión llega al estadio de gástrula la síntesis de actina se reinicia, pero sólo en aquellas células que luego darán tejido muscular¹².

Como consecuencia de lo logrado por Wilmut et al. debemos ahora enfrentarnos con el hecho de que, *a priori*, no existen razones para suponer que los resultados de transferencia nuclear obtenidos en ovinos no puedan extenderse a otras especies de mamíferos, incluyendo el hombre. Esta posibilidad no debe horrorizarnos, sino más bien llevarnos a reflexionar sobre cuáles pueden ser las justificaciones médicas y científicas para la posible aplicación del trasplante nuclear en humanos, y cuáles serían los beneficios y las consecuencias.

Una aplicación a considerar sería la creación de líneas celulares inmunocompatibles no diferenciadas. Si de alguna manera lográramos orientar la diferenciación, podrían generarse tejidos con gran valor para la realización de trasplantes. De esta forma puede imaginarse que cada individuo podría contar con una reserva propia de células terapéuticas, las cuales podrían generar piel, células de la sangre y probablemente tejido neuronal. Esto podría tener aplicaciones prácticas en reparación de heridas y quemaduras, trasplantes de médula ósea en casos de leucemia y otros tipos de cáncer, y utilidad en enfermedades degenerativas como el mal de Parkinson. Un escollo que debería superarse sería la posible existencia de antígenos de histocompatibilidad codificados por ADN mitocondrial, que en este caso corresponderían a la donante del ovocito.

Mediante el trasplante nuclear, sería teóricamente viable evitar la transmisión vertical de enfermedades de origen mitocondrial al transferir núcleos de embriones con esos defectos a ovocitos enucleados donados por mujeres sanas. Otra área de aplicación hipotética para esa tecnología sería la de resolver problemas reproductivos en individuos azoospermicos absolutos. Si bien en este campo se ha progresado a tal punto desde la implementación de la ICSI¹³ que actualmente resulta posible obtener embarazos aun con espermátides redondas¹⁴, existen aún casos en los cuales la única forma de lograr un embarazo sería mediante la inseminación heteróloga. Aplicando la técnica de Wilmut a humanos sería teóricamente posible lograr un descendiente genético del padre, para el cual la eventual madre contribuiría con el citoplasma ovocitario, incluyendo el genoma mitocondrial y la gestación. Si tenemos en cuenta que técnicas como la donación de semen o de ovocitos han tenido amplia utilización y aceptación social, en principio podría pensarse que el uso de la clonación tal vez resultaría aceptable en el futuro como una variante más de la fertilización asistida destinada a combatir algunos tipos de esterilidad.

Sin embargo, antes de que esto llegara a concretarse debería superarse la barrera que representa el rechazo social generalizado que actualmente inspiran estas técnicas. El mismo probablemente se deba en parte a que diverge sensiblemente del concepto de reproducción sexual al cual estamos acostumbrados. Además está alimentado por la confusión que existe entre lo científicamente realizable y las fantasías novelescas.

Si consideramos que la personalidad de un individuo dista de estar determinada exclusivamente por su genoma, sino que también su familia, y el ambiente social, tendrán una influencia fundamental sobre su desarrollo, no es difícil intuir que dos clones humanos separados por décadas en su nacimiento van a ser sensiblemente diferentes.

Finalmente debe tenerse presente que para lograr el nacimiento de la oveja Dolly, se realizaron más de ochocientas fusiones, de las cuales se obtuvieron unos 270 embriones y tan solo una preñez viable¹¹. Aún no se conocen aspectos básicos acerca del futuro desarrollo y fertilidad de Dolly. Ante el bajo grado de eficiencia del procedimiento, y los escasos conocimientos disponibles sobre sus consecuencias a largo plazo, resulta obvio que no están dadas las condiciones para considerar la transferencia nuclear en humanos más allá de lo hipotético.

Carlos J. Quintans, R. Sergio Pasqualini

HALITUS, Instituto Médico, M. T. Alvear 2084, 1122 Buenos Aires

1. Biggers JD. The potencial use of artificially produced monozygotic twins for comparative experiments. *Theriogenology* 186; 26: 1-25.
2. Kolberg R. Human embryo cloning reported. *Science* 1993; 262: 652-3.
3. Briggs R, King TJ. Transplantation of living cell nuclei from blastula cells into enucleated frog's eggs. *Proc Natl Acad Sci*. 1952; 38: 455-63.
4. Fischberg M., Gurdon JB, Elsdale TR. Nuclear transplantation in *Xenopus laevis*. *Nature* 1958; 181: 424.
5. McKinnell RG. Intraspecific nuclear transplantation in frogs. *J Heredity* 1962; 53: 199-207.

6. Illmensee K, Hoppe P. Nuclear transplantation in *Mus musculus*: Developmental potential of nuclei from preimplantation embryos. *Cell* 1981; 23: 9-19.
7. Willadsen SM. Nuclear transplantation in sheep embryos. *Nature* 1986; 320: 63-5.
8. Prather RS., Barnes FL, First NL. Multiplication of bovine embryos. *Biol Reprod* 1986; Suppl 34: 192.
9. Stice SL, Robl JM. Nuclear reprogramming in nuclear transplant rabbit embryos. *Biol Reprod* 1988; 39: 657-64.
10. Prather RS., Sims MM, First NL. Nuclear transplantation in early porcine embryos. *Biol Reprod* 1989; 41: 414-8.
11. Wilmut I, Schnieke AK, McWhir J, Kind AJ, Campbell KHS. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385: 800-3.
12. Gurdon JB, Brennan S, Fairman S, Mohun JT. Transcription of muscle specific actin genes in early *Xenopus* development: Nuclear transplantation and cell dissociation. *Cell* 1984; 38: 691-700.
13. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem A. Pregnancy after intracytoplasmic injection of a single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340: 17-8.
14. Fishel S, Aslam I, Tesarik J. Spermatid conception: a stage too early, or a time too soon? *Hum Reprod* 1996; 11: 1371-5.

A new scientific truth does not triumph by convincing its opponents and making them see the light, but rather because its opponents eventually die, and a new generation grows up that is familiar with it.

Un nuevo hecho científico no triunfa convenciendo a sus oponentes y haciéndoles ver la luz, sino porque sus oponentes eventualmente mueren, y la nueva generación surge ya familiarizada con ese descubrimiento.

Max Planck (1858-1947)

Scientific Autobiography (tr. by Frank Gaynor)