

## Clonación

Hacer investigación tiene como fin descubrir algo nuevo. Ese algo, en general, no es más que un ítem –un grano de arena– añadido al conocimiento actual. Pero muy ocasionalmente, aparece un descubrimiento trascendental, un *Breakthrough* como se lo llama en inglés, el abrir de una nueva puerta. Así fue como en el siglo XIX la teoría de la evolución de Darwin significó un cambio de paradigma. Como todo lo nuevo, esa teoría fue muy resistida y aún hoy lo sigue siendo en ciertos estados de los EE.UU. En el siglo XX, hubo muchos cambios de paradigmas: tal vez el más importante fue el descubrimiento de la doble hélice del ADN de Watson y Crick en 1953, hallazgo que marcó el inicio de la biología molecular y abrió la posibilidad de estudiar el genoma. Dentro de los dominios de la reproducción, Edwards y Steptoe en 1978 fueron los iniciadores de la fertilidad asistida: hoy, a los 22 años del nacimiento de Louise Brown, el primer bebé de probeta, se calcula que este procedimiento ha dado origen a más de 1 millón de niños normales. Y en 1996 en Escocia apareció Dolly, la oveja clonada a partir del núcleo de una célula somática<sup>1</sup>. Dolly se transformó en una de las noticias más trascendentales del siglo, no sólo por el descubrimiento en sí sino por sus alcances a nivel humano ya que se dejaba entrever la posibilidad de clonar un ser humano.

¿En qué consistió la clonación de Dolly? Muchos se ilusionaron con la relativa simplicidad del procedimiento preconizada por los medios de publicidad. De hecho, la clonación de Dolly fue un proceso largo y complejo y el resultado de decenas de experimentos en diversos laboratorios con un sinnúmero de fracasos. Según se detalla en *La Recherche*<sup>2</sup>, Wilmut y col. del *Roslin Institute near Edinburgh* obtuvieron por biopsia células mamarias de una oveja blanca en el tercer trimestre de preñez. Estas células fueron cultivadas *in vitro* y luego mantenidas durante cinco días en un medio pobre en suero para llevar el ciclo celular al borde de la apoptosis. Cada una de estas células en estado de casi hibernación fueron introducidas en un ovocito enucleado de una oveja de cabeza negra. Estos ovocitos habían sido obtenidos quirúrgicamente por perfusión de los oviductos después de una estimulación ovárica, durante la metafase II, en el momento de la ovulación. Después de aspirar el núcleo (incluso el cuerpo polar y algo de citoplasma) los ovocitos fueron puestos en cultivo a 37 °C y activados con un primer pulso eléctrico y luego fusionados con las células mamarias continuando con una serie de pulsos eléctricos, lo que permitía la formación de una nueva célula, un nuevo embrión.

No menos de 277 embriones fueron creados de esta manera en enero 1996 para ser luego introducidos en el oviducto previamente ligado de diversas hembras. Después de 6 días, 247 fueron recuperados, y de ellos 29 habían llegado a la etapa de blastocito. Estos últimos fueron introducidos en el útero de 13 ovejas surrogantes. En julio, un solo embrión había llegado a término, naciendo una oveja de cabeza blanca que recibía el nombre de Dolly (por Dolly Parton, *superstar* de folklore americano con exuberantes mamas).

Si bien había algunos antecedentes de clonación en mamíferos con células embrionarias introducidas en ovocitos enucleados, el grupo escocés fue el primero en emplear células somáticas adultas, en este caso de origen mamario (90% de células epiteliales<sup>1</sup>). Esto parecía cosa imposible. ¿Cuál fue la clave de su éxito? Aparentemente fue el hecho de combinar dos técnicas, la preactivación del ovocito enucleado con un pulso eléctrico y la detención del ciclo celular de las células somáticas. De hecho, el

objetivo primordial del grupo escocés era clonar a partir de núcleos de células fetales (grupo experimental) y no somáticas (era sólo un grupo control) por lo cual como lo señala Baraño en su excelente revisión<sup>3</sup>, "en términos experimentales, Dolly fue un control negativo que salió *mal*" y no hubo una segunda Dolly.

En 1997, en el mismo Roslin Institute nació Polly, una oveja clonada, empleando núcleos de fibroblastos fetales (ya no con los de una célula adulta) en los cuales se había insertado el gen del factor IX. No hay duda que clonar combinando con terapia génica es uno de los mayores objetivos en ovejas, vacas y aun cabras. Recientemente, *La Recherche* ha retomado el tema<sup>4</sup> describiendo los múltiples ensayos con un sinnúmero de dificultades y sólo contados resultados en el clonaje de ovejas, vacas y cerdos. En perros y gatos, y especialmente en primates, las dificultades son mayores aún, lo que aleja considerablemente la posibilidad de clonación en el hombre.

Como menciona Anne McLaren en su artículo *Cloning: pathways to a pluripotent future*<sup>5</sup> en el pasado la clonación ya había despertado mucho interés no sólo entre los investigadores, como en el caso de los batracios, sino también entre los novelistas, empezando con la renombrada obra *Brave New World* (Un mundo feliz) de Aldous Huxley en 1932, seguida de varias otras. Si bien la clonación tiene como objeto crear animales idénticos por razones de pedigree o con fines farmacológicos insertando un gen determinado, como el del factor IX, de la hormona de crecimiento, etc, tiene además otro atractivo de no menor alcance que es el de producir células pluripotentes.

Cada célula del organismo contiene todo el material genético del individuo. Durante la diferenciación que se inicia durante las primeras etapas de la embriogénesis y prosigue aún después del nacimiento, las células se especializan: sólo una fracción de los cientos de miles de genes del individuo se expresan en cada célula; los demás genes permanecen mudos. Sin embargo, estos genes no están paralizados y aparentemente podrían re-expresarse –de hecho es lo que pasó en el caso de Dolly. Sin embargo, como hemos visto, ese caso fue un verdadero *tour de force* y de hecho emplear células embrionarias es mucho más sencillo aunque en ambos casos todavía hay mucho que perfeccionar. Teóricamente es posible pero en la práctica todavía no se consiguió<sup>6</sup>.

Existe actualmente un enorme interés en clonar células pluripotentes embrionarias humanas (ES – *embryonic stem cells*) con el fin de diferenciarlas en una dirección determinada por medio de manipulaciones genéticas para eventualmente cosechar células cardíacas, musculares, pancreáticas, etc. para ser usadas en los trasplantes correspondientes<sup>7</sup>. Inglaterra, que se puede considerar como el país de más renombre en investigación embriológica, acaba de permitir estos experimentos en embriones humanos de menos de 14 días, es decir en el período anterior a la implantación. Como lo discute Reilly<sup>8</sup> en su larga revisión sobre *Public concern about genetics*, hay opiniones contrapuestas sobre el uso de embriones humanos con fines experimentales. Para aminorar esta controversia, en Italia, Veronesi –ministro de salud y además oncólogo e investigador de renombre– acaba de proponer la clonación de células pluripotentes a partir de células somáticas humanas. Aunque posible, como lo demuestra el caso de Dolly, el experimento es de muy difícil realización. A sabiendas, propone ofrecer importantes subsidios como incentivo –y aún desafío– para que los investigadores italianos lo consigan.

Sin entrar en los problemas éticos relacionados con la clonación cabe recalcar que en el último siglo los progresos científicos en este tema –y en muchos otros– han abierto rutas nuevas que deberán ser transitadas. No hay duda alguna que nunca se podrá coartar el afán de conocimiento ni detener el avance del progreso.

*Christiane Dosne Pasqualini*

Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires

e-mail: chdosne@hotmail.com

1. Wilmut EO, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385: 810-3.
2. Postel-Vinay O, Millet A. Comment ça va Dolly? *La Recherche* 1997; 297: 50-63.
3. Barañao JL. Clonación y sus aplicaciones en medicina. *Rev Arg Endocr Met* 2000; 37: 72-90.
4. Pennisi E, Vogel G. Clonage: la nature résiste. *La Recherche* 2000; 334: 28-40.
5. McLaren A. Cloning pathways to a pluripotent future. *Science* 2000; 288: 1775-80.
6. Orkin SH. Stem cell alchemy. *Nature Med* 2000; 6: 1212-3.
7. Lanza RP, Caplan AL, Silver LM, Cibelli JB, West MD, Green RM. The ethical validity of using nuclear transfer in human transplantation. *JAMA* 2000; 284: 3175-9.
8. Reilly PR. Public concern about genetics. *Ann Rev Genomics Hum Genetics* 2000; 1: 485-506.
9. Editorial. Ethics can boost science. *Nature* 2000; 408: 275.

-----

*No feat in modern molecular biology has captured the public mind as thoroughly as the report by Wilmut and colleagues, in 1997, that they had cloned a sheep. In a matter of days Wilmut, a respected but relatively unknown mammalian embryologist toiling quietly at the Roslin Institute in Scotland, was a household name (although his fame has never approached that of Dolly herself). In the brief period since the world first learned of Dolly, there have been two phases of public concern about mammalian cloning. The initial phase was provoked by a worry that an effort to clone humans was imminent, a prospect that evoked nearly universal opposition. The second phase arose from the discovery that it was possible to clone human embryonic stem cells, an advance that stimulated a debate over the moral status of a totipotent human cell. ...News of Dolly triggered two quite different reactions. One group –politicians, consumer activists, bioethicists, religious leaders and lawyers– rushed to devise and implement rules to place cells off limits. The other group –reproductive biologists, scientists who work in animal husbandry, biotechnology executives, and investment bankers– rushed to extend cloning technology to other species, mostly farm animals...*

No hubo en biología molecular acontecimiento que más haya cautivado la atención del público que el anuncio de Wilmut y colaboradores en 1997 de que habían clonado una oveja. A los pocos días Wilmut, un respetado pero relativamente poco conocido embriólogo que trabajaba silenciosamente en el Instituto Roslin en Escocia, se convirtió en alguien de renombre (aunque su fama nunca alcanzó la de Dolly). En el corto lapso desde que el mundo se enteró de la existencia de Dolly, la respuesta del público se dividió en dos fases. La fase inicial se centró en la preocupación que la clonación en el hombre pudiera ser inminente, un proyecto que despertaba una oposición universal. La segunda fase surgió del descubrimiento que era posible clonar células embrionarias totipotentes humanas, un adelanto que estimulaba un debate sobre el *status* de dichas células... A su vez, el advenimiento de Dolly desencadenó dos reacciones opuestas. Un grupo –los políticos, los bioeticistas, los líderes religiosos y los abogados– se precipitaron a diseñar e implementar reglamentos para poner células embrionarias fuera de todo posible desarrollo. El otro grupo –los biólogos en el campo de la reproducción, los investigadores en animales de granja, los ejecutivos en biotecnología y los banqueros inversores se precipitaron a extrapolar la tecnología de la clonación a otras especies, especialmente a animales de granja.

Philip R. Reilly