

LA CLONACIÓN

Prof. F. Saverio Ambesi-Impiombato

*Dept. de Patología y Medicina Experimental y
Clínica de la Universidad de Udine, Italia*

Por definición, la clonación es el procedimiento de obtener una población de varios individuos genéticamente homogéneos a partir de uno solo mediante reproducción asexual. El concepto de clonación puede aplicarse, en la ciencia moderna, tanto a nivel molecular como celular. En la actualidad, la clonación molecular es un procedimiento de laboratorio consolidado que se utiliza amplia y rutinariamente dentro de la biología molecular y la genética. Constituye una poderosa herramienta que ha producido ya relevantes aplicaciones de diagnóstico y terapéuticas en la moderna biomedicina, así como importantes usos industriales por lo que a animales y plantas se refiere.

Pero, debido a sus progresos más recientes, incluso sorprendentes, y a sus enormes implicaciones bioéticas, trataremos aquí de la clonación de células eucariotas simples y, principalmente, de la clonación de complejos organismos pluricelulares, como los mamíferos.

Durante décadas, los microbiólogos han podido cultivar *in vitro* poblaciones de células procariotas (bacterianas) individuales. Se ha tratado de una empresa en cierto modo sencilla: tales microorganismos, que en la naturaleza se desarrollan como células simples, son relativamente fáciles de cultivar, generalmente sobre la superficie del agar-agar, una base semisólida derivada de polisacáridos vegeta-

les, empleando sencillos medios de cultivo. Más recientemente, especialistas en cultivos celulares, sirviéndose de técnicas más sofisticadas y, sobre todo, utilizando complejos medios de cultivo de tejidos, han podido mantener y desarrollar *in vitro* células eucariotas individuales (de plantas, de animales e incluso de tejidos y órganos humanos).

El mantenimiento y desarrollo, durante largos períodos de tiempo, de células normales y diferenciadas animales y, sobre todo, humanas fuera del cuerpo se ha visto posibilitado al establecerse en el curso del siglo XX varios hitos consecutivos. Por su pertinencia con la clonación, puede resultar de interés relacionar aquí los más importantes.

Cultivos *in vitro*

A principios de siglo (hacia 1910), fue posible -gracias al trabajo pionero de A. Carrel- mantener *in vitro* durante días o semanas órganos individuales o fragmentos de tejidos. Los medios de cultivo eran básicamente la sangre o el suero (plasma coagulado). Así dio comienzo la era del cultivo de órganos.

En los años 30, se observaron excrecencias de células (principalmente células mesenquimales o fibroblastos), procedentes de fragmentos de tejidos, adheridas al fondo de placas Petri. Dichas células adheridas, de gran motilidad -susceptibles de movimientos ameboides-, podían extenderse y proliferar en la placa. Fue éste el origen del cultivo de tejidos.

En los 40, la posibilidad alcanzó a fragmentos de tejidos enzimáticamente disociados, con lo que pudieron aislarse y cultivarse células individuales. Aunque más sofisticados que el plasma coagulado utilizado pre-

viamente, los medios de cultivo no sustentaban el desarrollo de células muy diluidas, debido tal vez a la necesidad de acondicionar el medio. Pero la clonación de células pudo conseguirse en tubos capilares. También fue posible el cultivo en serie mediante tripsinización repetida. Dio comienzo la auténtica era del cultivo celular. Los medios de cultivo contenían entonces importantes cantidades (del 20 al 50%) de sueros (equino o bovino) y extractos (extracto de embrión) animales.

El empleo de antibióticos, de procedimientos de esterilidad más rigurosos y de medios de cultivos más complejos (perfeccionados por Earle, Ham y Coon) posibilitó el desarrollo de células primarias, linajes y clones de células hasta en un medio químicamente definido. En los años 60, células en su mayoría sin diferenciar, o células fetales y neoplásicas, de tejidos animales o, con menor frecuencia, humanos pudieron adaptarse y cultivarse *in vitro*. Una cantidad estimable (el 10%, al menos) de suero animal (principalmente ternero fetal) se añade siempre a todos los medios de cultivos celulares para mejorar la fijación y proliferación de las células.

A partir de los años 70, siguiendo el ejemplo del trabajo pionero de G. Sato, pudieron mantenerse y cultivarse *in vitro* células más normales y diferenciadas procedentes de tejidos normales y adultos -incluso de origen humano-, con la adición de factores de crecimiento y hormonas a, por lo demás, medios químicamente definidos (esto es, que no contienen suero animal) o a medios bajos en suero (del 0,5 al 2%).

Las técnicas del cultivo de células *in vitro* han sido -y desde luego son aún- sumamente importantes en la moderna investigación bio-

médica. Tanto los cultivos procarióticos como los eucarióticos se sirven en gran medida de la clonación celular *in vitro*, que se ha logrado permitiendo la repetida duplicación de las células (bien por fisión binaria en el caso de las procariotas, bien por división mitótica en el de las eucariotas) a partir de suspensiones de células muy diluidas (clónicas).

Las células eucariotas cultivadas, incluso aquellas derivadas de complejos tejidos animales o humanos, se comportan *in vitro* como microorganismos celulares simples. Con frecuencia se alude a semejantes cultivos como linajes celulares. Los microbiólogos y los biólogos celulares elaboran así sistemas de ensayo y experimentales ideales, en los que la variabilidad genética es reducida eficazmente a cero por medio de tales procedimientos clónicos. Aplicando técnicas consolidadas de clonación celular, se obtienen consecuentemente inmensas poblaciones de células genéticamente homogéneas con células capaces de crecimiento potencial de larga duración o indefinido *in vitro*. Estos clones, a menudo denominados líneas celulares, se utilizan en un número y una variedad ilimitada de experimentos biológicos moleculares y celulares *in vitro*.

Clonación de células e individuos

Las técnicas arriba descritas, junto a las estrategias aplicadas con éxito en la embriología experimental, posibilitan hoy día la obtención de clones no sólo de células cultivadas como las que acabamos de especificar o de sencillos organismos unicelulares como las amebas, sino también de organismos complejos, incluidos los mamíferos e incluso el hombre.

En la naturaleza, las procariotas y los organismos unicelulares eucariotas (organismos inferiores como las amebas) se reproducen asexualmente y, al aislarlos, se clonan espontáneamente. Por el contrario, los complejos organismos pluricelulares nunca hacen esto de forma natural, exceptuando la partenogénesis, un hecho biológicamente raro que desde luego jamás acontece en los organismos vivos más complejos, como los mamíferos. Obviamente, la evolución de los organismos vivos se desarrolló con total éxito a lo largo de millones de años, hasta alcanzar su estrategia reproductora máxima, la paulatinamente impuesta reproducción sexual, que en general favorece la recombinación genética y, de este modo, el proceso darwiniano de la *selección natural*.

A escala macroscópica, el resultado final de la evolución es la inmensa variedad de organismos vivos. A escalas microscópica y molecular, la variedad de formas de vida es aun mayor conforme a diversos órdenes de magnitud. Hace poco, ha sido dada a conocer una ciencia novel, la biopreservación, que aspira a reducir el fenómeno de la pérdida genética causada por la extinción de especies, de la que los seres humanos podrían ser parcialmente responsables a través de su impacto sobre el medio ambiente global.

A niveles celular, subcelular y molecular, la variabilidad de cada individuo dentro de géneros, poblaciones y especies es, por consiguiente, inmensa. La variabilidad genética - la reserva de alelos diferentes dentro de una población- es grande incluso considerando un simple locus de gen en una población, y, fenotípicamente, cada uno de nosotros es el resultado del trabajo orquestado de muchos millares de genes.

Diversidad biológica

La reproducción sexual es un complicado mecanismo que surgió ya muy avanzada la historia evolutiva de los organismos vivos. Resultó tanto posible como necesario al transformarse los individuos en complejos organismos pluricelulares integrados por distintas clases de células, diferenciadas en los diversos tejidos y órganos. Con posterioridad, hubo de efectuarse la separación entre células somáticas y células germinales (gametos). El objeto de la sexualidad -además de unos beneficios marginales bastante interesantes- y su papel en la evolución son los de ampliar enormemente la variabilidad genética en cada generación. Se creía que el polimorfismo genético era una peculiaridad de algunos genes de la *drosophila*, pero ahora sabemos que el vasto polimorfismo no constituye una excepción limitada a los genes de la mosca de la fruta, ni a una minoría de nuestros genes, sino que parece ser la situación estándar de la inmensa mayoría de éstos.

Aun sin considerar los efectos del cruzamiento, un fenómeno de ingeniería genética ('cortar y pegar') natural que juega a la *ruleta genética* con cada uno de nuestros 46 cromosomas, la variabilidad aumenta enormemente en cada generación gracias al mecanismo de la recombinación genética, incorporado en el método de la reproducción sexual. A través de los mecanismos básicos de reproducción sexual (gametogénesis, meiosis, fecundación), cada vez que un nuevo individuo, todavía al nivel de una simple célula (el óvulo fecundado o cigoto), se forma de los dos gametos paternos (ovocito y espermatocito) constituye el resultado final de una combinación genética única seleccionada entre un número enorme de combinaciones posibles y diferentes.

Para cuantificar la variabilidad genética de la especie humana hemos de partir de los dos gametos inmaduros presentes en los futuros padres (ovogonia femenina y espermatogonia masculina), cada uno de los cuales posee aún un número diploide ($2N=46$, ó 23 pares; uno de origen materno y el otro de origen paterno en cada par) de cromosomas, como todas las células somáticas del cuerpo. Durante el proceso de maduración genética de los gametos, se produce la reducción meiótica, y cada gameto madurado y terminalmente diferenciado (tanto el ovocito como el espermatozoido) contiene un número haploide ($n=23$) de cromosomas. Significa esto que, en un gameto maduro, solamente un cromosoma de cada par se halla aún presente, bien sea el materno, bien el paterno, y la elección se realiza, obviamente, de modo fortuito e independiente dentro de cada par. En la fecundación, se forma el nuevo cigoto, que es otra vez una célula diploide, esto es, un nuevo individuo genéticamente completo, si bien una especie en peligro de extinción a la luz de la legislación propensa al aborto hoy vigente en numerosos países llamados *civilizados*. Este nuevo cigoto es el **irrepetible** nuevo individuo, elegido por el destino o, mejor dicho, por obra divina entre tantas como 246 (223x223) posibilidades distintas. ¡Y sin considerar además el poderoso mecanismo recombinatorio genético del cruzamiento!

Nadie -a excepción de los gemelos univitelinos- es genéticamente similar a cualquier otro individuo que haya existido jamás. En contraposición, la clonación es, como apuntábamos antes, un procedimiento artificial expresamente dirigido a producir individuos genéticamente homogéneos mediante meca-

nismos reproductores asexuados. De llevarse a cabo de forma rutinaria o sistemática en organismos complejos como los humanos, tendría inmensas consecuencias en la supervivencia de las especies tal como las conocemos en la actualidad. Los cambios biológicos introducidos por la clonación, permanentes y hereditarios de resultados de su naturaleza genética, no se cribarían a lo largo de millones de años de evolución.

En esencia, la clonación de complejos organismos pluricelulares como los mamíferos y el hombre eludiría artificialmente la estrategia fundamental de la reproducción sexual, burlando los procesos naturales de la recombinación genética y la selección natural, traduciéndose inevitablemente en una importante merma de la variabilidad genética. Ésta es imprescindible para aumentar la adaptación de los individuos, expuestos siempre a un medio ambiente en permanente cambio, además de para reducir la propensión a patologías (contagiosas o no). Sería como jugarse el destino de las generaciones venideras y el sino de la propia especie humana a una lotería genética.

En el pasado se aplicaron a plantas y animales muchas estrategias que han podido mermar la variabilidad genética. Entre ellas figuran, respectivamente, el esqueje y la cría, esta última incluso mediante inseminación artificial. Pero la clonación es, con diferencia, una técnica mucho más poderosa y eficiente.

Los biólogos celulares y los genetistas no tienen la culpa. *Per se*, la ciencia no es intrínsecamente buena ni mala. Como en el caso de la física atómica, es importante saber comprender las consecuencias y controlar todos los usos posibles de los hallazgos científicos, que

en este ejemplo incluirían alternativas radicalmente opuestas, abarcando desde la guerra atómica hasta pacíficos usos industriales como la producción de energía eléctrica.

Ha llegado el momento de sentarse y decidir cuáles, de entre los muchos usos posibles de la clonación, han de explotarse y cuáles no. Con el enorme progreso de la ciencia moderna en el ámbito de la investigación biomédica, hemos alcanzado un punto en que no todo lo que es viable debería perseguirse: tenemos, sencillamente, que establecer un límite. Como en la ciencia medioambiental, se lo debemos a todas las generaciones venideras, que todavía no están aquí para defender su derecho a la existencia.

Antecedentes históricos de experimentos clave conducentes a la clonación

Este ámbito muy joven de la ciencia posee ya unos antecedentes. Esbozaremos seguidamente las nociones más pertinentes.

A principios del siglo XX, los embriólogos experimentales tuvieron éxito al separar células vivas de embriones en fase temprana. Utilizando un cabello de niño como herramienta cortante, ambas mitades de un blastómero mecánicamente segmentado se prolongaron independientemente hasta dividirse en embriones individuales, dando origen a su debido tiempo a dos gemelos saludables. El proceso pudo repetirse varias veces con el mismo embrión, produciendo así algunos gemelos (clones). La tasa de escaso éxito - mejor dicho, la tasa de elevada mortalidad - hizo que éste fuera un experimento muy adecuado para el conocimiento del desarrollo del embrión temprano, pero demasiado ineficaz para ningún uso práctico. Los sencillos

embriones utilizados en tales experimentos, originalmente de rana o pollo, no necesitaron, por supuesto, superar el paso inicial más selectivo: el procedimiento de implantación uterina. En teoría, es ésta una prueba muy dura de adaptación y supervivencia; cabe suponer que la eficacia del proceso disminuiría en buen grado de utilizarse embriones más complejos (mamíferos). En conjunto, estos procedimientos representan aún el desencadenante artificial de procesos que suceden de modo natural, es decir, la formación de unas cuantas copias de gemelos idénticos (univitelinos o monoplacentarios).

En 1938, Spemann, un embriólogo alemán, consiguió extraer el núcleo de la célula de un ovocito y reemplazarlo con un núcleo extraído de otro ovocito. Tal procedimiento, que hoy se denominaría transferencia nuclear, era logrado a duras penas con una tasa de éxito excepcionalmente baja y únicamente por investigadores duchos en las técnicas de que, a la sazón, se disponían. En la actualidad, todo ello puede hacerse con mayor eficiencia y rapidez mediante agujas muy finas que incluso se comercializan y procedimientos de microcirugía o micromanipulación controlados por ordenadores. Mediante la fecundación *in vitro* -como lo anticipó Aldous Huxley en su profético libro "*Un mundo feliz*", publicado en 1946-, a la larga la reproducción humana siempre tendría lugar fuera del útero.

Pero el experimento clave en esta secuencia temporal lo ha constituido la transferencia nuclear efectuada en 1973 por John Gurdon. En este experimento, se irradió con rayos X un ovocito de rana para inactivar funcionalmente el material genético de su núcleo. Después, con una aguja muy fina, se extrajo el núcleo de

una célula normal somáticamente diferenciada de una rana adulta y, de inmediato, se introdujo en el ovocito previamente irradiado. Aunque este experimento dio como resultado renacuajos sanos, no pudo obtenerse ninguna rana adulta fértil; con todo, está considerado un experimento de la mayor relevancia. Concebido en principio para comprender mejor la relación núcleo-citoplasma, el experimento de Gurdon demuestra asimismo la persistencia de la información genética completa (ADN) en el núcleo de todas las células terminalmente diferenciadas. Históricamente, este experimento ha constituido la primera evidencia de que la diferenciación celular de los organismos pluricelulares se adquiere primero en la fase embrionaria y, con posterioridad, se conserva a lo largo de la vida entera de todos los organismos pluricelulares -incluido el hombre- por medio de mecanismos reguladores sutilmente afinados que actúan a nivel de la expresión del gen (síntesis transcripcional o ADN nucleico/ARN dependiente).

En 1976, se informó del primer embarazo humano con éxito mediante el procedimiento de fecundación *in vitro*. Dicho procedimiento se convirtió con rapidez en una técnica rutinaria para resolver graves problemas de infertilidad. La fecundación *in vitro*, seguida de la implantación uterina, permite obviamente la transposición de la embriología experimental clásica al hombre, con procedimientos relativamente sencillos.

Anticipando de nuevo una inquietante realidad, en 1978 se publicó una novela de ficción titulada "A su imagen (La clonación de un hombre)", en la que su autor, David Rorvick, describía con detalles básicamente científicos y verosímiles la transposición del experimen-

to de Gurdon al hombre, posibilitada teóricamente por los progresos más recientes de los procedimientos de fecundación *in vitro*. El libro de Rorvick simulaba informar del éxito del experimento secreto solicitado y costado por un excéntrico millonario, deseoso -y aparentemente capaz- de obtener una copia genética de sí mismo.

En 1997, Ian Wilmut logró crear un *problema bioético* real al comunicar el nacimiento de Dolly, la oveja clonada. Según el artículo publicado en "Science", el clon se originó mediante una fiel repetición del experimento de Gurdon adaptado a las ovejas. Pero representó un notable progreso sobre el de Gurdon, principalmente por dos razones:

—los organismos mamíferos son, por regla general, sensiblemente más difíciles de tratar como sustratos experimentales que los organismos inferiores, como los anfibios. Resulta, por tanto, sorprendente que pudieran emplearse con éxito células mamíferas en la clonación con una eficiencia equiparable, o incluso superior, que las de rana de Gurdon.

—podrían obtenerse animales adultos, lo cual es un resultado muy superior al de los renacuajos de Gurdon. Aún tenemos que esperar para ver si Dolly evidencia ser también fértil, lo que constituiría la prueba definitiva de la integridad genética del clon.

Es una norma de "Science" no dar por sentado ni el experimento más sencillo a menos que haya sido repetido, de modo independiente y con resultados al menos comparables, en otros laboratorios. Ello sería particularmente importante en el caso del experimento de Wilmut, puesto que no se incluyó en la publicación prueba genética alguna (huellas genéticas comparadas de

Dolly y de sus *padres*) certificando el hecho de que Dolly es un verdadero clon en vez del resultado de un embarazo demorado utilizando un embrión congelado, lo que también hoy día resulta técnicamente posible. La esperada confirmación llegó en 1998 procedente de un proyecto común Hawai/Padua, que informó de la clonación de 50 ratones.

La situación actual

Hasta la fecha, nos hallamos en medio de una controversia que emerge en la literatura científica y asimismo en la prensa en general. Son precisos más experimentos confirmatorios para averiguar la auténtica posibilidad de usos prácticos, incluso industriales, así como la posibilidad y la oportunidad de aplicar esta estrategia en los humanos.

El objeto de la presente exposición es promover la planificación y el debate administrativo en torno a un tema de tanta relevancia bioética más que facilitar respuestas y efectuar previsiones. Estas últimas son difíciles en un marco en que las directrices -que tanto se precisan- podrían inclinar hacia cualquier lado las consecuencias futuras de los más recientes frutos de las investigaciones antes mencionadas.

Por consiguiente, como aportación para estimular las ideas y promover el debate, concluiremos sencillamente relacionando las posibles ventajas e inconvenientes de la clonación de mamíferos y humanos.

—Ventajas:

Razas más puras

Características conocidas y controlables.

Evitación de patologías conocidas

Descendencia únicamente similar a un progenitor.

No necesidad de ambos sexos para perpetuar las especies.

—Inconvenientes:

Disminución y, a la larga, supresión de la variabilidad genética.

Extinción de las especies.

Creación de nuevas razas, variantes o incluso especies.

Conclusiones

Como ya hemos señalado, la ciencia no es buena ni mala. Resulta, asimismo, difícil controlar o restringir la libertad de los científicos implicados en investigaciones básicas, y hasta sería cuestionable desde el punto de vista ético.

Las aplicaciones comerciales, industriales o en gran escala de los descubrimientos científicos deberían, en cambio, clasificarse según su posible impacto sobre el medio ambiente y sobre la propia naturaleza. No es un cometido sencillo puesto que no sólo la estatal, sino cada vez más la investigación biotecnológica se nutre copiosamente de fondos industriales o privados, menos controlables.

Sin embargo, en distintos países se aplican con mucha eficacia filtros estratégicos o militares sobre toda clase de áreas de investigación potencialmente delicadas. De modo que, teóricamente, es posible encubrir los usos biológicamente críticos de la moderna investigación.

Esto es importante pues mientras los inconvenientes antes citados resultan sin duda evidentes, la mayoría de las ventajas listadas son de naturaleza muy discutible, al menos si la preservación de la raza humana y de sus estrategias reproductoras -tal como evolucionaron y son ahora- siguen constitu-

yendo una prioridad. Tendrían que constituir una prioridad de lo más alta.

Y las consideraciones de líneas arriba se basan en el actual estatus científico. Es también posible predecir que la técnica de la clonación, junto a progresos más que probables en las ciencias biomédicas, podría en fecha próxima destapar aún nuevas posibilidades, en principio sumamente perturbadoras, tales como individuos parcialmente desarrollados para su utilización como donantes de órganos o como piezas de robots mixtos biomecánicos.

En este contexto, la fantasía humana parece ser actualmente el único límite y la ciencia ficción, la mejor fuente literaria. Llegados a este punto, la cuestión es: ¿valdrá todo ello la pena? ¿Será el precio a pagar demasiado alto? Con probabilidad, éste va a constituir el principal problema bioético que afrontaremos. Algo habrá que hacer antes de que sea demasiado tarde.

(Traducción del original en inglés, Alberto Caballero)