

CLONACIÓN

B. I. Fernández Gil; I. García Moreiras;
J. Irisarri Cal & G. Loureiro Abalde

Bea_fernandez@alumnos.uvigo.es, iriagarciamoreiras@hotmail.com, surfermermaid@hotmail.com, glourei-
ro@alumnos.uvigo.es

Alumnos 1º Bioloxía, Materia: Citoloxía e Histoloxía Animal e Vexetal (2005-2006),
Universidade de Vigo. Profesores: Manuel Megías, Pilar Molist e Manuel Ángel Pombal.

Resumen: Este trabajo desarrolla brevemente la clonación, sus técnicas y los problemas éticos surgidos a raíz de ella.

Resumo: Este traballo desenvolve brevemente a clonación, as súas técnicas e os problemas éticos xurdidos a raíz dela.

INTRODUCCIÓN

En la naturaleza, la clonación está relacionada con la reproducción asexual, cuyas réplicas son copias genéticas idénticas al progenitor. Las primeras clonaciones artificiales se consiguieron utilizando plantas (por ejemplo reproducción mediante esquejes). Posteriormente, en 1952, y tras algunos intentos, John Gurdon consigue clonar sapos de la especie *Xenopus laevis*. Ya en los años 80 encontramos los primeros intentos de clonación en mamíferos, pero estos ensayos hechos con ratones fueron fallidos. En la década de los 90 los experimentos proliferan. Los ensayos persiguen el refinamiento de las técnicas que culminan en 1997 con el anuncio al mundo de la existencia de la oveja Dolly. Es en esta década cuando surgen las primeras controversias sobre la posibilidad de clonar humanos. Al mismo tiempo, la comunidad científica duda de la veracidad de los anuncios de clonaciones en humanos puesto que hasta el momento no hay pruebas de que sea verdad.

Ya entrado el siglo XXI se asientan las bases para su aplicación científica y comercial. La clonación como tal se consolida.

CONCEPTOS CLAVE

La clonación es el conjunto de todas aquellas técnicas que dan lugar a la creación de un organismo o línea celular con idéntica dotación genética del ser o célula del que se parte. Por lo tanto, un clon no es más que una copia genética del ser del que procede. Este hecho no implica una identidad morfológica similar por parte del clon, así los gemelos son copias genéticas, clones entre sí, y mantienen identidades bien distintas el uno del otro.

Al contrario de lo que pudiera parecer, los clones son bastante frecuentes en la naturaleza (tumores, organismos con reproducción asexual como bacterias, protozoos o levaduras, organismos con reproducción por escisión como hidras, lombrices o estrellas de mar, plantas que proceden de la reproducción vegetativa, gemelos, etc). Actualmente se están desarrollando técnicas para la creación de clones artificiales que podrían llegar a tener un gran interés económico.

Expresión génica: No todos nuestros genes suelen ser operativos en todas las células. Existe una relación inversa entre especialización y cantidad de información genética expresable: las células diferenciadas (hepatocitos, miocitos, neuronas) posiblemente sólo expresan alrededor del 10% de sus genes como contrapartida a su especialización.

Célula madre: En biología, se denomina así a aquella célula que se encuentra en un estado indiferenciado capaz de diferenciarse en (de producir) otras células más especializadas. Una célula madre cuando se divide es capaz de generar una célula igual a sí misma y otra diferente especializada, cuando y donde tal división sea necesaria. Es decir, una célula sigue como indiferenciada y mantiene la capacidad de proliferar, mientras que la otra se especializa. Esta definición engloba a cualquier célula madre.

Una característica fundamental de las células madre es que tienen capacidad de autorregeneración (en el cuerpo o en una placa de cultivo) de forma indefinida. Puesto que al dividirse siempre forman al menos una célula idéntica a ellas mismas, manteniéndose siempre una población de células madres.

Existen tres tipos de células madre: totipotentes, pluripotentes, y multipotentes. Básicamente, en biología se trabaja con dos tipos: la célula madre por excelencia el cigoto, que es totipotente y dará lugar a las células madre embrionarias pluripotentes del embrión, y con células madre multipotentes de capacidad más limitada para generar células especializadas. Hay que aclarar un punto: aunque las células de la masa celular interna del blastocisto son pluripotentes, no son en sí mismas células madre, según la definición dada anteriormente, porque no se mantienen indefinidamente como tales in vivo, sino que se diferencian sucesivamente en los diversos tipos celulares durante la fase intrauterina. Lo que ocurre es que cuando se extraen del embrión y se cultivan in vitro bajo ciertas condiciones, se convierten en células "inmortales" dotadas con las dos propiedades ya comentadas: autorrenovación y pluripotencia. En el contexto de la actual investigación se pretende obtener células madre que se mantengan como tales en cultivo en el laboratorio y que al ser estimuladas adecuadamente se pueden obtener poblaciones de células diferenciadas para ser utilizadas en la reparación o susti-



Fig. 1. Técnicas de microinyección

tución de órganos y tejidos defectuosos.

Perspectivas con las células madre embrionarias (CME)

El potencial terapéutico de las CME se pondría de manifiesto sobre todo empleando las derivadas del propio paciente, ya que no habría problemas de rechazo de injertos: estaríamos ante un autotrasplante. Pero ¿cómo es posible esto en un individuo ya nacido, si por definición estas células proceden de embriones? Este es el principal problema hasta ahora de las células madre, que hay que crear embriones de los que obtener células madre potencialmente útiles para su uso terapéutico y en investigación.

Aquí es donde entraría el método de transferencia de núcleos a partir de una célula somática que veremos más adelante (Fig.1).

Hay varios problemas éticos y algunas implicaciones sociales de todas estas técnicas, pero para adentrarnos en este tema conviene conocer dos conceptos: el de Ética (filosofía moral o disciplina filosófica que estudia las reglas morales y su fundamentación) y el de Moral (define nuestras acciones en aceptables o no aceptables).

Como podemos ver, el asunto trasciende claramente la biología por lo que intentar sustentar científicamente un problema que es esencialmente ético (o moral) no es productivo porque se pueden encontrar argumentos a favor o en contra de forma que siempre habrá alguno en el que apoyarse. Aunque puede que la propia ciencia esté en camino de solventar este dilema ético. Investigadores norteamericanos han conseguido obtener un tercer tipo de célula madre denominadas las células madre pluripotentes inducidas. Estas células son células ma-

dre adultas capaces de desdiferenciarse a células madre embrionarias. Este reciente descubrimiento implicaría la obtención de clones sin necesidad de usar embriones (Werning y col. 2007).

TÉCNICAS DE CLONACIÓN ANIMAL

Hay diversas técnicas para obtener clones animales:

1. División artificial de embriones: en la fase de mórula, ésta se puede dividir en dos para obtener dos embriones. La bisección embrionaria se puede hacer en estado de blastocisto. En este caso tendremos que cortar por la mitad la masa celular interna. A cada parte resultante se le llama demiembrión o hemiembrión.
2. Transferencia de núcleos (Fig. 2). Se necesita un núcleo donante y un citoplasma receptor. Los primeros experimentos se realizaron en el anfibio *Rana pipiens* porque posee oocitos de gran tamaño. Se transfirieron

núcleos de células de blástula a oocitos previamente enucleados con micropipetas. Posteriormente la transferencia se realizó a partir de núcleos de células epiteliales de intestino de renacuajo, consiguiendo el desarrollo hasta sapos adultos. En el proceso se irradia el huevo para destruir el ADN materno e inyectar el núcleo donante. Los estudios anteriores en el transplante de núcleos, tanto en anfibios como en mamíferos, fallaron por la incompatibilidad en el ciclo celular entre el núcleo donante y el oocito receptor, llevando a la aparición de alteraciones cromosómicas que impiden el desarrollo embrionario. El núcleo donante se encontraba en fase S o G2 del ciclo celular, siendo incompatible con el oocito receptor que se encontraba parado en la metafase II. Cuando el núcleo en fase S o G2 es introducido dentro de un oocito en metafase II, éste tiende a sufrir una replicación adicional del ADN y una condensación prematura de los cro-

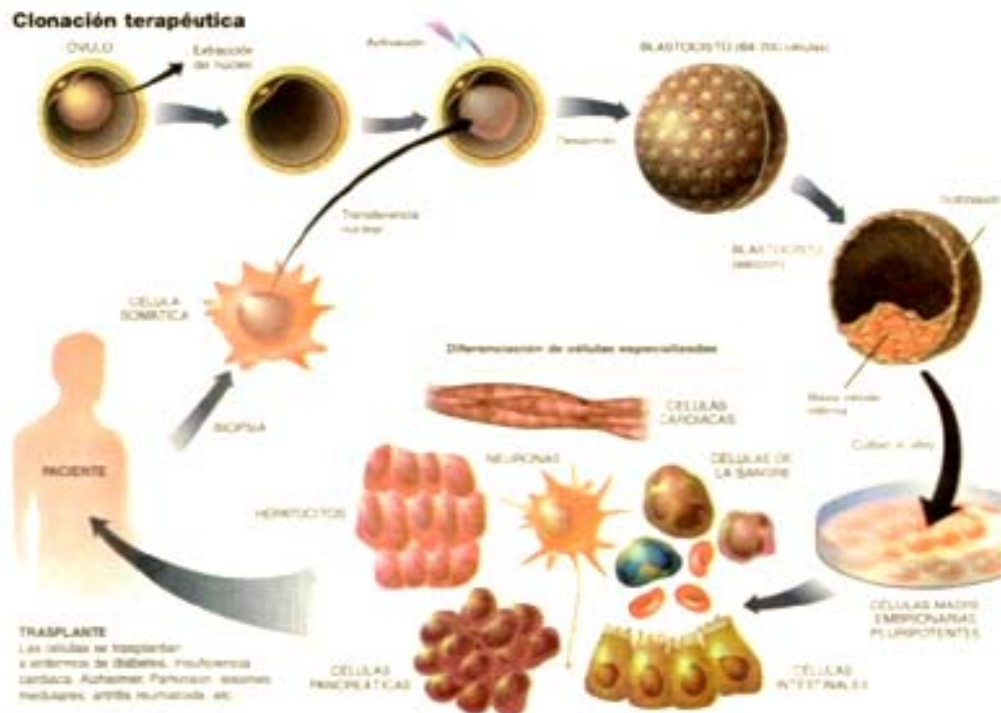


Fig. 2. Clonación terapéutica (El País)

mosomas dando como resultado un desarrollo anormal.

El equipo del Dr. Wilmut consiguió iniciar el desarrollo embrionario reduciendo la posibilidad de alteraciones cromosómicas. Así, el núcleo de células provenientes de cultivos deprimidos de suero se detuvo en G0 y se introdujo en un oocito receptor. De este modo se logró sincronizar el tiempo de replicación del ADN y del citoplasma receptor, evitando alteraciones cromosómicas.

Para que el núcleo se fusione con el citoplasma se le da un impulso eléctrico que a su vez activa la multiplicación celular. Las células donantes del núcleo debían estar en la fase G0 en el cultivo celular, donde se mantienen quiescentes. Es fácil conseguirlo mediante la disminución del 10% del suero habitual al 5% en el cultivo celular en el que se mantiene, las células no tendrán nutrientes y perderán su actividad.

-Clonación en ovejas: El equipo que ha realizado los experimentos con la oveja Dolly han logrado que se formase Dolly a partir del núcleo de una célula totalmente diferenciada de ubre de otra oveja adulta. De 277 núcleos de glándula mamaria insertados sólo 29 llegaron a mórula, y sólo Dolly nació con fenotipo (apariencia) del núcleo donante (oveja de cabeza blanca) frente al huevo del receptor que era de cabeza de color negro.

-Clonación de peces: el estudio se ha realizado en un pequeño pez llamado Medaka, *Oryzias latipes*, cuyos oocitos son transparentes, lo que es una ventaja para manipularlos. En el experimento, un pez de color oscuro de la variedad salvaje se utilizó como donante de núcleos. Se individualizaron las células de la blástula con micropipetas inyectando iones de calcio y magnesio en una

disolución reguladora. Las células se mantuvieron a 4° C y se tiñeron de rojo para su mejor identificación. La pigmentación oscura es el alelo dominante B/B. La variedad naranja es una mutación con alelo recesivo b/b. Sus oocitos no fecundados sirvieron de recipiente. Se mantuvieron a 18° C en contenedores de plástico de 35 mm en disolución de penicilina principalmente. De los 845 trasplantes 27 peces fueron oscuros y 2 naranjas con la técnica intercambiada.

-Clonación en conejos: Los conejos tienen muchas ventajas como animal experimental. Su estado de gestación dura únicamente 1 mes, permitiendo una evaluación rápida del desarrollo fetal y postnatal. Los conejos presentan folículos pre-ovulares en sus ovarios y la ovulación se puede estimular hormonalmente. Los embriones se recubren con una gruesa capa de glucoproteínas. Sin embargo, la zona pellucida y la membrana del oocito son fácilmente atravesadas. Los oocitos se activan con esperma que aumenta la cantidad de calcio intracelular, o con descargas eléctricas. El oocito prosigue hasta la interfase y no se detiene en metafase II gracias al descenso del factor promotor de la mitosis (FMP) por no producirse ciclina B. El FMP es un complejo proteico promotor de la fase M del ciclo celular y contiene una ciclina y una proteína quinasa. Las ciclinas son un grupo de proteínas que actúan regulando distintos momentos del ciclo celular. Se encuentran formando parte del dímero de quinasas dependientes de ciclinas (Cdk) constituido por una subunidad quinasa y otra ciclina.

Tras implantar el nuevo núcleo y desarrollarse el cigoto a embrión, éste se introduce en el oviducto de la hembra. Esto ha sido

desarrollado quirúrgicamente y sin cirugía.

-Clonación en ratones: Empleando la técnica de transferencia de núcleos. Todas las células somáticas pueden soportar que su núcleo sea transferido a un blastocisto y se desarrolle. Aun así, lo núcleos de los fibroblastos son los que mayor éxito han producido en lo que a descendencia se refiere. Los oocitos son activados mediante ión estroncio, esperma o descargas eléctricas. Los nuevos ratones presentan pocas diferencias con ratones no clonados. En ejemplares clónicos el peso corporal suele ser más elevado debido a que durante su desarrollo la placenta es mayor. Sin embargo su descendencia no heredará el aumento de tamaño.

APLICACIONES DE LA CLONACIÓN ANIMAL

Antes de nada debemos considerar que la clonación no siempre implica formación de embriones y uso de sus células madre. La clonación más sencilla es la clonación de células. A partir de una célula madre epidérmica se puede conseguir un gran clon de células epidérmicas genéticamente iguales y usarlas para reparar la piel de un paciente que sufre quemaduras graves. La técnica del trasplante nuclear, sin embargo, implica la formación de embriones que, por un lado pueden usarse para producir un nuevo individuo (clonación reproductiva) o bien, como fuente de células madre embrionarias (clonación no reproductiva o terapéutica).

Clonación de mamíferos

Clonación de mamíferos a partir de células adultas; ejemplo la oveja Dolly. Una ventaja importante es que se conoce de antemano las características del nuevo animal. Los

ganaderos podrían beneficiarse consiguiendo clones de los animales que son más productivos y resistentes a enfermedades que otros. Por otro lado, se está estudiando la posibilidad de clonar animales en extinción, o incluso hacer reaparecer especies ya extinguidas.

Clonación y terapia génica

Se está estudiando el uso de la clonación para “corregir” fallos genéticos de un embrión. Del mismo modo se podrían curar enfermedades genéticas en individuos adultos, por ejemplo, el uso de virus modificados genéticamente como vectores que transporten genes específicos al interior de las células madre de las neuronas, para el tratamiento de enfermedades neurológicas (Parkinson, Alzheimer). Son aplicaciones por ahora poco factibles, pero que en un futuro podrían convertirse en una revolución médica.

También se pueden introducir genes en células madre embrionarias que expresen proteínas terapéuticas y luego crear animales que sinteticen esa proteína, por ejemplo en la leche.

También debemos nombrar el uso de la clonación para crear nuevos órganos, que se usarían en trasplantes, evitando rechazos y largas listas de espera.

Sin embargo, existen muchos problemas que frenan el progreso de la clonación. Problemas relacionados con la técnica, como son el bajo porcentaje de éxitos (tengamos en cuenta que Dolly se consiguió tras 277 intentos) y el alto número de óvulos requerido en la clonación de animales, así como los graves problemas de salud que presentan. También debemos tener en cuenta, que

la manipulación genética, ya sea de animales adultos, embriones o bacterias (e incluso de plantas) puede conllevar cambios en otros genes. La clonación y la manipulación de los genes no son técnicas exactas, por lo que no siempre se obtienen los resultados esperados. Además de todo esto están los inconvenientes éticos respecto a la clonación humana.

La clonación es una técnica con expectativas, sobre todo en medicina, pero todavía debe superar varias dificultades para ser utilizada convencionalmente.

BIBLIOGRAFÍA

BROKER ROBERT, J. 2005. *Genetics, analisis & principles*. 2nd Edition, Mc Graw Hill Higher Education.

IZQUIERDO ROJO, M. 2001. *Ingeniería genética y transferencia genética*. Ediciones Pirámide.

LANZA, C.J., CAMPBELL, R., KEITH., H. S,

WEST, M. 2002. *Principles of Cloning*. Academic Press.

WERNING, M., MEISSNER, A., FOREMAN, R., BRANKBRINK, T., KU, M., HOCHEDLINGER, K., BERNTEIN, B.E., JAENISCH, R. 2007. *In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state*. Nature, 448:318-324.

BIOTECNOLOGÍA PARA LA SALUD PÚBLICA. 2006. http://biotec.amgen.es/cgi-bin/wdbcgi.exe_/amgen/pak_biotec.muestradoc?p_item=17

PÁGINA WEB CULTURAL Y SOCIAL DE HOSPITAL

http://www.canal-h.net/webs/sgonzalez002_

[/Manipulacion/CLONACION.htm](#)

PÁGINA WEB SOBRE SALUD PÚBLICA ESPAÑOLA. http://geosalud.com/Clonacion/clonacion_aspectos_cient%EDficos.htm

debe superar varias dificultades para ser utilizada convencionalmente.