

LAS CÉLULAS TRONCALES Y LA CLONACIÓN HUMANA

Luis F. COVARRUBIAS R.

SUMARIO: I. La "plasticidad" del genoma y la clonación. II. Las células troncales y su capacidad para diferenciar. III. La clonación humana. IV. Las células troncales humanas y la clonación terapéutica. V. Algunos criterios a considerar sobre el uso de embriones humanos en experimentación y terapéutica. VI. Conclusión.

Siempre se había pensado, particularmente en mamíferos, que una vez que una célula se especializaba, su información genética quedaba restringida para poder llevar a cabo sólo las funciones de la célula adulta diferenciada (por ejemplo, célula muscular, hepática, nerviosa). Sin embargo, los recientes avances tecnológicos y científicos ahora muestran que esas restricciones sobre el genoma no son irreversibles y que es posible manipular el entorno del núcleo (en la clonación) o de la célula (en las células troncales) para permitir iniciar procesos de diferenciación tan diversos como aquellos que ocurren al principio del desarrollo de un organismo. Como consecuencia de este cambio radical en nuestra concepción del genoma y de las células troncales, la imaginación del científico y del público en general se han abierto sin límite para pensar

en los posibles beneficios y perjuicios a la humanidad que de ahí pudieran desprenderse.

I. LA "PLASTICIDAD" DEL GENOMA Y LA CLONACIÓN

El desarrollo de un organismo es un proceso irreversible donde cada una de las células conforme se diferencia va adquiriendo propiedades específicas, muchas de las cuales son esenciales para desempeñar su función dentro de un tejido u órgano. Cada propiedad específica puede estar codificada por uno o varios de los genes contenidos en el genoma (químicamente constituido de ácido desoxirribonucleico —ADN—) de cada célula. ¿Cómo se adquieren estas propiedades durante el proceso de diferenciación? En la era del ADN es bien aceptado que la mayor parte de las propiedades que adquiere una célula durante la diferenciación resulta de cambios en el conjunto de genes que se expresan, sin que estos cambios vayan acompañados por alteraciones en el contenido y la organización molecular básica del genoma (esto es, el esqueleto de ADN), característica de un organismo específico. Es decir, la célula 'madre' contendrá el mismo genoma que cada una de sus células hijas, nietas, bisnietas, etcétera, pero el conjunto de genes que expresan y que les dan las propiedades funcionales distintivas a cada célula descendiente son diferentes. Esto último significa que algunos genes en una célula específica estarán 'encendidos' mientras que otros estarán 'apagados', lo que se controla por un mecanismo que en general no involucra alteraciones en la organización del genoma.

Con base en la información anterior, hace varias décadas algunos investigadores se preguntaron si la información genética en el núcleo de una célula diferenciada sería capaz de retornar a su estado inicial (esto es, después de la fusión de los genomas de los gametos), y volver a

sufrir los cambios en la actividad de los genes (por ejemplo, encenderlos o apagarlos) que ocurrieron durante la diferenciación celular. Es decir, estos investigadores buscaban demostrar en forma definitiva que, durante el proceso de diferenciación, la información genética no se altera de forma irreversible. De los experimentos de estos investigadores, los que más impactaron fueron los del doctor J. Gurdon.¹ Sus experimentos mostraron, en el sapo *Xenopus leavis*, que el núcleo (el compartimento donde se encuentra el ADN) de una célula diferenciada (esto es, del intestino) es capaz de sustituir al núcleo del huevo, dando lugar a todo el conjunto de células diferenciadas que constituye a este organismo. En otras palabras, el ADN en el núcleo de la célula diferenciada fue capaz de 'reprogramarse' al principio del desarrollo (equivalente a dar un *reset* en una computadora), por influencia del citoplasma del huevo, y reiniciar el proceso de diferenciación.

Posteriormente, otros grupos de investigación intentaron repetir estos experimentos en otras especies, especialmente en mamíferos. Destacan aquellos realizados en el ratón, donde después de muchos esfuerzos se llegó a la conclusión de que para que un núcleo pueda ser capaz de iniciar el desarrollo se requiere de la dotación de genes provenientes del gameto masculino (del padre) y del gameto femenino (de la madre), y que por tanto era 'imposible' reiniciar el desarrollo a partir de una célula diferenciada,² quizá porque es difícil regresar desde el estado de una célula diferenciada al estado de actividad del ge-

1 Gurdon, J. B., "The Developmental Capacity of Nuclei Taken from Intestinal Epithelium Cells of Feeding Tadpoles", *J Embryol Exp Morphol*, 10, 1962, pp. 622-640.

2 McGrath, J. y Solter, D., "Inability of Mouse Blastomere Nuclei Transferred to Enucleated Zygotes to Support Development in Vitro", *Science*, 226, 1984, pp. 1317-1319.

noma del huevo fertilizado. Esta conclusión pudo generar un enorme retraso en la comprensión de la 'plasticidad' del genoma, si no fuera por investigadores perseverantes que decidieron, a pesar de esas conclusiones, seguir intentando, especialmente en especies de interés agropecuario. Esta serie de experimentos llevó finalmente a producir lo que se consideró el primer mamífero clonado a partir del núcleo de una célula totalmente diferenciada, la bien conocida oveja Dolly,³ de donde surgieron muchas preocupaciones en la sociedad respecto a lo que pudiera significar la posibilidad de la clonación humana a partir de células de un individuo adulto. A la fecha se han podido clonar no sólo ovejas sino también bovinos, monos y, contrario a lo reportado, ratones, si bien no siempre a partir de núcleos de células del organismo adulto.⁴

II. LAS CÉLULAS TRONCALES Y SU CAPACIDAD PARA DIFERENCIAR

Una visión celular del desarrollo de un organismo es que inicia desde una célula indiferenciada, la cual a través del tiempo va diferenciando, primero, a células aún indiferenciadas, pero más comprometidas a formar un tipo celular específico, y luego a las células especializadas responsables de la función de un tejido u órgano. Es decir, el desarrollo empezaría con una célula 'madre' capaz

3 Wilmut, I. *et al.*, "Viable Offspring Derived from Fetal and Adult Mammalian Cells", *Nature*, 385, 1997, pp. 8101-8113.

4 Lanza, R. P. *et al.*, "Extension of Cell Life-Span and Telomere Length in Animals Cloned from Senescent Somatic Cells", *Science*, 288, 5466, 2000, pp. 665-669; Lai, L. *et al.*, "Production of alpha-1,3-Galactosyltransferase Knockout Pigs by Nuclear Transfer Cloning", *Science*, 295, 5557, 2002, pp. 1089-1092; Meng, L. *et al.*, "Rhesus Monkeys Produced by Nuclear Transfer", *Biol Reprod*, 57, 2, 1997, pp. 454-459; Wakayama, Teruhiko y Yanagimachi, Ryuzo, "Cloning the Laboratory Mouse", *Seminars In Cell & Developmental Biology*, 10, 1999, pp. 253-258.

de generar todos los tipos celulares a través de la formación de células hijas que a su vez son capaces de generar sólo un subconjunto de tipos celulares, y así sucesivamente. Este proceso se puede imaginar como un árbol donde la célula madre se encuentra en el tronco, las células hijas indiferenciadas en la base de las ramas, y las células diferenciadas en la punta de ellas. De esta manera de ver el proceso de diferenciación se deriva el término de célula tronco o célula troncal (en inglés *stem cell*) para aquellas células que se encuentran en la base del tronco o de una 'rama' y que continuamente tienen la capacidad de generar sus ramificaciones (esto es, diferenciar a los distintos tipos celulares). Así entonces, una característica esencial de una célula troncal es que tenga la capacidad para autorrenovarse, por supuesto sin perder su capacidad para diferenciar (en la analogía anterior, de 'ramificar'). Tradicionalmente se considera que las células precursoras indiferenciadas existen transitoriamente durante el desarrollo embrionario, y sólo algún tipo de células troncales persisten en tejidos con capacidad regenerativa, como la piel y el sistema hematopoyético (esto es, de donde derivan las células circulantes en la sangre). Una célula troncal dentro de un tejido específico se considera que sólo puede derivar a células que constituyen ese tejido.

Enormes cambios en nuestro concepto de la célula troncal han ocurrido en los años recientes. En primer lugar, hace poco más de 15 años se lograron derivar de embriones tempranos de ratón (esto es, blastocistos) líneas celulares que se pueden mantener indiferenciadas en cultivo sin perder su capacidad para diferenciar a todos los tipos celulares que constituyen al organismo cuando éstas se reincorporan al embrión en desarrollo.⁵

5 Donovan, Peter J. y Gearhart, John, "The End of the Beginning for Pluripotent Stem Cells", *Nature*, 414, 2001, pp. 92-97.

In vitro también pueden diferenciar a una variedad importante de tipos celulares, pero las condiciones de cultivo para inducir diferenciación específica hacia la mayoría de los tipos celulares están aún por definirse.⁶ A este tipo de células que crecen fácilmente en un plato de cultivo y que mantienen un potencial diferenciativo muy amplio se les conoce como células troncales embrionarias (o células 'ES', del inglés *embryonic stem*). Por otro lado, hace aproximadamente 10 años se encontró que células troncales neurales (esto es, aquellas capaces de diferenciar hacia los principales tipos celulares que constituyen el sistema nervioso: neuronas, astrocitos y oligodendrocitos) están presentes en el cerebro adulto del ratón.⁷ Es decir, el tejido del que siempre pensamos que no era posible su regeneración, ahora tenemos indicios de que la regeneración es factible. Finalmente, la sorpresa más reciente que hemos recibido de las células troncales 'específicas' de un tejido, es que su especificidad no parece ser tal. Células troncales neurales pueden diferenciar hacia tipos celulares que no pertenecen al sistema nervioso, como células musculares y hematopoyéticas.⁸ También células troncales de la médula ósea (estromales y/o hematopoyéticas) pueden originar neuronas y células musculares.⁹ Más ejemplos de este tipo están invadiendo la literatura, lo que mantiene a los científicos atentos para establecer hasta qué punto una célula troncal de

6 *Idem.*

7 Gage, F., "Mammalian Neural Stem Cells", *Science*, 287, 2000, pp. 1433-1438.

8 Clarke, D. L. *et al.*, "Generalized Potential of Adult Neural Stem Cells", *Science*, 288, 2000, pp. 1660-1663.

9 Mezey, E., "Turning Blood into Brain: Cells Bearing Neuronal Antigens Generated *In Vivo* from Bone Marrow", *Science*, 290, 2000, pp. 1779-1782; Weissman, I. L. *et al.*, "Stem and Progenitor Cells: Origins, Phenotypes, Lineage Commitments, and Transdifferentiations", *Annu Rev Cell Dev Biol*, 17, 2001, pp. 387-403.

un tejido es capaz de diferenciar a un tipo celular de otro tejido (esto es, transdiferenciar). Entre las preguntas relevantes a responder están: ¿las células troncales del adulto son las mismas que durante el desarrollo embrionario dieron lugar a las células de los tejidos adultos? ¿Las células troncales crecidas *in vitro* representan a la población de células troncales presentes *in vivo*? ¿Es posible que una célula diferenciada 'des-diferencie' hacia sus precursores y genere células troncales? ¿Qué tan amplia es la diversidad de células troncales presentes en el embrión y en el adulto?

Actualmente tenemos dos situaciones que nos ofrecen los recientes avances en la investigación sobre la biología de las células troncales. En primer lugar, es un hecho que podemos cultivar células troncales con la capacidad de diferenciar hacia todos los tipos celulares de un organismo. Además, ya tenemos la tecnología que nos permite modificar genéticamente a estas células en forma muy específica, de tal forma que se pueden corregir errores en su genoma, como los que se pudieran asociar con alguna enfermedad. Por el momento es urgente encontrar las condiciones para promover la diferenciación específica de estas células para que su potencial terapéutico sea una realidad. En segundo lugar, ahora reconocemos que el organismo adulto posee (o por lo menos permite derivar) células troncales a partir de varios tejidos, incluyendo el sistema nervioso. Estas células parecen, a similitud con el genoma en la clonación, tener una 'plasticidad' más amplia a la anticipada, es decir, no sólo pueden diferenciar hacia los distintos tipos celulares de un tejido, sino también a otros que constituyen tejidos que durante su desarrollo no están cercanamente emparentados entre sí.

III. LA CLONACIÓN HUMANA

¿Cuáles son las posibilidades de clonar a un ser humano? Puesto que el desarrollo de todos los mamíferos es muy similar, la tecnología utilizada para clonar animales debiera ser fácilmente aplicable a humanos. Esto es lo que se pretendió mostrar con el trabajo recientemente publicado (en internet) por la compañía 'Advanced Cell Technology',¹⁰ pero es necesario enfatizar que los resultados son muy preliminares y no necesariamente se pueden tomar como positivos. El reporte muestra que efectivamente se pudieron generar embriones humanos clonados siguiendo el procedimiento de transferencia de núcleos, pero todos ellos se desarrollaron sólo hasta una etapa muy temprana (¡en el mejor de los casos sólo hasta seis células!) donde no hay ningún indicio de diferenciación. Así, es importante destacar que la clonación es un proceso muy deficiente, requiriendo, para obtener una clona adulta viable, un enorme número de embriones donadores (mayor de 100), e igualmente un número importante de hembras receptoras (donde se desarrollará el embrión clonado).¹¹ Por supuesto lo anterior sólo se aplica a animales, pues en el caso de seres humanos aún desconocemos cuáles serán los requerimientos. La deficiencia está asociada a la viabilidad en las primeras etapas después de la transferencia del núcleo de la célula diferenciada, pero el proceso también se detiene en etapas posteriores. ¿Esto representa un problema técnico mejorable o es un problema intrínseco de la dificultad para reprogramar el núcleo de una célula diferenciada? Por el momento no lo sabe-

10 Cibelli, J. B. *et al.*, "Somatic Cell Nuclear Transfer in Humans: Pronuclear and Early Embryonic Development", e-biomed: *The Journal of Regenerative Medicine*, 2, 2001, pp. 25-31.

11 Solter, D., "Mammalian Cloning: Advances and Limitations", *Nature Reviews Genetics*, 1, 2000, pp. 199-207.

mos, pero hay evidencias recientes que indican que la reprogramación del núcleo de una célula diferenciada es impreciso, y por tanto un proceso de clonación lleva implícito un riesgo biológico. A lo anterior hay que añadir que aún es temprano para saber si los organismos clonados son totalmente normales o llevan 'errores' imperceptibles que pudieran predisponer a enfermedades o simplemente acelerar el envejecimiento.¹²

En este panorama nos deberíamos preguntar si para una persona es razonable usar la clonación como un medio de reproducción. La eficiencia es tan baja y los riesgos tan altos que tendrán que pasar muchos años antes de que se pueda recomendar la clonación como un medio para tratar la infertilidad. Actualmente, la fertilización *in vitro* es un proceso frecuentemente recurrido para tratar ciertos tipos de infertilidad. Y si bien ha mostrado ser un procedimiento seguro, tiene una eficiencia variable, por lo que siempre se acompaña de la generación de embriones en exceso, muchos de los cuales se conservan en congelación.

A la par con los problemas técnico-científicos están los criterios éticos, que deben considerarse para que una sociedad acepte la clonación de un ser humano.¹³ En este sentido hay varias cuestiones a considerar, una de las cuales es definir si es correcto generar un individuo que genéticamente es idéntico a otro y que no necesariamente son contemporáneos. En el tiempo presente se puede decir que la posición consensuada de la sociedad mundial es de que no es justificable la clonación con el sólo fin de reproducir una copia genética de otro individuo. Si bien esta conclusión presupone que algún día tendremos la

12 Perry, A. C. y Wakayama, T., "Untimely ends and New Beginnings in Mouse Cloning", *Nat Genet*, 30, 2002, pp. 243 y 244.

13 McLaren, Anne, "Ethical and Social Considerations of Stem Cell Research", *Nature*, 414, 2001, pp. 129-131.

tecnología para clonar seres humanos, podemos anticipar que si bien la clonación generaría individuos parecidos, nunca se lograrían individuos idénticos, puesto que sabemos que el desarrollo embrionario así como las características físicas, fisiológicas y conductuales de un organismo no están definidas exclusivamente por los genes presentes en su genoma, sino también por influencias del entorno que rodea a las moléculas, a las células y al organismo en sí. Esta influencia no genética (esto es, epigenética) es palpable en los gemelos, donde si bien son parecidos físicamente, su personalidad es única y la similitud en este sentido es variable. Con esto no significa que los genes no participen en definir la personalidad de un individuo, sino que más bien deberían considerarse como factores que generan susceptibilidad para adquirir (o no adquirir) una característica.

IV. LAS CÉLULAS TRONCALES HUMANAS Y LA CLONACIÓN TERAPÉUTICA

Recientemente se han logrado derivar células troncales embrionarias del humano con características muy similares a las derivadas del ratón.¹⁴ En el humano adulto también se han encontrado células troncales neurales, lo que ha abierto nuevas expectativas para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.¹⁵ Así entonces, la terapia reconstitutiva, es decir aquella que tiene como finalidad recuperar el tejido perdido (esto es, las células neuronales en enfermedades neurodegenerativas o células pancreáticas

14 Thomson, J. A. *et al.*, "Embryonic Stem Cell Lines Derived From Human Blastocysts", *Science*, 282, 1998, pp. 1145-1147.

15 Galli, R. *et al.*, "Regulation of Neuronal Differentiation in Human CNS Stem Cell Progeny by Leukemia Inhibitory Factor", *Dev Neurosci*, 22, 2000, pp. 86-95; Gage, F., "Mammalian Neural Stem Cells", *op. cit.*, nota 7.

productoras de insulina en algunos tipos de diabetes), tiene una perspectiva muy prometedora.¹⁶

Cuando pensamos en terapia reconstitutiva, tenemos que pensar de dónde obtener las células para recuperar el tejido degenerado. Actualmente, cualquier terapia que involucre un trasplante se enfrenta al problema de encontrar al donador adecuado, lo que debido a la demanda se vuelve cada vez más difícil. Si pensamos en terapias que involucren células troncales el problema es similar, si bien la ventaja pudiera ser que un mismo individuo fuese donador varias veces, puesto que sus células troncales tendrían la capacidad de autorrenovarse. Se ha considerado que una solución al problema del donador es pensar en la 'autodonación', donde el paciente donaría sus propias células, en cuyo caso a éstas se les ha corregido el problema genético que causó su muerte o se usaron para formar un tejido rejuvenecido. En este sentido se vislumbran dos estrategias:

- a) Recuperar y expandir las células troncales asociadas al tejido que se quiere reconstituir. Como se mencionó anteriormente, es posible que células troncales de un tejido sirvan para reconstituir otros tejidos de diferente origen embrionario; por ejemplo, pudiera ser que las células de la médula ósea pudieran servir para reconstituir tejido nervioso o el tejido muscular. La principal limitación a este procedimiento es que aún no contamos con protocolos eficientes para la recuperación y expansión de es-

16 Donovan, Peter J. y Gearhart, John, "The End of the Beginning for Pluripotent Stem Cells", *op. cit.*, nota 5; Bjorklund, A. y Lindvall, O., "Cell Replacement Therapies for Central Nervous System Disorders", *Nat Neurosci*, 3, 2000, pp. 537-544; Colman, A. y Kind, A., "Therapeutic Cloning: Concepts and Practicalities", *Tibtech*, 18, 2000, pp. 192-196.

tas células troncales, y en algunos casos también para la diferenciación específica.

- b) La clonación terapéutica involucra dos fases, la primera de clonación y la segunda de derivación de células troncales embrionarias, que, como mencionamos anteriormente, son capaces de diferenciar hacia todos los tipos celulares.¹⁷ Entonces, inicialmente se tomaría el núcleo de una célula del paciente (en principio cualquier célula diploide con un arreglo cromosómico normal), el cual se trasplantaría a un óvulo proveniente de cualquier mujer donadora al que previamente se le removió su material genético; luego, después de activar el desarrollo de este 'huevo clonado', se dejaría desarrollar hasta formar un embrión en etapa de blastocisto, y, finalmente, a partir de ese embrión se derivarían células troncales embrionarias, las cuales servirían de fuente del tipo celular requerido para tratar al paciente.

Una de las limitaciones actuales a la clonación terapéutica es que aún es necesario desarrollar un procedimiento de clonación de embriones humanos. El reporte reciente respecto al supuesto éxito de clonación de un embrión humano representa sólo el principio de estos esfuerzos, pues en este trabajo se estuvo muy lejos de lograr formar un embrión en etapa de blastocisto, requisito actual para derivar células troncales embrionarias. Por otro lado, si bien se han derivado ya varias líneas de células troncales embrionarias humanas, aún no tenemos los protocolos para diferenciarlas específica y eficientemente, lo que es esencial para su uso en terapias reconstitutivas.

¹⁷ Colman, A. y Kind, A., "Therapeutic Cloning: Concepts and Practicalities", *op. cit.*, nota anterior.

V. ALGUNOS CRITERIOS A CONSIDERAR SOBRE EL USO DE EMBRIONES HUMANOS EN EXPERIMENTACIÓN Y TERAPÉUTICA

La principal causa de discordia en cuanto a la utilización de embriones humanos para experimentación o terapia es que no existe una definición universal de cuándo se inicia la vida humana. Hay culturas que consideran que el individuo empieza existir desde la fertilización, mientras que hay otras que consideran el principio de la vida humana a partir de la implantación del embrión a la pared del útero materno. Luego, hay otras visiones menos precisas en las que se considera que la vida humana se inicia cuando se adquiere la conciencia, sobre la que se especula que no puede existir hasta que el sistema nervioso sea funcional. Así entonces, para tomar una postura sustentada es necesario preguntarse: ¿cuándo, durante el proceso de desarrollo, un ser humano adquiere su individualidad? El óvulo (esto es, el huevo previo a la fertilización) no puede considerarse un ser humano, puesto que no tiene el complemento genómico del padre y el proceso de desarrollo del organismo no ha sido activado. Hay que pensar que en cada ciclo menstrual de una mujer se 'de-secha', en caso de no ser fertilizado, un óvulo, y nadie considera que un ser humano va de por medio durante este proceso natural. Por otro lado, en las primeras etapas del desarrollo (esto es, la mayor parte del periodo de preimplantación, es decir, previo a que el embrión se vuelva totalmente dependiente de la madre) es difícil hablar de un individuo, puesto que sabemos que durante este periodo es cuando se inducen los gemelos 'idénticos', es decir, el embrión durante este periodo aún no define si generará uno o dos seres humanos. También es importante indicar que durante este periodo no se puede encontrar ninguna célula con características similares a

las células diferenciadas presentes en el organismo con vida independiente, y por tanto no se puede hablar de ningún tipo de conciencia, entendida como el resultado de funciones controladas por las células que componen a cada individuo (por supuesto, las células nerviosas son los mejores candidatos para llevar a cabo esta función).

Si bien hay muchos más factores éticos que se tienen que tomar en cuenta, en su momento habrá que hacer un balance entre los beneficios que podrían alcanzarse de la experimentación y la terapéutica a partir de embriones humanos. Uno de los logros adicionales de la compañía 'Advanced Cell Technology' es el poder iniciar la formación de un embrión a partir de un huevo no fertilizado (esto es, partenogénesis) y alcanzar la etapa de blastocisto (estos embriones no pueden llegar a término). En el ratón ha sido posible derivar células troncales embrionarias a partir de este tipo de embriones y, recientemente, esto mismo se logró con monos.¹⁸

VI. CONCLUSIÓN

No se puede poner en duda el enorme impacto científico que se ha derivado del proceso de clonación de mamíferos y de la derivación de células troncales a partir de diferentes tejidos, particularmente las derivadas del blastocisto. Ahora sabemos que la plasticidad del genoma de una célula diferenciada es mucho más amplia de lo anticipado, lo que está contribuyendo a determinar los mecanismos que controlan la actividad del genoma y su relación con el citoplasma celular. Las células troncales embrionarias son ya una herramienta invaluable para estudiar los procesos de diferenciación celular; el estudio de

¹⁸ Cibelli, J. B. *et al.*, "Parthenogenetic Stem Cells in Nonhuman Primates", *Science*, 295, 2002, p. 819.

la capacidad diferenciativa de células troncales provenientes de tejidos específicos contribuirá a determinar los factores que definen el destino de una célula durante el desarrollo. No obstante, estos avances científicos generan preocupación, pues definitivamente abren nuevas posibilidades para el tratamiento de ciertos padecimientos, pero su aplicación puede traspasar ciertos límites éticos que deben considerarse para que los beneficios para la humanidad sean fructíferos.