

¿Un paso adelante hacia la clonación humana con fines terapéuticos?: una adenda

Juan-Ramón Lacadena

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid.
e-mail: jrlgbucm@bio.ucm.es

An. Real Acad. Farm. Vol. 80, Nº 4 (2014), pag. 644-648

RESUMEN

En el presente trabajo se analiza el estado actual de las investigaciones para la obtención de embriones humanos clónicos por transferencia nuclear de células somáticas y de las células troncales embrionarias (células NT-ES) y su posible utilización con fines terapéuticos y su comparación con las células troncales pluripotentes inducidas (células iPS). Se hace referencia también a la reprogramación directa como método alternativo. El texto se presenta como una adenda a una revisión anterior del propio autor.

Palabras clave: Clonación en humanos; transferencia nuclear; embrión humano clónico; embrión somático; células troncales embrionarias clónicas; reprogramación directa.

ABSTRACT

A step forward towards human cloning for therapeutic purposes?: an addendum

Present investigations carried out to produce human embryos by somatic cell nuclear transfer (SCNT embryos) and nuclear transfer human embryo stem cells (NT-ESC) and their use in regenerative medicine are analyzed and compared with the induced pluripotent cells (iPS). A reference to the direct reprogramming technique is made. The text is presented as an addendum to an author's previous review.

Keywords: Human cloning; somatic cell nuclear transfer; clone human embryo; SCNT embryo, somatic embryo; human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer; NT-ESC; direct reprogramming.

1. ADENDA: UNA JUSTIFICACIÓN

Hace poco más de un año publiqué en esta misma revista (1) una amplia revisión sobre la posible utilización de la clonación humana con fines terapéuticos. Unos meses después, a lo largo de este año 2014, se han publicado varios artículos científicos que, en mi opinión, sería conveniente incluir su comentario como una adenda al artículo original. El contenido de este texto debería leerse o añadirse a continuación del anterior como una estricta adenda.

2. LOS NUEVOS DATOS CIENTÍFICOS

Cuando se hizo pública la investigación realizada por el grupo de investigación del Dr. Mitalipov sobre la clonación humana con fines terapéuticos que fue comentada por el autor en esta misma revista en 2013 (1), hubo algunas voces críticas que veían sospechoso que la revista *Cell* hubiera publicado el trabajo en un tiempo récord (2) alentado por posibles intereses extracientíficos, llegando a poner en duda, incluso, la validez de la investigación. Sin embargo, un año más tarde, en 2014, se publicaron dos trabajos realizados por distintos grupos de investigación utilizando como donantes individuos adultos, lo que viene a confirmar la posible aplicación práctica de la clonación humana por transferencia nuclear con fines terapéuticos.

Así, Chung y colaboradores (3), siguiendo la técnica de Mitalipov con alguna modificación, obtuvieron células troncales embrionarias vía transferencia nuclear de células somáticas (NT-ESCs) a partir de fibroblastos de piel de dos varones adultos de 35 y 75 años.

Por su parte, Egli y colaboradores (4) obtuvieron células NT-ES a partir de células somáticas de una mujer adulta de 32 años que padecía una diabetes tipo 1 desde hacía 10 años. Con la técnica utilizada mejoraron el protocolo de activación del ovocito utilizando el tratamiento con quinasas e inhibidores de la traducción y de histona desacetilasa que promueven el desarrollo del estadio de blastocisto. La eficiencia del desarrollo variaba entre las diferentes donadoras de ovocitos, siendo inversamente proporcional al número de días de tratamiento hormonal necesarios para la maduración del ovocito. Puesto que el uso para la fusión celular de virus Sendai concentrado produce la activación prematura del ovocito al aumentar la concentración intracelular de calcio, utilizaron una concentración diluida de virus Sendai en un medio libre de calcio. Desde el punto de vista clínico, es importante señalar que de las células NT-ES derivaron, además de neuronas y células duodenales, células pancreáticas productoras de insulina.

Los dos trabajos mencionados han vuelto a poner sobre el tapete la controversia bioética entre la utilización de la técnica de Yamanaka para obtener las células troncales pluripotentes inducidas (células iPS) frente a la obtención de

células troncales a partir de embriones obtenidos por fecundación *in vitro* o por transferencia nuclear (células IVF-ES y células NT-ES).

Dada la potencialidad que las células troncales representan para la Medicina Regenerativa del futuro, el grupo del Dr. Mitalipov (5) ha planteado la comparación de las limitaciones que plantean entre sí las células troncales embrionarias obtenidas a partir de un proceso de fecundación *in vitro* (células IVF-ES) -que representan el “patrón oro”, aunque tienen el inconveniente de su alogenicidad en relación al paciente y el posible rechazo inmunológico- frente a las posibles aberraciones epigenéticas y transcripcionales de las células pluripotentes embrionarias obtenidas por transferencia somática nuclear (células SCNT) o por pluripotencia inducida sin pasar por la fase embrionaria (células iPS). Para determinar si tales aberraciones son consecuencia intrínseca del proceso de reprogramación de las células somáticas o más bien debidas al método de reprogramación, realizaron el análisis genómico de los tres tipos de células.

Los resultados obtenidos al comparar genéticamente las células IVF-ES con las células iPS y las células NT-ES derivadas de las mismas células somáticas llevaron a la conclusión de que tanto las células NT-ES como las iPS contenían una cantidad comparable de variaciones en el número de copias *de novo*. Sin embargo, los perfiles de metilación del ADN y del transcriptoma de las células NT-ES se correspondían estrechamente con los de las células IVF-ES, mientras que las células iPS diferían y mantenían patrones residuales de metilación del ADN típicos de las células somáticas de las que procedían. La conclusión a la que llegaban, por tanto, es que en las células somáticas humanas pueden ser reprogramadas a la pluripotencia con mayor fiabilidad mediante la utilización de las células NT-ES y, por tanto, consideran que la clonación con fines terapéuticos es ideal para la terapia celular de la Medicina Regenerativa.

En esta controversia hay que tener en cuenta un cuarto elemento: la *reprogramación directa* que permite obtener un tipo de células diferenciadas directamente a partir de otro tipo de células diferencias sin pasar por la fase embrionaria (células IVF-ES y células NT-ES) ni tan siquiera por la fase de pluripotencia (células iPS): se trata de una verdadera “alquimia celular” (6).

En 2008, el grupo de Douglas A. Melton (7) reprogramó *in vivo* células adultas de ratón (células exocrinas del páncreas) transformándolas directamente en células beta pancreáticas capaces de producir insulina (islotos de Langerhans). Las células obtenidas son indistinguibles de las células beta pancreáticas endógenas, tanto en tamaño como en su forma y estructura. El experimento realizado con ratones *in vivo* mostró que las células beta obtenidas mejoraban sensiblemente la condición de hiperglicemia de los ratones diabéticos. No cabe duda que estos resultados son esperanzadores para tratar de curar en el futuro la enfermedad de la diabetes tipo 1 en humanos.

En enero de 2010, Wernig y colaboradores (8), partiendo de la hipótesis de que la expresión combinatorial de factores de transcripción específicos del linaje neural podría convertir directamente fibroblastos en neuronas, utilizaron un conjunto de 19 genes candidatos de los que solamente tres factores (*Ascl3*, *Brn2* también denominado *Pou3f2* y *Myt1l*) eran suficientes para convertir con rapidez y eficacia fibroblastos embrionarios y postnatales de ratón directamente en neuronas funcionales *in vitro*. Las células neuronales inducidas (iN) expresan múltiples proteínas específicas de neurona, generan potenciales de acción y forman sinapsis funcionales. Los autores señalaban que la generación de células iN a partir de linajes no neurales podría tener importantes implicaciones tanto en el estudio del desarrollo neural como en el diseño de modelos de enfermedades neurológicas y la Medicina Regenerativa.

En noviembre de 2010, Bhatia y colaboradores (9) lograron la conversión directa de fibroblastos humanos en células progenitoras hematopoyéticas que daban lugar a linajes granulocíticos, monocíticos, megacariocíticos y eritroides, abriendo una posible puerta a la futura aplicación clínica en la terapia celular autóloga sin pasar por la fase pluripotente de las células iPS.

En octubre de 2014, Yoo y colaboradores (10) obtenían neuronas espinosas medianas a partir de fibroblastos humanos de individuos postnatales y adultos. En su investigación utilizaron dos tipos de microARN (miR-9 y miR-124) que modifican el empaquetamiento de la cromatina y, por tanto, el silenciamiento de determinados genes con lo que cambian la diferenciación de fibroblastos en neuronas. Posteriormente, utilizando factores de transcripción específicos, obtuvieron el subtipo de neuronas espinosas medianas deseado. Estas células son las principales neuronas afectadas en la enfermedad de Huntington, de donde se deduce la posible importancia clínica de esta investigación. Pasos adicionales inmediatos en la investigación serán, por un lado, obtener por reprogramación directa neuronas espinosas medianas procedentes de fibroblastos de personas con la enfermedad de Huntington para estudiar las propiedades celulares asociadas con la enfermedad y, por otro lado, inyectar las neuronas obtenidas por reprogramación de fibroblastos de personas sanas en ratones modelo de la enfermedad de Huntington para comprobar si ello permite combatir la enfermedad.

Es evidente que se ha abierto un nuevo y esperanzador campo para la Medicina Regenerativa del futuro. Además, como en el caso de la utilización de las células troncales adultas (AS) y las células troncales pluripotentes inducidas (iPS), se obvian los problemas éticos que plantea la utilización de las células troncales pluripotentes embrionarias (células IVF-ES o NT-ES).

3. REFERENCIAS

1. Lacadena, J.R. ¿Un paso adelante hacia la clonación humana con fines terapéuticos? *An. Real Acad. Farm.* **79**, 241-252 (2013).
2. Tachibana, M.; Amato, P.; Sparman, M.; Marti Gutierrez, M.; Tippner-Hedges, R.; Ma, H.; Kang, E.; Fulati, A.; Lee, H-S.; Sritanandomchai, H.; Masterson K.; Larson, J.; Eaton, D.; Sadler-Fredd, K.; Battaglia, D.; Lee, D.; Wu, D.; Jansen, J.; Patton, P.; Gokhale, S.; Stouffer, R.L.; Woll, D.; Mitalipov, S. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell*, **153**, 1-11 (2013).
3. Chung, Y.G.; Eum, J.H.; Lee, J.E.; Shim, S.H.; Sepillan, V.; Hong, S.W.; Lee, Y.; Treff, N.R.; Choi, Y.H.; Kimbrel, E.A.; Dittman, R.E.; Lanza, R.; Lee, D.R. Human somatic cell nuclear transfer using adult cells. *Cell Stem Cell* **14**, 1-4 (2014).
4. Yamada, M.; Johannesson, B.; Sagi, I.; Burnett, L.C.; Kort, D.H.; Prosser, R.W.; Pauli, D.; Nestor, M.W.; Freeby, M.; Greenberg, E.; Goland, R.S.; Leibel, R.L.; Solomon, S.L.; Benvenisty, N.; Sauer, M.V.; Egli, D. Human oocytes reprogramm adult somatic nuclei of a type 1 diabetic to diploid pluripotent stem cells. *Nature*, (published online 29 abril 2014 doi:10.1038/nature 13287).
5. Ma, H.; Morey, R.; O'Neil, R.C.; He, Y.; Daughtry, B.; Schultz, M.D.; Hariharan, M.; Nery, J.R.; Castanon, R.; Sabatini, K.; Thiagarajan, R.T.; Tachibana, M.; Kang, E.; Tippner-Hedges, R.; Ahmed, R.; Marti Gutierrez, N.; Van Dyken, C.; Polat, A.; Sugawara, A.; Sparman, M.; Gokhale, S.; Amato, P.; Wolf, D.P.; Ecker, J.R.; Laurent, C. et al. Abnormalities in human pluripotent cells due to reprogramming mechanisms. *Nature*, **511**, 177-183 (2014).
6. Lo que sigue está basado en: Lacadena, J.R.; *Genética y Sociedad. Discurso leído en la Solemne Sesión Inaugural del Curso celebrada el 13 de enero de 2011*; Real Academia Nacional de Farmacia; Madrid, 2011; p. 139-140.
7. Zhou, Q.; Brown, J.; Kanarek, A.; Rajagopal, J.; Melton, D.A. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells. *Nature* **455**, 627-632 (2008).
8. Vierbuchen, T.; Ostermeier, A.; Pang, Z.P.; Kokubu, Y.; Sudohf, T.C.; Wernig, M. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature online* (27 January 2010) doi: 10.1038/nature 08797.
9. Szabo, E.; Rampalli, S.; Risueño, R.M.; Schnerch, A.; Mitchell, R.; Fiebig-Comyn, A.; Levadoux-Martin, M.; Bhatia, M. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. *Nature on line* (7 November 2010) doi:10.1038/nature 09591.
10. Victor, M.B.; Richner, M.; Hermanstynne, T.O.; Ransdell, J.L.; Sobieski, C.; Deng, P-Y.; Klyachko, V.A.; Nerbonne, J.M.; Yoo, A.S. Generation of human striatal neurons by microRNA-dependent direct conversion of fibroblasts. *Neuron*, **84**, 311-323 (2014).