

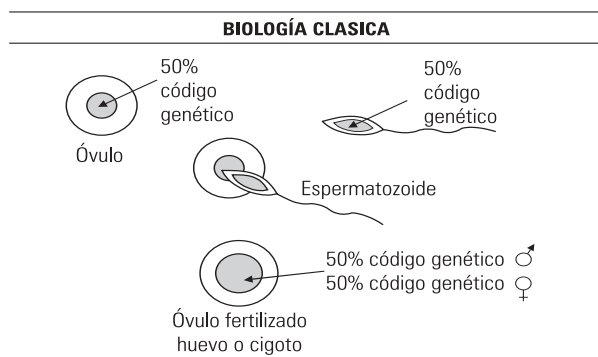
Simposio

Clonación: Procedimiento y posibles utilidades

AN Dr. Javier Arias Stella ^{(1) (2)}

La biología clásica nos enseña, que, en el hombre como en otras especies, el nuevo ser resulta de la reproducción sexual en la que se unen el óvulo con el espermatozoide, aportando cada uno un genoma haploide, o sea 50% del contenido de ADN (mitad paterna y mitad materna) (1) (figura 1).

Figura 1



Pero hay que tener presente, que, en la reproducción sexual se combinan no sólo dos genomas haploides, sino también los 37 genes mitocondriales (2) existentes en el citoplasma y los segmentos (figura 2) de ARN-epigenéticos, con capacidad de regular información hereditable, al margen de las secuencias de ADN que reconocemos como el genoma (3-6) (figura 3).

Figura 2

1. En la especie humana la parte codificadora del ADN representa el 2 %
2. El resto del ADN (98%) se ha considerado como sin función, inservible o "junk" (chatarra).
3. Sin embargo, estudios recientes (2001 - 2003, R. Eddy G. Storz-R. Yolin-J.S. Mattrick) han demostrado, en esos segmentos "junk", formas activas de ARN capaces de regular información hereditable - epigenética - que reside en los cromosomas pero al margen de las secuencias de ADN que reconocemos como el Genoma.

Scientific American, nov. 2003

¹ Profesor Emérito de la Universidad Peruana «Cayetano Heredia».

² Instituto de Patología y Biología Molecular «Arias Stella».

Figura 3



Estos pericotes de una misma camada comparten un genoma idéntico (clones). No obstante, el color del pelaje varía de amarillo dorado a marrón por variaciones en sus segmentos "epigenéticos" (ADN no genómico). El color del pelaje de estos pericotes no puede predecirse con la teoría genética que hoy manejamos.

Scientific American, nov. 2003.

Por el contrario la **clonación** es la replicación de individuos a partir de un solo genoma, o sea, la **antítesis** de la **reproducción sexual**.

De manera natural, en la especie humana (figura 4), la clonación ocurre cuando el óvulo fertilizado o cigoto por el azar o factores no precisados se divide, separadamente, en dos o más unidades (figura 5), de las que resultan dos o más embriones con un idéntico código genético y son, por lo tanto, clones.

Figura 4

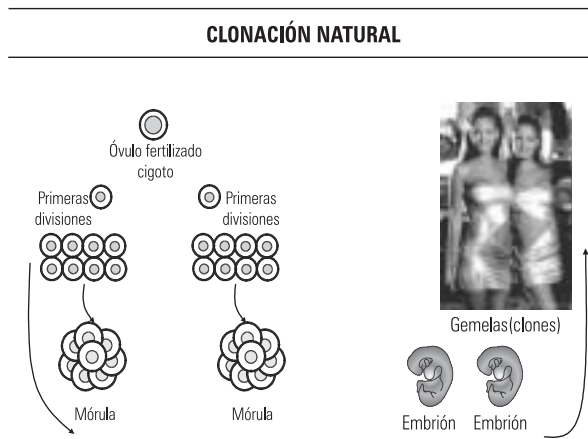
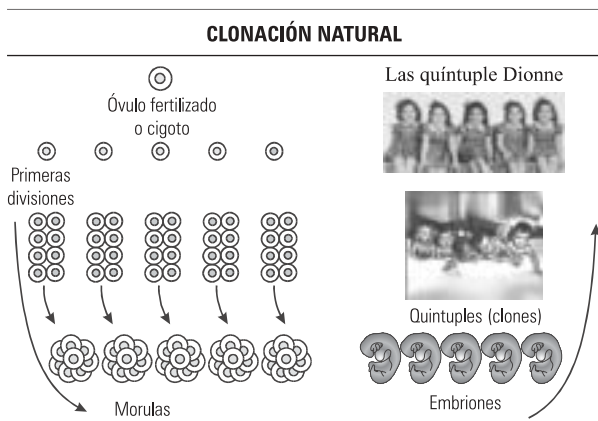


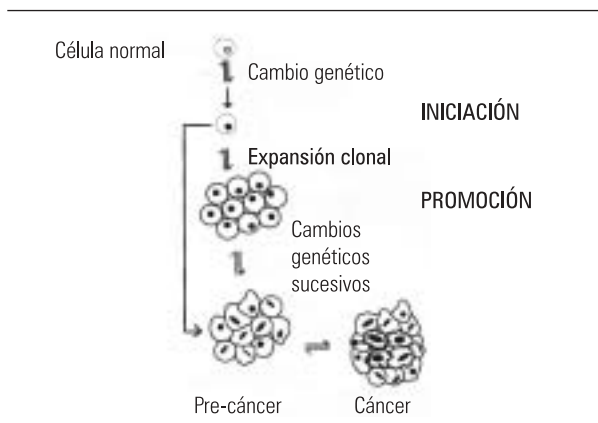
Figura 5



De manera natural, ocurre también, normalmente, a nivel celular, en todos los organismos multicelulares donde el crecimiento de cada tejido o el reemplazo de las células muertas, en los distintos órganos, se hace por un proceso de replicación directa, que es una forma de clonación. De un óvulo fecundado o cigoto, el ser humano llega a tener, por este mecanismo, 1×10^{23} , osea 100 mil trillones de células en el estado adulto.

De otro lado, en el área de la patología el prototipo de clonación lo representan los tumores que constituyen, por cambios mutacionales, proliferaciones incontroladas monoclonales (7) (figura 6).

Figura 6



En el campo experimental (figuras 7 y 8) la clonación tiene una larga historia, remontándose a los intentos, en animales menores, realizados por Briggs, King, Gurdon y otros autores (8-11). Se mostró la plasticidad de las células en diversas etapas de maduración, la capacidad de reacomodar su código genético a estadios previos inmaduros y se logró fertilizar un óvulo con células embrionales o fetales.

Figura 7

CLONACIÓN ARTIFICIAL O EXPERIMENTAL

R. Brigs y T.J. King, 1951	Rana pipiens	<ul style="list-style-type: none"> Núcleos de blástula(8-16,000 células) colocados en óvulos enucleados. Renacuajos completos. De 197 pruebas 27 éxitos. Núcleos de gástrula: no posible. Conclusión: conforme avanza la diferenciación las células son menos capaces de retrotraer su genoma a etapas embrionarias.
J.B Gourdon, 1962	-Batracios- ("Xenopus laevis")	<ul style="list-style-type: none"> Núcleo de célula epitelial intestinal de un renacuajo en óvulo con núcleo inactivado por irradiación. Éxito en sólo 1 % de los experimentos.

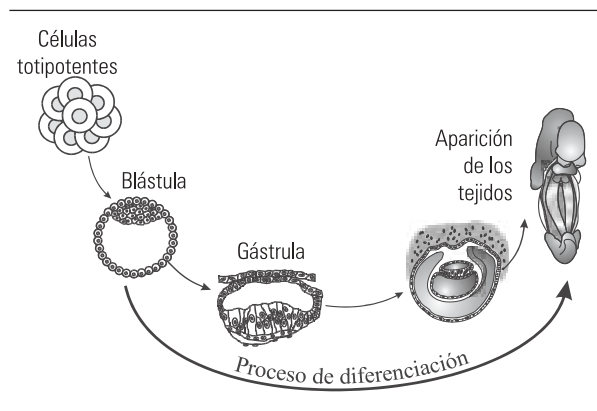
Figura 8

CLONACIÓN ARTIFICIAL O EXPERIMENTAL

K. Ilmensee y P.C. Hoppe, 1981	Ratón	<ul style="list-style-type: none"> Núcleo de célula embrionaria (mórula) en oocito vacío.
K. Ilmensee y P.C. Hoppe	Ratón	<ul style="list-style-type: none"> Núcleo de célula somática en óvulo vacío.
H. Merchant y Larios, 1997	Varios mamíferos menores.	<ul style="list-style-type: none"> Núcleo embrionario en óvulos vacíos.

Sin embargo, era dogma que, en mamíferos mayores, llegada la etapa de gástrula el código genético no podía retrotraerse a etapas primitivas (12) (13) (figura 9).

Figura 9



En 1997 el experimento de la oveja Dolly (figura 10) demostró que la eficacia de la tecnología de fertilización

por transferencia nuclear de células adultas, ya comprobada en animales menores, era también factible en mamíferos superiores y echó por tierra el concepto biológico que para crear un mamífero superior era indispensable la unión del óvulo y del espermatozoide (14).

Figura 10



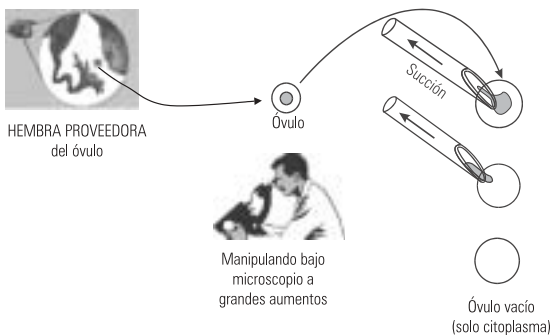
Dr. Ian Wilmut del Instituto Roslin de Escocia, y la oveja Dolly primer mamífero clonado.

La técnica de transferencia nuclear de células adultas consiste en lo siguiente (figura 11): Por estimulación hormonal puede obtenerse óvulos en diversas especies o en la mujer, suficientes para proceder a la experimentación.

Originalmente en la mujer los óvulos producidos se recogían por laparoscopia hoy se recuperan por vía vaginal con auxilio de la ultrasonografía.

Figura 11

CLONACIÓN POR TRANSFERENCIA NUCLEAR A PARTIR DE CÉLULAS ADULTAS



³ Wilmut y col. encontraron que reduciendo los nutrientes en el medio de cultivo se facilitaba el paso de las células a la fase G₀
⁴ Hoy esta estimulación puede conseguirse también por medios químicos

El óvulo obtenido tiene núcleo y citoplasma. Bajo visión microscópica el óvulo es perforado con una micropipeta, especialmente diseñada, que hace la succión del material nuclear; queda así un óvulo vacío sin material cromosómico.

Por otro lado (figura 12), de un animal o ser humano, que llamaremos sujeto donante se obtiene células adultas para ser cultivadas *in vitro*, de las cuales se escogerá la célula donante (en fase de reposo)³, la cual con ayuda de una micropipeta es puesta (figura 13) en contacto con el óvulo vacío. Tenemos así un óvulo fusionado, "fertilizado", con el material nuclear de la célula donante. La experimentación acumulada demostró a los investigadores del Instituto Roslin que este óvulo requería de una estimulación eléctrica (equivalente al ingreso del espermatozoide) para que esta célula inicie su desarrollo⁴.

Figura 12

CLONACIÓN POR TRANSFERENCIA NUCLEAR A PARTIR DE CÉLULAS ADULTAS

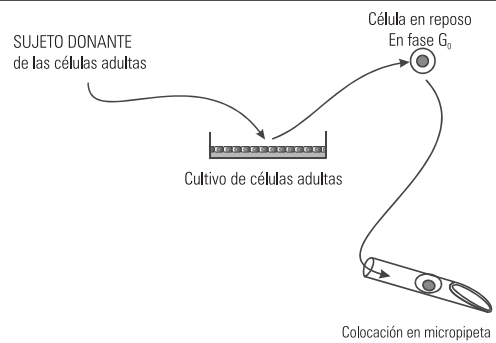
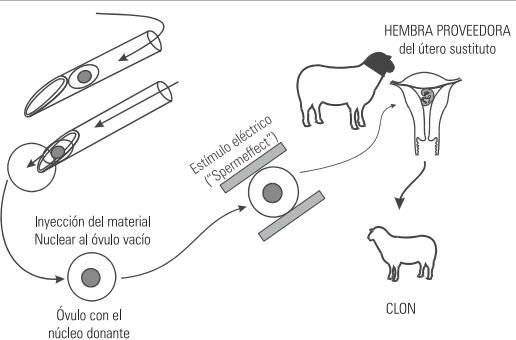


Figura 13

CLONACIÓN POR TRANSFERENCIA NUCLEAR A PARTIR DE CÉLULAS ADULTAS

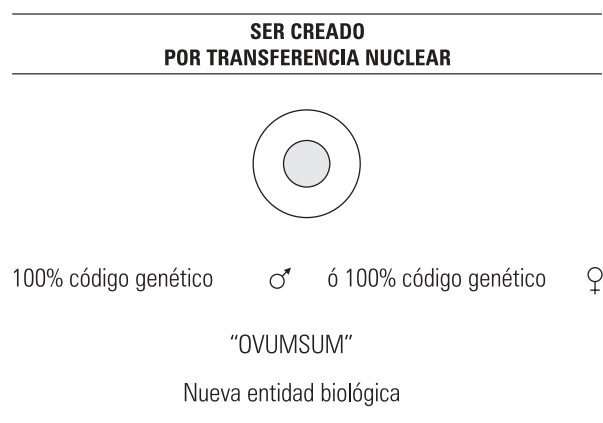


El óvulo así activado se implanta en el útero de otra hembra (madre sustituta). Si el experimento se hizo con una oveja, como el caso de Dolly, se obtiene, después del período

de gestación, a un clon de la oveja donante de la célula utilizada para la transferencia nuclear (1).

A diferencia del cigote, que como ya hemos mencionado e ilustrado posee un contenido genético que es 50% de origen materno y 50% de origen paterno, el producto (figura 14) creado por la técnica de fertilización por transferencia nuclear de células adultas da lugar a un ser con 100% de código genético masculino o 100% de código genético femenino (dependiendo del origen de la célula usada para la transferencia nuclear). Por lo tanto estamos delante de una nueva entidad biológica.

Figura 14



A ella, Advanced Cell Technology, laboratorio líder en este campo, ha denominado **"Ovumsum"** (15-19). Este es el llamado clon que ha despertado tanto interés y discusión en los últimos tiempos.

Por lo que hemos venido diciendo, queda claro que estamos delante de algo distinto de lo hasta ahora concebido, y, que es un producto de la manipulación científica y tecnológica humana.

¿Pero por qué esta nueva entidad biológica, creada ya en varias especies, y tan discutida en cuanto a su materialización en la humana, ha adquirido interés y notoriedad en los últimos años?.

La razón se encuentra al recordar una línea paralela de investigación en las cuatro últimas décadas.

⁵ Cuando Edwards y Steptoe, en 1971, lograron cigotes humanos in vitro que llegaron a la etapa de blastocisto, J.D. Watson (el hombre del ADN), escribió un periódico local, The Atlantic Montly, un artículo titulado «Moving toward the clonel man: is this what we want?» en el que vaticina la avalancha de solicitudes para la aplicación de la fertilización «in vitro» si es que los experimentos de esos autores tenían éxito. Cosa que, en efecto, ocurrió.

Esta historia comienza en 1978, cuando Patrick Steptoe un ginecólogo del Hospital General de Oldham y Robert Edwards, un fisiólogo de la Universidad de Cambridge, después de muchos ensayos, iniciados en 1966, sobre los que dieron sólo ocasional información⁵, anunciaron haber logrado la fertilización *in vitro*, seguida con implantación *in útero* y luego observación continuada de la madre hasta el nacimiento, a través de una cesárea, de Louise Joy Brown (figura 15), el primer bebe probeta (20). Recién entonces conseguían un éxito en sus experimentos. Esta información conmovió al mundo científico y a la par al público en general. Fue un *"fait-à-compli"*, un hecho consumado (21).

Si ellos y su grupo de investigadores hubieran anunciado sus objetivos, sus fallas iniciales y éxitos parciales, es posible que se habría suscitado una polémica y debate - como al que hoy asistimos en relación con el tema de la clonación y el del cultivo de células embrionarias troncales humanas- y retrasado, no sabemos porque tiempo, la aplicación de la fertilización *in vitro*. Hoy, nadie la discute y son centenas de miles las parejas beneficiadas. Cuando Louise Brown cumplió 18 años de edad ya habían nacido más de 300 mil niños gracias a este método de fecundación.

Figura 15



Dres. Steptoe y Edwards con Louise Joy Brown al nacer, Julio 1978.

The birth of Louise Brown, known in the tabloids as the first "test - tube baby," made head lines in 1978.

De no haberse procedido usando la sorpresa del hallazgo positivo obtenido, es probable que los moralistas se hubieran opuesto alegando que el hombre no puede manipular la vida, capacidad que sólo le corresponde al Creador.

El hecho es que, en el presente, en todo el mundo se hace la fertilización en el laboratorio por técnicas cada vez más perfeccionadas, obteniéndose números crecientes de éxitos.

El asunto que interesa a nuestro tema descansa en el hecho que para lograr un embarazo se requieren varios óvulos fertilizados, pues sólo algunos de ellos embrionan. Por ello en las clínicas de fertilidad, para cada caso individual, se hacen múltiples fertilizaciones, de las cuales sólo llegan a utilizarse algunas de ellas. De esto resulta que, finalmente, quedan óvulos fertilizados desechables.

La disponibilidad de óvulos fertilizados estimuló a los investigadores a intentar el cultivo de células embrionarias humanas.

Para tener una idea de la magnitud del material existente, basta señalar que según un informe del año 2002 sólo en una clínica de fertilidad en la India se desechan más de mil embriones al año (22).

La figura 16 muestra un embrión humano de 5 días después de la fertilización. Esta es una observación de todos los días en las clínicas de fertilidad. Se trata de un agregado celular de 57 a 107 células, que corresponde al estado denominado de blástula.

Figura 16



Embrión Humano (Blástula),
5 días después de la fertilización

De Pedersen, R. Scientific American, April, 1999.

El embrión en el estadio de blastocisto (figura 17) es una bolsa hueca cuyo ancho no es mayor que el de una pestaña. Este blastocisto tiene una envoltura o capa de células externas y una zona interna engrosada denominada la masa de células internas. La envoltura o capa externa es la que, producida la implantación, da lugar a la placenta, fundamental para nutrir al embrión y, por lo tanto, para que pueda constituirse el nuevo ser. La "masa celular interna" es la que forma el feto (23-24).

Experimentos realizados en animales menores han demostrado, que, al colocar el blastocisto en un petri o placa de cultivo (figura 18), la envoltura o capa externa colapsa y eventualmente desaparece quedando solo la

"masa de células internas" (figura 19). Esta masa de células al ser implantadas *in útero* ya no puede generar un nuevo ser, porque carece de las células que forman la placenta.

Figura 17

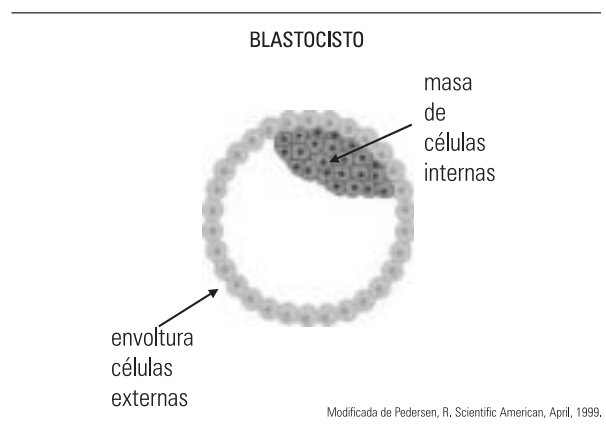


Figura 18

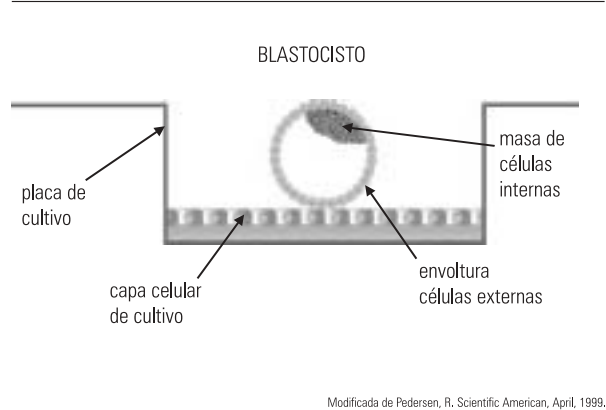
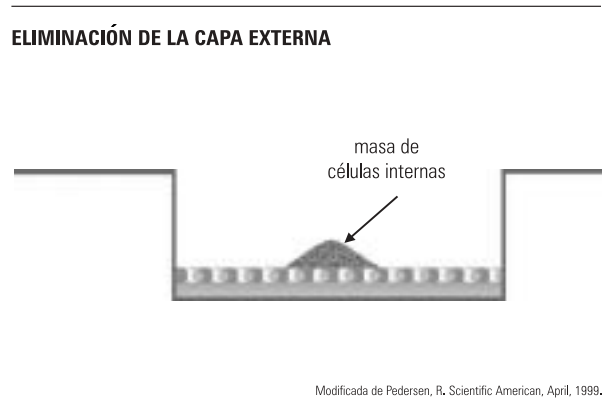


Figura 19



Se ha comprobado que la masa de "células internas" prolifera en las placas de cultivo por largos períodos (figura 20), manteniendo su condición de células embrionarias troncales, precursoras o pluripotentes. Son capaces de reaccionar fisiológicamente y pueden dar lugar a todos los tipos de tejidos existentes en un embrión.

Con algunas variantes de procedimiento estos mismos experimentos se realizaron en primates y en 1998 James A. Thomson y col., de la Universidad de Wisconsin lo logró, igualmente, con las células derivadas del blastocisto humano (25). Desde entonces, se puede cultivar una masa de células derivadas de la blástula humana que tiene todos los atributos de las células embrionarias, excepto la capacidad de formar placenta. Estas son las llamadas células "stem", troncales o estaminales embrionarias humanas.

Tener en el laboratorio por tiempo indefinido, semanas o meses, cultivos de "células embrionarias troncales pluripotentes humanas" constituye un asunto que origina gran expectativa, por la trascendencia que puede tener para el futuro de la medicina.

Figura 20

ADICIÓN DE SUSTANCIA PARA DISGREGAR LA MASA DE CÉLULAS INTERNAS



TRANSFERENCIA DE GRUPOS CELULARES A NUEVO CULTIVO



FORMACIÓN DE NUEVAS COLONIAS DE CÉLULAS EMBRIONARIAS TRONCALES



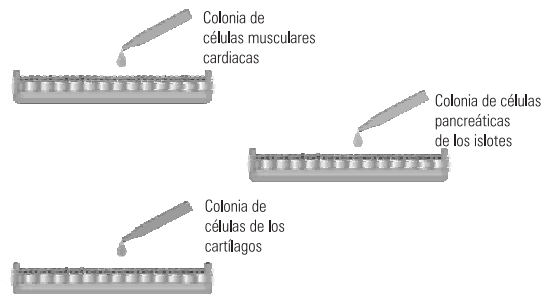
Modificada de Pedersen, R. Scientific American, April, 1999.

Las células embrionarias e indiferenciadas (figura 21), con estímulos específicos apropiados, factores de crecimiento, citoquinas, etc. –que cada vez se descubren y definen con mayor precisión– pueden diferenciarse en tejidos específicos.

En la medida en que se reconozcan mejor los factores que determinan la diferenciación celular específica, se estará en condiciones de producir células y tejidos para usarlas en la terapia médica.

Figura 21

AÑADIR EL FACTOR O FACTORES DE DIFERENCIACIÓN CORRESPONDIENTE

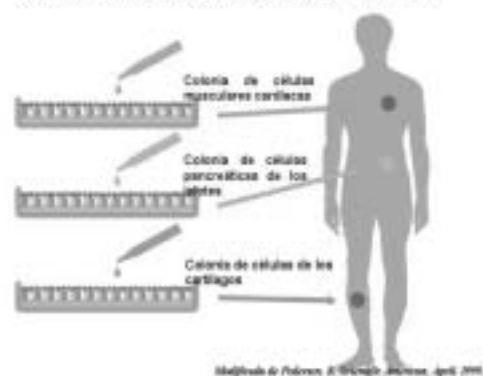


Modificada de Pedersen, R. Scientific American, April, 1999.

La idea (figura 22) es reemplazar las células dañadas en distintos órganos por células normales.

Figura 22

INJECTAR LAS CÉLULAS DIFERENCIADAS A LOS TEJIDOS DAÑADOS



Modificada de Pedersen, R. Scientific American, April, 1999.

Figura 23

BETTING ON STEM CELLS

COMPANY NAME	LOCATION	EMPLOYEES	SPECIALTY
AASTROM BIOSCIENCES	Ann Arbor, MI	33	Hematopoietic stem cells
GERON CORP.	Menlo Park, Ca	100	Embryonic, fetal stem cells
LAYTON BIOSCIENCE	Atherton, CA	25	Fetal neural stem cells
NEURALSTEM	Bethesda, MD	14	Fetal neural stem cells
BIOPHARMACEUTICALS			
NEURONYX INC.	Malvern, PA	10	Neural stem cells
NEXELL	Irvine, Ca	120	Hematopoietic stem cells
THERAPEUTICS INC. OSIRIS			
THERAPEUTICS	Baltimore, MD	75	Mesenchymal stem cells
RENEURON	London	17	Neural stem cells
STEM CELL SCIENCES	Melbourne,		
	Australia	-	Embryonic stem cells
STEMCELLS INC.	Sunnyvale, Ca	16	Adult neural stem cells

Eliot Marshall Science 2000, Vol 287: 1419-1421.

Por eso se habla de *"ingeniería de tejidos y órganos"*, y se han comenzado a patentar procedimientos de formación de células o tejidos para corregir condiciones de diversos órganos.

Un listado publicado por Science (figura 23), en enero del 2000, señala las compañías privadas que se han constituido en Estados Unidos, Reino Unido y Australia para promover la producción y aplicación industrial de células embrionarias troncales humanas (26).

Sin embargo, los cultivos de células troncales embrionarias humanas no escapan al problema básico derivado de la individualidad biológica genética.

Cada línea de células troncales tiene la especificidad genética del embrión de donde provino, de tal manera que estarán siempre expuestas a las reacciones inmunológicas del organismo receptor. En otras palabras, los pacientes tratados con estas células tendrían que, como los pacientes de trasplantes de órganos, someterse a terapéuticas inmunosupresivas.

La única forma de evitar estas reacciones inmunológicas es que las células embrionarias troncales reemplazantes sean derivadas del propio individuo receptor y esto sólo puede obtenerse a través de la clonación terapéutica o clonación de investigación (27-29). Sólo así se garantizaría un trasplante o reemplazo tisular sin la limitación del rechazo inmunológico. Es aquí donde se encuentran las dos vertientes de investigación mencionadas.

Son decenas de miles los pacientes que están a la espera de la factibilidad de estos estudios (figura 24) (30).

Figura 24

PERSONS IN THE UNITED STATES AFFECTED BY DISEASES THAT MAY BE HELPED BY HUMAN PLURIPOTENT STEM CELL RESEARCH.	
Data are from the patients' coalition for urgent research., Washington, DC.	
CONDITION	NUMBER OF PERSONS AFFECTED
CARDIOVASCULAR DISEASES	58,00 million
AUTOIMMUNE DISEASES	30,00 million
DIABETES	16,00 million
OSTEOPOROSIS	10,00 million
CANCER	8,20 million
ALZHEIMER'S DISEASE	4,00 million
PARKINSON'S DISEASE	1,50 million
BURNS (SEVERE)	0,30 million
SPINAL CORD INJURIES	0,25 million
BIRTH DEFECTS	150,000 (per year)
TOTAL	128,40 million

Daniel Perry, Science2000, Vol 287: 1423.

¿Pero hasta donde se ha avanzado en lo que se refiere a la clonación humana?.

Desde el experimento de Dolly (figura 25) se ha hablado de intentos y de anuncios de supuestas clonaciones en

humanos, aunque, por su carácter clandestino, son ajenas a un análisis crítico serio.

Figura 25

MENCIONES DE CLONACIÓN HUMANA		
Dr. R. Seed	USA, 1998	Anuncia programa de clonación humana en Chicago ¹ . Nada ocurre
Dr. Severino Antinori	Inst. Ginec. Obstet. Roma, 2001	Anuncia, en conferencia periodística, realización de clonación humana. No se presentaron pruebas
	2002	Reitera anuncio. No presenta pruebas
Clonaid, Dra. Brigitte Bosseier	2002-2003	Anuncian casos de clonación. No presentan pruebas
Dr. Panos Zavos	Inst. Andrología USA, ene 2004	Anuncia clonación humana. No presenta pruebas

¹Presidente Clinton reacciona convocando Consejo Nacional de Investigación de USA, y prohíbe clonación humana. Actitud seguida por otras naciones.

Concretémosnos a la información científica válida.

En el año 2001, Advanced Cell Technology informó (figura 26) que después de múltiples experimentos había logrado el desarrollo de un embrión humano por clonación, utilizando para la transferencia nuclear, como donante, una célula del cumulus que rodea al óvulo y que este embrión se había desarrollado hasta constituir una masa de 6 células (31).

Desde entonces, Advanced Cell Technology y otros laboratorios han continuado la experimentación sin haber informado el logro de cultivar células embrionarias troncales humanas clonadas, como las que se trabajan en las líneas de células embrionarias troncales derivadas de huevos fertilizados.

Figura 26



Primer embrión humano clonado consistente de por lo menos 6 células. Las células aparecen de color amarillento y el material residual secretorio ovárico se ve azulado.

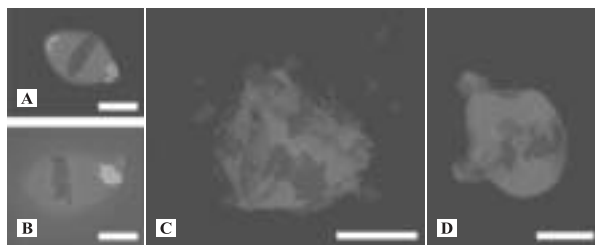
Tomado de Cibelli, J., Lanza R, West M, The First Cloned Embryo, Scientific American, January 2002.

En los últimos meses hemos tenido dos informes sobre investigaciones que nos hablan de la rapidez como se mueve este campo.

En abril del año pasado, en la revista Science, se han reportado experimentos cuyos resultados deben interpretarse como un serio revés a las crecientes expectativas de lograr, con la técnica de transferencia nuclear, la clonación con fines terapéuticos. El Dr. Gerald Schatten y col. de la Universidad de Pittsburgh, experimentando con el mono Rhesus, y usando 716 ovocitos en cuatro grupos experimentales, fertilizados por transferencia nuclear de células adultas, no lograron una sola gestación de 33 embriones implantados *in útero*. Sin embargo, en un buen número de ellos se inició la división celular (*"embrión inicial"*), pero observaron diversas fallas a nivel molecular en las etapas de mitosis que finalmente dieron lugar a embriones aneuploides y con otras anomalías nucleares (32).

Todo indica (figura 27) que, al remover el núcleo del óvulo para obtener el llamado *"óvulo vacío"*—etapa fundamental en la técnica de la transferencia nuclear— se extraen también proteínas (NuMA y HSET), que rodean a los cromosomas, que son esenciales para la normalidad de la mitosis en el óvulo fecundado. Esto parece no ocurrir en los mamíferos menores, pero es una contingencia en los primates. Las proteínas NuMA y HSET, esenciales para la formación de microtúbulos del *"huso"*, están desparramadas en el citoplasma del ovocito de los mamíferos inferiores; en cambio, en los primates están rodeando o muy cerca de los cromosomas, de tal manera que al succionar los cromosomas se extrae también estas proteínas esenciales para la mitosis normal.

Figura 27



La proteína NuMA (Nuclear - Mitotic Apparatus), responsable de la normalidad del *"huso"*, se concentra en los centrosomas en las células no fertilizadas y en las células normalmente fertilizadas en mitosis. A y B: focos verde amarillentos.

No se detecta NuMA después de la transferencia nuclear o en el ovocito enucleado. C y D: ausencia de focos amarillo verdosos.

Schatten G, y col. Science, Vol 300, 11 abril 2003.

Desde que el hombre es un primate estos resultados parecían indicar la imposibilidad de la clonación en

humanos. Se cayó en el escepticismo y nosotros también fuimos presa de esta frustración (33).

No pasaron sino unos pocos meses, y, una vez más la esperanza surgió en el horizonte. En febrero de este año los doctores Hwang y Moon de la Universidad de Seúl en Corea del Sur (figura 28) reportaron la obtención de células embrionarias troncales o estaminales humanas clonadas usando la técnica de transferencia nuclear (34) (35). Utilizaron las células del cumulus y el óvulo vacío de las mismas personas. Un elemento destacado del experimento coreano ha sido que lograron trabajar con la excepcional cantidad de 246 oocitos —obtenidos de 16 mujeres voluntarias a quienes se les estimuló para sobreproducir óvulos—. En el experimento de Advanced Cell Technology que ya hemos mencionado, el equipo pudo conseguir sólo 14 a 16 óvulos. El feliz experimento coreano nos habla, no solo de la magnitud del apoyo financiero recibido para estos trabajos, sino también de una actitud muy permeable a la experimentación en este campo, derivada de su distinta creencia religiosa. Para ellos manipular embriones no significa estar en competencia con el Creador.

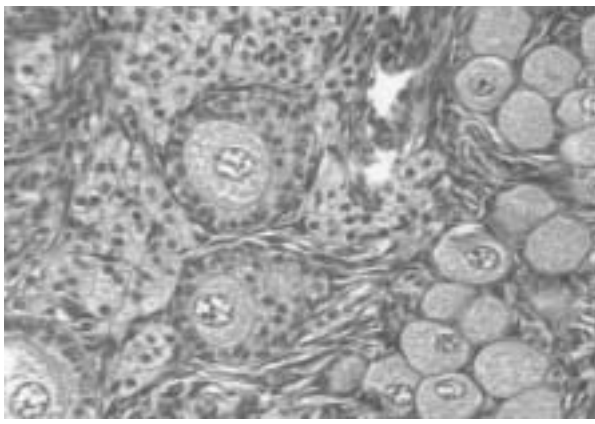
Figura 28



Hwang and Moon, Science Vol 303, february 13, 2004.

Para comprender este experimento (figura 29), recordemos que en un ovario de recién nacida encontramos, como se ve en la figura, oocitos, que son los futuros huevos y folículos primordiales, reconocibles porque las células del estroma ovárico la rodean de manera circular. Son estas células periféricas al oocito, las que en el momento de la eclosión del óvulo constituyen las llamadas células del cumulus. Estas células sirvieron a los investigadores coreanos para fertilizar los óvulos enucleados en sus experimentos.

Figura 29



La fotografía (figura 30) tomada del trabajo coreano, muestra como se ha fijado un óvulo con la micropipeta. En lugar de hacer succión como en los experimentos anteriores de transferencia nuclear de células adultas se hizo (figura 31) con una pipeta más fina un microagujero en la superficie del óvulo. Como vemos a continuación (figura 32) a través del agujero comienza a aparecer el material nuclear. Luego simplemente con la fina micropipeta (figuras 33 y 34) hicieron una presión externa para que exprimiendo suavemente terminara de expulsarse todo el material nuclear y formar así el óvulo vacío, primera y fundamental etapa del procedimiento.

Logrado el óvulo vacío se procedió a inyectar el núcleo de la célula del "cumulus".

La variante en relación con los experimentos fallidos de Schatten y col. fue, simplemente la forma de obtener el óvulo vacío.

Luego se estimuló la división celular (figura 35) y esperaron 7 días para conseguir el blastoquiste. Entonces eliminaron

Figura 30



Hwang and Moon, Science Vol 303, february 13, 2004.

la capa externa y cultivaron las células de la capa interna logrando que estos cultivos se mantuvieran indefinidamente y que de ellos se pudieran derivar células generadoras de hueso, músculo y células inmaduras cerebrales (figura 36).

Figura 31



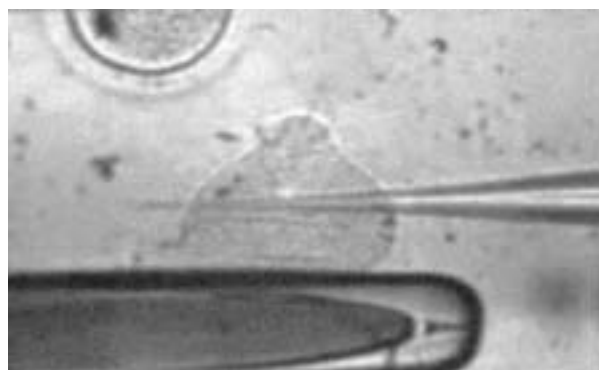
Hwang and Moon, Science Vol 303, february 13, 2004.

Figura 32



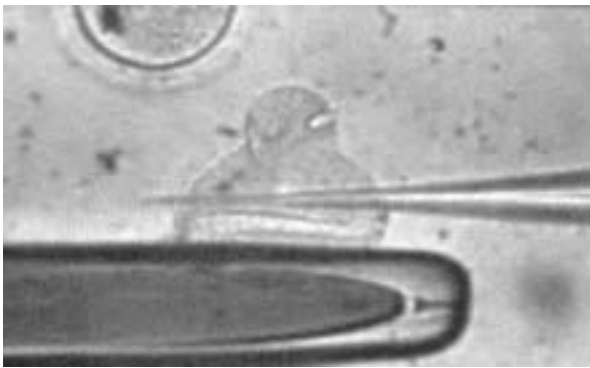
Hwang and Moon, Science Vol 303, february 13, 2004.

Figura 33



Hwang and Moon, Science Vol 303, february 13, 2004.

Figura 34



Hwang and Moon, Science Vol 303, february 13, 2004.

Figura 35



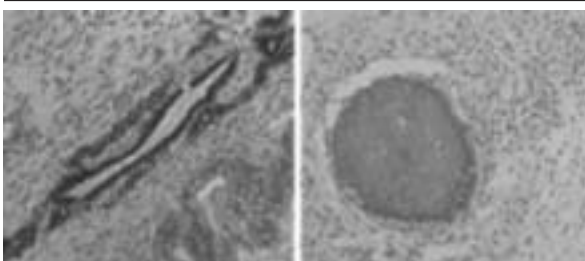
Estadio 2 células

Estadio 4 células

Estadio 8 células

Hwang and Moon, Science Vol 303, february 13, 2004.

Figura 36



Células humanas troncales embrionarias clonadas dieron origen a células retinales inmaduras (lado izquierdo) y a células óseas (lado derecho).

Hwang and Moon, Science Vol 303, february 13, 2004.

Parecería que la modificación de la técnica no elimina las proteínas NuMA y HSET, que rodean a los cromosomas y que son esenciales para la división celular.

En el protocolo más exitoso consiguieron que de 66 óvulos clonados, 19 llegaran al estadio de blastociste.

En conclusión, recién después de este experimento coreano, podemos decir que hoy si existe una posibilidad real de que la clonación terapéutica se incorpore a la tecnología médica contemporánea para beneficio de la humanidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arias-Stella, J. *Del experimento de la oveja Dolly al cultivo de células embrionarias troncales y totipotentes humanas*. Diagnóstico 2001, Vol. 40 N°1 pp. 32-45.
2. Pérez Tamayo, Ruy. *Ética Médica Laica*. Fondo de Cultura Económica. El Colegio Nacional, México, 2002.
3. Sean, R.E. *Non-Coding RNA Genes and the Modern RNA World*. Nature Reviews Genetics, December 2000. Vol. 2, pp. 919-29.
4. Storz, G. *An Expanding Universe of Noncoding RNAs*. Science. May 17, 2002. Vol. 296, pp. 1260-63.
5. Yelin, R. et al. *Widespread Occurrence of Antisense Transcription in the Human Genome*. Nature Biotechnology, April 2003. Vol. 21, pp. 379-85.
6. Mattick, J.S. *Challenging the Dogma: The Hidden Layer of Non-Protein-Coding RNAs in Complex Organisms*. BioEssays, October 2003. Vol. 25, pp. 930-39.
7. Sirica, A-E. *Cellular and Molecular Pathogenesis*. Lippincott. Raven Publishers. Philadelphia Pennsylvania, 1996.
8. Briggs, R., King, T.J. *Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frog's eggs*. Proc. Nat. Acad. Sci. 1952, USA. 38: 455-63.
9. Gurdon, J.B. *The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles*. J. Embryol. Exp. Morphol. 1960. 10: 622-40.
10. Illmensee, K. Hoppe, P.C. *Nuclear translation in Mus musculus: developmental potential of nuclei from preimplantation embryos*. Cell. 1981. 23: 9-18.
11. Merchant Larios, H. *Clonación en mamíferos: bases biológicas e implicaciones teóricas, prácticas y éticas*. Ciencia. 1997. 48(4): 49-57.
12. NIH report "Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions" released July 2001.
13. Silver, Lee. *What are clones?: They're not what you think they are*. Nature. July 5, 2001. Vol. 412, p21.

14. Wilmut, I., Schnieke, A.E., Mc Whir, J., Kinf, A.J. and Campbell, K.H.S. *Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells*. Nature, 385, February 1997. 27: 810-13.
15. *The meaning of life*. Nature, July 2001, Vol. 412, Issue N. 6844, pp. 255.
16. Lanza, R.P., Cibelli, J.B., and West M.D. *Human Therapeutic Cloning*. Nature Medicine, 1999. Vol. 5, N°9, pp. 975-77.
17. Lanza, R.P., Cibelli, J.B., West, M.D. *Prospects for the Use of Nuclear Transfer in Human Transplantation*. Nature Biotechnology, 1999. Vol. 17, N°12, pp. 1171-74.
18. Lanza, R.P. et al. *The Ethical Validity of Using Nuclear Transfer in Human Transplantation*. J. American Medical Association, 2000. Vol. 284, N°24, pp. 27.
19. Ronald, M.G. *The Human Embryo Research Debates: Bioethics in Vortex of Controversy*. Oxford University Press, 2001.
20. Steptoe, P. and Edwards, R. *"England's Test-Tube Baby"*. U.S. New & World Report 31 July 1978.
21. Edwards, R.G., Steptoe, P.C. *Cuestión de Vida*. Barcelona, 1980.
22. Despertad!. Watchover Bible and Tract Society of New York, Inc. 25 Columbia Heights Brooklyn, N.Y. 11201-2483. Apartado Postal 85058, Bogotá 8 D.C., Nov. 22, 2002.
23. Pedersen, R.A. *Studies of in vitro Differentiation with Embryonic Stem Cell*. In: *Reproduction, Fertility and Development*, 1994; 6(5): 543-52.
24. Pedersen, R.A. *Embryonic Stem Cells for Medicine*. Scientific American, April 1999.
25. Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S., and Jones, J.M. *Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts*. Science, 1998. Vol. 282, pp. 1145-47.
26. Marshall, E. *The Business of Stem Cells*. Science, 2000. Vol. 287, pp. 1419-21.
27. Arias-Stella, J. *Ética médica, clonación y células embrionarias. El dilema del "no ser" u objeto y el "ser" o sujeto*. Patología Revista Latinoamericana, 1999. Vol. 37, pp. 319-20.
28. Coxon, A. *Therapeutic Cloning: An Oxymoron. The Center for Bioethics and Human Dignity*. Department of Health and Human Services (Bethesda, Maryland) March 13, 2001.
29. Arias-Stella, J. *Clonación, Biología, Medicina y Derechos Humanos*. Folia Dermatológica Peruana, 2002. Vol. 13(2), pp. 55-7.
30. Perry, D. *Patients' Voices: The Powerfull Sound in the Stem Cell Debate*. Science, 2000. Vol. 287, p. 1423.
31. Cibelli, J., Lanza, R., and West, M. *The First Human Cloned Embryo*. Scientific American, January 2002.
32. Simerly, C., Dominko, T., Navara, Ch., Payne, Ch., Capuano, S., Gosman, G., Chong, K., Takahashi, D., Chace, C., Compton, D., Hewitson, L., Schatten, G. *Molecular Correlates of Primate Nuclear Transfer Failures*. Science, April 2003. Vol. 300, p. 297.
33. Arias-Stella, J. *Clonación, un paso atrás*. Folia Dermatológica Peruana, 2003. Vol. 14(3), pp. 39-40.
34. Woo Suk Hwang, Young June Ryu, Jong Hyuk Park, Eul Soon Park, Eu Gene Lee, Ja Min Koo, Hyun Yong Jeon, Byeong Chun Lee, Sung Keun Kang, Sun Jong Kim, Curie Ahn, Jung Hye Hwang, Ky Young Park, Jose B. Cibelli, and Shin Yong Moon. ***Evidence of a Pluripotent Human Embryonic Stem Cell Line Derived from a Cloned Blastocyst***. Science, Vol. 303, pp 1669-74, 12 March 2004. Published online 12 February 2004 [DOI: 10.1126/science.1094515] (in Science Express Reports).
35. Vogel, G. *Scientists Take Step Toward Therapeutic Cloning*. Science, 13 February 2004. Vol. 303, pp. 937-39.