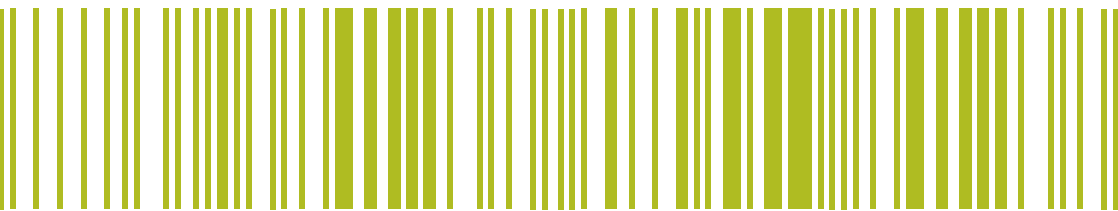




Clonatge terapèutic: perspectives  
científiques, legals i ètiques

Clonación terapéutica: perspectivas  
científicas, legales y éticas

Therapeutic Cloning: ethical, legal  
and scientific perspectives



FUNDACIÓ  
VÍCTOR  
GRÍFOLS  
i LUCAS



Clonació terapèutica: perspectives  
científiques, legals i ètiques

Clonación terapéutica: perspectivas  
científicas, legales y éticas

Therapeutic Cloning: ethical, legal  
and scientific perspectives





## Clonatge terapèutic: perspectives científiques, legals i ètiques

Redacció a càrrec de:  
Gemma Marfany  
Josep Egozcue  
Victòria Camps

Edita: Fundació Víctor Grífols i Lucas  
Traducció a càrrec de Edmonds, S.L.



## PRESENTACIÓ

Hi ha molts temes biomèdics, amb implicacions ètiques i polítiques importants, que capten l'atenció del gran públic sense que s'arribi a donar prou informació com per produir debats sòlids i raonables. Els problemes que suscita la recerca amb cèl·lules mare embrionàries són d'aquest tipus. Es fan manifestacions públiques, s'anuncien descobriments, els polítics protagonitzen declaracions de signes diversos, les associacions de malalts es pronuncien i fan pressió, s'obren noves perspectives, però són ben poques les persones que podrien parlar amb coneixement de causa i amb fonament. Concretament, el tema del clonatge d'embrions, que és com s'anomena vulgarment "el clonatge mitjançant transferència nuclear de cèl·lules somàtiques", sorgeix periòdicament, envoltat de tots els fantasmes i tabús que acompanyen la idea de clonatge. Amb això només s'aconsegueix provocar unes quantes declaracions mediàtiques i desconcertar l'opinió pública.

Aquest document, realitzat per iniciativa del patronat de la Fundació Víctor Grífols i Lucas, pretén contribuir a difondre informació sobre l'estat actual de la recerca amb cèl·lules mare i el clonatge terapèutic. L'objectiu no és altre que ajudar a crear opinió i a aprofundir en el debat públic des del convenciment que la informació és condició necessària per poder avançar en el coneixement i per poder fer que les opinions siguin raonables.

L'anàlisi portada a terme aborda els aspectes científics, ètics i legals de la qüestió. Raona sobre els diferents enfrontaments derivats de postures ideològiques discrepants. Apunta els canvis legislatius i les propostes polítiques que serien desitjables a la vista de l'estat actual de la qüestió. Tot això deriva de la convicció que compartim respecte a la importància de continuar reflexionant sobre el lloc de la ciència, la responsabilitat dels científics i la necessitat d'establir pactes polítics que afrontin el nostre desenvolupament científic i tecnològic encara feble. En qualsevol cas, convé no oblidar que l'objectiu últim de la ciència és l'ésser humà i el ser benestar, i que aquest objectiu només es pot abordar des de la discussió i el diàleg. Per tal d'assolir aquest objectiu, és imprescindible que els ciutadans tinguin una informació correcta sobre els descobriments científics i tecnològics. Només així, la discussió sobre usos correctes de la ciència podrà fer-se partint d'una base d'autèntica llibertat.

## CLONS I CLONATGE

Hi ha molts éssers vius que es reproduïxen per clonatge, és a dir, generen còpies idèntiques d'ells mateixos mitjançant un procés que s'anomena de diverses maneres, des de reproducció asexual fins a escissió, i que té com a objectiu incrementar el nombre d'individus, tot produint clons. El cas més conegut és el dels bacteris, però també passa en fongs, esponges, coralls, meduses i molts altres organismes.

Ara bé, a la natura hi coexisteixen diferents formes de reproducció. La reproducció mitjançant el clonatge és la més antiga des del punt de vista evolutiu. Un individu té una informació genètica que transmet, en teoria sense variacions, als seus descendents, però com que en replicar-se s'incorporen sempre petits canvis (mutacions) a la informació genètica, aquests canvis passen a la descendència i són sotmesos per tant a la selecció natural. Tanmateix, l'evolució sobre aquesta base es produeix de manera lenta, en partir d'individus gairebé idèntics. La reproducció sexual va sorgir com a mecanisme d'adquisició i transmissió d'una més gran variabilitat genètica i, com a tal, va triomfar i va ésser seleccionada ràpidament en nombroses espècies, perquè generava nous individus amb unes característiques diferents, tot i que similars, a les dels seus progenitors.

Tot i així, el clonatge continua essent present a tots els organismes, ja que des de la creació del zigot, que prové de la unió de dos gàmetes, tot l'organisme es genera per clonatge de la informació genètica inicial, seguit d'una posterior diferenciació cel·lular. A més, de vegades neixen bessons monozigòtics que, tot i ésser anomenats bessons idèntics i ésser idèntics genèticament, són ben lluny de ser-ho pel que fa a les seves característiques (fenotip), ja que, a part de ser físicament molt semblants, en tota la resta són persones tan diferents com qualsevol altra parella de germans no bessons. Per tant, el clonatge no és antinatural ni és sinònim de manipulació genètica, sinó que és inherent a l'espècie humana.

Llavors, d'on ve la preocupació social pel fenomen del clonatge? Per què el terme "clon" desperta a moltes persones el temor a una possible manipulació i control de l'espècie humana?



El detonant va ser la publicació de la novel·la *Brave New World*, d'Aldous Huxley, que es va traduir com “*Un món feliç*”, i que va ser seguida per moltes altres produccions literàries i cinematogràfiques, a totes les quals s'insistia en una forma de clonatge que no només és il·lògica, sinó que, a més, és tècnicament impossible: la producció massiva de subhumans o d'exèrcits clònics. Per altra banda, ja des de la dècada dels setanta, es va encunyar el terme “clonatge” en el camp de l'enginyeria genètica per designar la generació de construccions de DNA recombinant i l'ús generalitzat d'aquesta paraula en els medis científics i no científics li ha donat, en el inconscient col·lectiu social, un matís semàntic de manipulació genètica. Per tant, no és gens estrany que el clonatge del primer mamífer, l'ovella Dolly, fes sorgir novament aquests temors, amplificats fins l'infinit pels mitjans de comunicació, fins el punt que els qui s'oposen al clonatge terapèutic són els més interessats en fer que la paraula “clonatge”, que de per sí produeix ja un cert rebuig, aparegui en el debat social sobre el tema. Tampoc ha ajudat gaire el fet que personatges desapareixius i no científics hagin aprofitat el fenomen i la publicitat gratuïta per anunciar la consecució d'humans clònics, cosa que és ben palès que és falsa.

Malgrat que aquest document pretén centrar-se en els coneixements actuals i en les perspectives de futur que ofereix la recerca sobre clonatge terapèutic, és a dir, en l'obtenció de cèl·lules obtingudes per transferència nuclear de cèl·lules somàtiques (que tenen una informació genètica idèntica a la de l'individu donador) per a un ús en teràpia cel·lular, hem d'aclarir quines són les seves diferències amb l'anomenat clonatge reproductiu, el qual, partint de la mateixa tecnologia *a priori* té un objectiu intrínsec radicalment diferent, la creació d'individus genèticament idèntics. Per fer-ho, dedicarem una part dels nostres esforços a aclarir i contraposar la tecnologia, les limitacions i els objectius d'ambdós tipus de clonatge.

## LA CAIXA DE PANDORA, DOLLY

Qualsevol nou avenç científic ha d'ésser percebut en el seu context i avaluat en perspectiva. El clonatge terapèutic en l'ésser humà té el seu origen en el desenvolupament del clonatge terapèutic en mamífers. I aquest va sorgir com a resposta, molt poc eficient fins ara, a un problema científic i farmacològic real: l'obtenció de productes, com ara hormones i enzims, que només es poden obtenir en la seva forma biològica activa mitjançant un organisme viu. Per tant, en darrer terme, estem parlant d'un problema d'abast social, i no del caprici d'uns pocs científics tancats a la seva torre d'ivori i aliens a la realitat.

Els darrers 30 anys han estat testimonis del ràpid desenvolupament de tècniques noves d'enginyeria genètica que han permès manipular genèticament determinats organismes en el laboratori. Començant per la introducció de nou material genètic, o DNA recombinant, en el bacteri *Escherichia coli*, aviat es varen dissenyar estratègies de manipulació genètica d'organismes més complexos, com ara la mosca del vinagre (*Drosophila*) o el ratolí. Aquests mètodes permeten introduir material genètic nou en el genoma de l'individu. La nova informació genètica s'anomena transgèn, i l'organisme que ha estat manipulat s'anomena organisme transgènic.

Una de les aplicacions més útils i rendibles dels animals transgènics és la producció de substàncies farmacològicament actives, que són de difícil o impossible obtenció mitjançant una síntesi química. Aquestes substàncies només es poden produir a partir de cèl·lules vives, que són un mètode excepcionalment costós, o bé emprant organismes vius com a màquines que produeixin la substància de manera que l'obtenció en sigui relativament senzilla. Els animals productors de llet són organismes ideals per a aquesta finalitat, perquè hom els hi pot introduir gens humans, per tal de obtenir una posterior secreció a través de les glàndules mamàries de vaques, ovelles, cabres, etc.

A l'Institut Roslin d'Escòcia, s'investigava des de feia anys la possibilitat d'obtenir animals transgènics d'interès farmacèutic. Molts laboratoris associats a diverses empreses farmacèutiques tenien aquest mateix objectiu. El principal escull amb què topaven és que, després de múltiples esforços per tal d'obtenir l'animal transgènic adequat, que produís la quantitat suficient de la substància d'interès a la llet (per tant, femella), aquesta capacitat s'acostumava a perdre

quan el transgèn era transmès als descendents mitjançant una reproducció sexual, l'única forma coneguda per incrementar el nombre d'individus amb el transgèn en animals superiors. Els descendents heretaven una nova combinació genètica i, per tant, la resposta del seus gens, inclòs el transgèn, era diferent de la de la seva mare.

Com es podrien mantenir les característiques desitjades del costós organisme transgènic inicial? Per a horticultors i floricultors, la solució és ben simple, perquè els vegetals permeten el clonatge de maneres diverses i variades, i això facilita l'obtenció de múltiples còpies idèntiques d'una nova soca especialment desitjable per les seves característiques. Per què no emular la natura i adaptar aquesta estratègia als animals? Els investigadors varen desenvolupar una nova tècnica amb la qual, a partir d'un organisme adult, que té les característiques que desitgem, es poden obtenir nous individus, genèticament idèntics.

És així com va néixer l'ovella Dolly, la primera ovella clònica, clon d'una femella adulta de 6 anys. Aquest procés de clonatge (que fins ara no ha canviat en el seu procediment) es basa en l'extracció de nuclis (on es troba el DNA o informació genètica) de cèl·lules somàtiques (és a dir, del cos o soma i, per tant, no germinals) de diferents teixits per tal d'introduir-los en òvuls als que prèviament s'ha extret el nucli. Després de nombrosos intents es varen produir gairebé tres-cents òvuls amb nuclis somàtics, però gairebé la totalitat varen fallar d'entrada, varen donar lloc a embrions defectuosos que varen acabar en avortaments espontanis o varen produir fetus morts en néixer. Només un d'aquests intents va originar una ovella viva i aparentment normal. No gaire més tard, el mateix grup va obtenir Polly, la primera ovella clònica transgènica, que havia estat l'objectiu principal dels investigadors, però l'atenció i, sobre tot, la imaginació de la societat, havien estat ja capturades prèviament per l'avenç anterior, que és el que ha romàs imprès com una fita absolutament nova en la història de la ciència, malgrat que molts laboratoris estaven avançant en el mateix tema i, tard o d'hora, s'hagués assolit un clonatge. Això explica, en part, l'èxit relatiu de múltiples grups que, a continuació, es varen afanyar a comprovar i repetir els resultats pioners del grup escocès, assolint resultats similar amb vedells, conills, ratolins, etc.

Amb aquest primer organisme, una ovella que, finalment, va ser eliminada de manera prematura mitjançant eutanàsia per tal d'evitar-li el patiment que l'artritis i altres malalties li provocaven, es va obrir la caixa de Pandora de la possible obtenció d'éssers humans clònics idèntics i genèticament manipulables, és a dir, el material necessari per tal de fer realitat alguns dels somnis o dels malsons que l'imaginari de la humanitat havia creat.

Tanmateix, aquesta tècnica, malgrat semblar molt senzilla i directa, té alguns punts crítics. El més important és el fet que, en totes les espècies, per tal d'obtenir un individu clònic nascut i aparentment viable, han calgut múltiples intents, perquè el percentatge d'èxits és descoratjadorament baix, del voltant d'un 1-5% en el millor dels casos. Fins i tot, hi ha espècies en què aquesta tècnica, ara com ara, fracassa. Per què? Quins són realment aquests punts crítics?:

### **1.- Nombre elevat d'òvuls i de mares de lloguer.**

Degut a que el procés presenta un percentatge d'èxits tan baix, cal un gran nombre d'òvuls, alguns centenars, per poder garantir que alguns dels embrions obtinguts arribaran a terme satisfactòriament, i aquí rau un dels problemes principals. Els oòcits madurs són difícils d'obtenir. De manera natural, les femelles de mamífers maduren un nombre escàs d'òvuls en cada cicle, entre un i una dotzena, segons l'espècie. A més, cal emprar úters de lloguer i moltes de les espècies en què s'ha intentat el clonatge tenen embarassos d'un sol embrió o, com a molt, de dos (ovelles, cabres, vaques,...), la qual cosa implica que cal disposar d'un nombre molt elevat de mares de lloguer, i que només en un 1-5% d'elles s'obtindrà un embaràs que finalitzarà amb èxit. En animals de granja, la disponibilitat d'oòcits madurs i de mares de lloguer és un inconvenient molt difícil de resoldre, però en l'espècie humana suposa un escull impossible de superar.

### **2.- Del nucli adult al nucli embrionari.**

La procedència i l'estat de diferenciació del nucli de la cèl·lula somàtica són crucials. Com menys diferenciada estigui la cèl·lula donadora, més gran serà la

probabilitat d'èxit. Si s'empra un nucli d'un embrió o d'un fetus, el percentatge d'èxit augmenta fins un 30% dels intents.

Una cèl·lula diferenciada conté, en principi, tota la informació genètica d'un organisme, però només és accessible el DNA que inclou la informació rellevant per al teixit en què es troba i la funció que exerceix la cèl·lula donadora. Una cèl·lula diferenciada té en el seu DNA un gran nombre de modificacions produïdes durant el procés de diferenciació: això és el que s'anomenen canvis epigenètics, que afecten principalment l'expressió dels gens. En canvi, en un embrió d'una fase inicial, tota la informació del DNA és necessària i ha de ser accessible: les cèl·lules tenen una potencialitat múltiple i, segons el procés de diferenciació seguit poden produir tots els tipus cel·lulars d'un organisme. Per tant, el nucli d'una cèl·lula somàtica a la qual es canvia de context cel·lular situant-la en un oòcit enucleat, rep senyals que la obliguen a adaptar-se al seu nou context, i pateix un procés de reprogramació nuclear per tal de permetre que tota la informació genètica sigui potencialment expressable tot desent els canvis epigenètics que el seu DNA havia patit durant el procés de diferenciació.

El període de temps durant el qual ha de produir-se la reprogramació nuclear per tal de convertir el nucli d'una cèl·lula somàtica en un nucli compatible o similar al d'un zigot està predeterminat a cada espècie, perquè cal que això passi en el breu interval de temps que hi ha entre la transferència del nucli a l'oòcit (homologable al procés de fecundació), que fa que la informació materna dipositada a l'òvul n'assumeixi el comandament, fins que els propis gens zigòtics han d'expressar-se per controlar el procés de desenvolupament. Es pot diferenciar la reprogramació pre-zigòtica, que es produeix durant la formació de les cèl·lules germinals, i la reprogramació post-zigòtica, que passa quan el zigot ja s'ha format. De totes aquestes modificacions epigenètiques, les que causen un percentatge més gran de fracassos en els embrions obtinguts per clonatge són els defectes de la reprogramació pre-zigòtica, que afecten a l'expressió de la majoria dels gens, i en particular a gens crucials per al desenvolupament embrionari, mentre que la reprogramació post-zigòtica acostuma a produir-se amb normalitat, perquè el període de temps disponible per a aquest ajustament és més llarg.

### 3.- Percentatge d'èxit final molt escàs.

De fet, el punt anterior està íntimament relacionat amb el percentatge d'èxit final. El clonatge per tal d'obtenir individus és, ara com ara, un procés ineficient i propens a errors que, habitualment, comporten un fracàs de la majoria d'intents. L'experiència adquirida en les espècies en què s'ha practicat el clonatge indica que entre un 20% i un 30% dels embrions no assoleixen ni tan sols l'estadi de blastocist (dia 5 després de la fecundació a l'ésser humà), i per tant no s'implantaran, i de l'altre 70%-80%, la majoria produeixen embrions o fetus amb patrons de desenvolupament aberrants, que moren en la fase intrauterina o perinatal. Només entre un 1% i un 5% arriben a terme i, tot i ser aparentment normals, presenten patrons d'expressió gènica diferents dels obtingut per fecundació natural i molts d'ells desenvolupen malalties prematurament.

Curiosament, la majoria de les nombroses veus provinents de l'àmbit no-científic que s'han alçat per recolzar o rebutjar les possibles aplicacions del clonatge, solen desconèixer-ne l'abast real, molt poc eficient, i les nombroses dificultats tècniques que comporta. Per altra banda, l'argumentació esgrimida emfasitza molt més una possible aplicació reproductiva que no pas el vessant, molt més probable i factible des d'un punt de vista tècnica i científic, del clonatge terapèutic, com es comentarà més endavant.

## CLONATGE PER TRANSFERÈNCIA NUCLEAR DE CÈL·LULES SOMÀTIQUES (SCNT)

Actualment, els investigadors no utilitzen el terme clonatge, massa ambigu, per referir-se al mètode que permet obtenir un individu clònic a partir d'un altre, sinó el més precís i tecnològic de "transferència nuclear de cèl·lules somàtiques" (o les seves sigles en anglès, SCNT). Aquesta tècnica, tal com hem comentat, no ha sofert gairebé cap variació respecte a la que varen desenvolupar inicialment els investigadors de l'Institut Roslin. Cal emprar sempre un oòcit receptor, aturat en un determinat estadi del seu cicle, i treure'n el material genètic, és a dir, el nucli (amb 23 cromosomes), de tal manera que quedi enucleat, a l'espera que es faci la introducció d'un altre nucli donador, que inclogui la dotació cromosòmica completa (46 cromosomes). Aquest nou material genètic, és a dir, el nucli que serà introduït a l'òvul receptor, prové d'una cèl·lula somàtica (no destinada a la reproducció) de l'organisme que s'està intentant clonar. Aquesta cèl·lula somàtica donadora del nucli ha estat prèviament tractada per tal de millorar el resultat final, de tal manera que es trobi en fase de repòs cel·lular (estadi  $G_0$ ).

L'ou reconstruït d'aquesta manera emula (però no és idèntic a) un zigot natural, i ha de ser activat artificialment (per tal de simular el procés de fecundació) i fer que iniciï novament la replicació del seu DNA i que la cèl·lula es divideixi, comportant-se com si fos un embrió. Si supera aquests estadis inicials del desenvolupament i arriba a l'estadi de blastocist, pot ser implantat a l'úter d'una mare de lloguer, que haurà estat tractada hormonalment per tal que pugui rebre i permetre la implantació del futur clon, o pugui ser emprat per a l'obtenció de cèl·lules mare.

Per tant, cal diferenciar clarament entre un embrió gamètic, produït quan un espermatozoide fecunda un òvul, de manera natural o amb l'ajut de tècniques de reproducció assistida, i un embrió somàtic, que és una construcció artificial, obtinguda mitjançant la intervenció humana, que pot comportar-se de manera similar a un embrió gamètic, però és diferent en el seu origen i en la seva finalitat. En poques paraules, un zigot té una identitat genètica diferent de la dels seus progenitors i la seva finalitat biològica és la reproducció; un embrió somàtic obtingut per SCNT té la mateixa identitat genètica que l'individu

donador del nucli, es pot obtenir únicament amb una manipulació humana, i no té cap equivalent biològic, i per tant, no té cap finalitat biològica definida.

Finalment, mentre que, en principi, un embrió gamètic té vida i és viable, la qual cosa, segons el Tribunal Constitucional (212/96) el fa mereixedor d'una certa protecció, un embrió somàtic té vida, però no és viable i, per tant, no té el dret a la protecció reconegut pel Tribunal Constitucional.





## LA TRANSFERÈNCIA NUCLEAR DE CÈL·LULES SOMÀTIQUES EN HUMANS: CLONATGE TERAPÈUTIC I CLONATGE REPRODUCTIU

En tota argumentació sobre clonatge humà cal diferenciar si s'està tractant de clonatge reproductiu o de clonatge terapèutic. El clonatge reproductiu és aquell que té com a objectiu produir un ésser humà genèticament idèntic a un altre, mentre que el clonatge terapèutic té com a objectiu obtenir cèl·lules humanes genèticament idèntiques, per tal d'emprar-les en una teràpia cel·lular, com a estri terapèutic per a la substitució de les cèl·lules d'un pacient, que ja són mortes, danyades o disfuncionals, evitant, per tant, el greu problema del rebuig immunològic. En el primer cas, és imprescindible obtenir un embrió somàtic viable que pugui arribar a terme i generar un ésser humà adult sense defectes aparents de desenvolupament. En el segon, si més no actualment, ni ha prou amb obtenir un embrió somàtic, que mai no arribarà a desenvolupar-se més enllà de la fase de blastocist (dia +5 post-fecundació).

Independentment de les possibles objeccions morals o ètiques al clonatge reproductiu en humans i del fet que identitat genètica no equival a identitat total en les característiques físiques, emocionals i intel·lectuals en humans (només cal observar dos bessons monozigòtics, clons naturals, per fer-ho palès), donada l'experiència adquirida amb la SCNT en altres espècies de mamífers i el risc molt elevat de desenvolupament aberrant, mort perinatal i increment de malalties postnatsals, en la actualitat els intents de clonatge reproductiu en humans només poden considerar-se, des d'un punt de vista científic, com absolutament ingenus, inútils i basats en el desconeixement de la realitat i, en el pitjor dels casos, com a totalment irresponsables.

En canvi, la major part dels científics defensen l'estudi de les possibilitats del clonatge terapèutic en l'espècie humana, ja que presenta menys dilemes ètics i, en canvi, ofereix un potencial terapèutic futur (ara per ara llunyà) que pot canviar el pronòstic i el tractament de nombroses malalties humanes en què hi ha lesions de cèl·lules i teixits, com ara la diabetis, els infarts de miocardi i les malalties neurodegeneratives. Tot i així, hi ha molt camí per recórrer i caldrà molt treball de recerca per arribar a comprendre el motiu de que el clonatge tingui un percentatge de fracassos tan elevat i aclarir com es produeixen les primeres decisions en el procés de diferenciació i desenvolupament per tal d'obtenir cèl·lules i, si és el cas, teixits plenament funcionals.

## POTENCIAL DE LES CÈL·LULES MARE EMBRIONÀRIES

Les cèl·lules mare embrionàries (en anglès, *Embryonic Stem cells*, per tant, *ES cells* o cèl·lules ES) són cèl·lules pluripotents que poden diferenciar-se en qualsevol dels tipus cel·lulars que es poden trobar en un individu adult. Aquestes cèl·lules s'obtenen d'un estadi embrionari concret, el de blastocist, just abans de la implantació, que en els humans correspon al dia 5 després de la fecundació o, si s'escau, després de la transferència d'un nucli somàtic.

En aquest estadi, l'embrió té una capa de cèl·lules exterior o trofocderma (que posteriorment, donarà lloc a la placenta i altres teixits de suport de l'embrió) i una massa cel·lular interna de cèl·lules pluripotents i indiferenciades, encara poc estructurades, algunes de les quals contribuiran a la formació de membranes extrafetals, i només poques d'elles formaran el cos de l'embrió. Aquesta massa cel·lular interna pot ésser disgregada, i les cèl·lules es poden cultivar *in vitro*, i s'anomenen cèl·lules mare embrionàries. Aquestes cèl·lules mostren la seva pluripotència en la capacitat de diferenciar-se en multitud de tipus cel·lulars.

18

Segons les condicions del medi de cultiu, les cèl·lules mare embrionàries poden ésser mantingudes en estat de pluripotència, sense diferenciar-se, per ésser manipulades i reintroduïdes en un embrió del mateix estadi, o poden ser induïdes a diferenciar-se cap a diversos tipus cel·lulars, si s'afegeixen al medi de cultiu suplementats de còctels d'hormones i factors de creixement adequats. Malgrat que es puguin assolir, *in vitro*, diferenciacions cap a tots els tipus cel·lulars existents en un organisme adult, encara no es coneix, amb algunes excepcions, com es poden obtenir diferenciacions homogènies controlades, activant únicament els patrons d'expressió gènica que determinen un únic tipus cel·lular concret, i per tant és molt important evitar en el cultiu la presència de tipus cel·lulars diferents al desitjat, o de cèl·lules embrionàries indiferenciades, que poden donar origen a la formació de teratomes. Afortunadament, en la actualitat hi ha les tècniques necessàries per tal de poder resoldre aquests problemes.

Quina és la font principal de cèl·lules mare humanes? Actualment es poden obtenir cèl·lules mare embrionàries humanes a partir d'embrions congelats produïts per fecundació *in vitro* i que corresponen a diferents grups:

1. Embrions que es desenvolupen anormalment, i que podrien emprar-se per a l'estudi de les anomalies del desenvolupament.
2. Embrions anormals (després d'un diagnòstic pre-implantacional), per a la mateixa finalitat.
3. Embrions normals (després d'un diagnòstic pre-implantacional), però que no es transferiran (per exemple, els de sexe masculí després d'una determinació del sexe per a una malaltia lligada al sexe).
4. Embrions sobrants de processos de reproducció assistida que no són transferibles, perquè la parella ha completat ja els seus plans de reproducció, no vol cedir-los per a la reproducció, però accepta donar-los per a la recerca.

Els principals avantatges són que aquests embrions ja existeixen, la facilitat amb què generen cèl·lules mare embrionàries i, a més, que amb la recerca en cèl·lules mare embrionàries s'obté molta informació sobre els processos de diferenciació cel·lular i tissular en el desenvolupament, per al seu posterior ús en altres aplicacions. Tanmateix, el seu ús com a possible estri terapèutic pot provocar dilemes ètics, i planteja algunes dificultats estratègiques.

Els problemes ètics són ben coneguts: el primer és que les cèl·lules mare embrionàries són alienes al receptor, i poden provocar problemes de rebuig, que en tot cas poden ser tractats. El segon problema és el baix nombre i la baixa qualitat: en efecte, tot i que una enquesta recent portada a terme a Barcelona mostra que gairebé un 80% de les parelles amb embrions criopreservats estaria disposat a donar els seus embrions sobrants per a la recerca, en general, els embrions congelats són els de menor qualitat, ja que els millors embrions són seleccionats per ésser transferits. S'ha calculat que si tots els embrions congelats existents als Estats Units d'Amèrica s'empessin per obtenir cèl·lules mare, només s'aconseguirien unes 275 línies cel·lulars. A més, en autoritzar-se la congelació d'oòcits, el nombre d'embrions criopreservats disminuirà extraordinàriament, fins i tot si s'empren tècniques per a l'obtenció d'oòcits a partir de cèl·lules mare, un procediment molt perillós, ja que alguns centres podrien veure's temptats d'emprar aquests oòcits per a la reproducció. Per

aquest motiu, és indispensable recórrer a l'ús de la tècnica de SCNT (el mal anomenat clonatge terapèutic), i a la donació d'òcits. De fet, s'ha calculat que, al Regne Unit, si un 20% de les dones que comparteixen oòcits els donessin per a la recerca, es podria disposar d'uns 900 òvuls l'any per a la transferència nuclear o el clonatge terapèutic.



## EL CLONATGE TERAPÈUTIC COM A ESTRATÈGIA GENERADORA DE CÈL·LULES MARE EMBRIONÀRIES HUMANES

En aquest context, el clonatge terapèutic té com a objectiu generar un embrió somàtic per SCNT i deixar-lo desenvolupar fins l'estadi de blastocist (dia +5 post-fecundació) per tal de disgregar la massa cel·lular interna i obtenir cèl·lules mare embrionàries clòniques per a trasplantaments. Recordem que el rebuig degut a la incompatibilitat immunològica, que és la complicació més freqüent en els trasplantament d'òrgans, es tracta amb teràpia immunosupressora, que produeix efectes secundaris. També pot passar que, en cas necessari, no es trobi un donador compatible.

Les cèl·lules mare embrionàries (i, per tant, les cèl·lules o teixits que d'elles se'n derivin) obtingudes per SCNT serien genèticament idèntiques a les del pacient, que passa a ser a la vegada donador i receptor, tot eliminant així el risc de rebuig i, per tant, la necessitat d'un tractament immunosupressor. A més, aquestes cèl·lules proporcionen una font renovable de teixit, i això permet que la teràpia pugui repetir-se tantes vegades com calgui. El clonatge terapèutic podria realitzar-se sempre que calgués, i d'aquesta manera, hi hauria la possibilitat que tots els individus poguessin rebre un teixit compatible, i s'eliminaria el procés d'espera i selecció d'un donador. Fins i tot, a algunes malalties genètiques hereditàries greus (com l'anèmia drepanocítica o la beta-talassèmia), es podria preveure una teràpia gènica prèvia en les cèl·lules mare embrionàries clòniques, per tal de corregir el gen defectuós i, posteriorment, tornar a introduir-les en el pacient.

Els possibles dilemes morals de l'ús dels embrions somàtics clònics generats per SCNT són molt menors que en el cas de l'ús d'embrions rebutjats després d'un procés de fecundació *in vitro*, ja que, en primer lloc, no es genera un zigot real, sinó una construcció que respon a una invenció humana; en un 95-99% dels casos, l'embrió somàtic generat per SCNT presentaria un desenvolupament tan anormal per manca d'una reprogramació nuclear adequada, que no arribaria a terme; i el que és més important, mentre que un embrió gamètic es crea per a la reproducció, un embrió somàtic es crea amb finalitats terapèutiques. A més, en realitzar-se tot el procés *in vitro* i en estadis pre-implantacionals, en cap cas caldria recórrer a úters de lloguer (un dels problemes estratègics i ètico-legals que poden aparèixer en el clonatge reproductiu).

L'argument del pendent relliscós (el clonatge terapèutic portarà indefectiblement al clonatge reproductiu) no mereix ni tan sols consideració. En primer lloc, les dificultats de l'un i l'altre ja s'han contrastat. Però, a més, ni ha prou amb legislar adequadament un i altre tipus de clonatge per evitar abusos en aquest sentit.

Finalment, plantejar que el clonatge terapèutic requerirà un nombre il·limitat d'òvuls és un error. El Regne Unit ha creat ja un banc de cèl·lules mare, al qual tots els científics hauran de cedir gratuïtament una mostra de les seves línies cel·lulars embrionàries. D'aquesta manera, l'esforç d'alguns reverteix a tota la comunitat científica, i el nombre d'òocits necessari serà més limitat en la mesura en què s'emprin millors tècniques per a l'obtenció de línies de cèl·lules mare.

A més, al maig de 2005, el grup de Corea del Sud del Prof. Hwang ha perfeccionat la tècnica de transferència nuclear de tal manera que, en la actualitat, la possibilitat de derivar una línia de cèl·lules mare a partir d'un blastocist s'estima en un 30 a 40%. Per tant, abans d'aquesta data haurien calgut unes 20-30 donadores d'òocits per obtenir una línia cel·lular per tractar a un pacient. Ara, n'hi ha prou amb els òvuls que es poden obtenir d'una sola donadora, que podria ser molt bé una familiar o amiga de la pacient, si en aquests casos no s'aplica l'exigència d'anonimat, que no sembla ser necessària.

Tot i així, caldria aprofundir més en les exigències necessàries per aconseguir diferenciacions homogènies de les cèl·lules mare embrionàries en cultiu. Si, a més, pensem en una possible teràpia de malalties neurodegeneratives (com ara la malaltia de Parkinson o la ceguesa per pèrdua progressiva de neurones fotoreceptores), aquest és un problema urgent, perquè hi ha una enorme diversitat de neurones diferenciades, amb funcions clarament diferents, tal com reflecteix la síntesi i la recepció de neurotransmissors. Per assolir aquest coneixement és absolutament imprescindible una recerca seriosa i contrastada amb cèl·lules mare embrionàries humanes.

## CÈL·LULES MARE EMBRIONÀRIES PROVINENTS D'EMBRIONS CRIOPRESERVATS I CÈL·LULES MARE EMBRIONÀRIES OBTINGUDES PER SCNT (CLONATGE TERAPÈUTIC)

Alguns països, com ara els Estats Units i el Regne Unit, ja disposen d'algunes línies de cèl·lules mare embrionàries humanes establertes. Si això és així, per què es planteja l'obtenció de noves línies d'aquestes cèl·lules a partir d'embrions congelats? i, pel mateix motiu, per què cal parlar de clonatge terapèutic?, quina utilitat té?

La resposta principal és la gran variabilitat humana en els antigens d'histocompatibilitat. El nostre sistema immunitari és molt sensible i versàtil, capaç de reconèixer, entre milions de combinacions de proteïnes, les que li són pròpies i diferenciar-les de les que no ho són, de manera que constitueix un mecanisme de defensa extremadament complex. Podríem dir que no hi ha dos éssers humans que comparteixin la mateixa dotació genètica pel que fa a antigens d'histocompatibilitat (fora dels bessons monozigòtics), tot i que podríem agrupar la població humana segons la seva major o menor compatibilitat, és a dir, segons comparteixin o no un determinat nombre d'antigens. Això explica la importància de la histocompatibilitat en el trasplantament d'òrgans o cèl·lules, perquè en altre cas es produeix un xoc agut que causa la mort del receptor no compatible en qüestió d'hores.

Fins i tot en el supòsit de disposar d'un banc molt complet de cèl·lules mare embrionàries, no és factible disposar de totes les possibles combinacions genètiques, sinó tan sols d'unes quantes, i per tant no quedaria resolta la necessitat del tractament immunosupressor del donador. El cost de manteniment i emmagatzematge no és pas de desdenyar. Per tant, la possible aplicació de les línies de cèl·lules mare embrionàries disponibles és, en gran part, el coneixement que se'n pot derivar sobre els mecanismes necessaris per controlar la seva diferenciació, més que no pas una aplicació immediata.

Tal com ja s'ha comentat, el clonatge terapèutic oferiria l'avantatge de la total identitat genètica de les cèl·lules obtingudes. Però també hi ha alguns inconvenients que caldria considerar adequadament, com ara el cost econòmic de generar cada cop un embrió somàtic, i la limitació temporal, ja que el temps que cal per generar les cèl·lules necessàries per a un determinat tractament podria ser crític per a algunes de les aplicacions, que necessitarien disposar de cèl·lules o teixits en un temps limitat, per exemple, per ser

emprades en empelts de pell a cremats, o per a tractaments de reforç de les cèl·lules de múscul cardíac a infarts de miocardi. És obvi que cap teràpia no pot arribar a ser la panacea per a totes les patologies, sinó que per a cada malaltia concreta cal plantejar el millor tractament possible, i que el clonatge terapèutic pot oferir tractament per a algunes de les malalties actuals de difícil tractament o curació.





## LIMITACIONS CIENTÍFIQUES DEL CLONATGE TERAPÈUTIC

Abans de plantejar el seu ús en éssers humans, hi ha diverses qüestions crucials sobre el clonatge terapèutic que cal resoldre: la seva viabilitat, la seva eficàcia i la seguretat de la seva utilització. Sabem que una reprogramació errònia del nucli és la causa més freqüent de desenvolupament aberrant i de fenotips anormals en les espècies de mamífers en què s'ha aconseguit obtenir individus clònics. Aquesta reprogramació defectuosa, podria impedir l'ús terapèutic de cèl·lules mare embrionàries obtingudes mitjançant el clonatge?

Les dades de què disposem fins ara indiquen que la diferenciació *in vitro* de les cèl·lules mare embrionàries no es veu compromesa pel fet que hagin estat generades mitjançant un procés de SCNT, sinó que, en la majoria dels casos, n'hi ha prou amb la reprogramació nuclear. Cal no oblidar que no es pretén obtenir un embrió i un fetus totalment viables, en el qual totes i cadascuna de les cèl·lules han de complir la seva funció per a un desenvolupament correcte de l'organisme, sinó que les cèl·lules són disgregades en un estadi molt inicial (blastocist), i només creixen adequadament en cultiu les que tenen les característiques de cèl·lules mare embrionàries. El mateix procés de cultiu cel·lular selecciona les cèl·lules que es comporten correctament, i descarta les que tenen una reprogramació nuclear defectuosa. Aquest procés no pot produir-se en un embrió o un fetus en què la reprogramació nuclear correcta és un requisit indispensable per a un desenvolupament fetal normal. Per tant, en principi, sembla que no hi ha limitacions a la pluripotència de les cèl·lules mare embrionàries obtingudes per SCNT i, en conseqüència, a la seva capacitat de diferenciació i viabilitat. Tot i així, rara vegada pot oferir un científic una certesa absoluta, sinó només racional i basada en dades estadístiques. Novament, només una recerca apropiada en cèl·lules mare embrionàries humanes permetrà respondre adequadament a aquestes i altres preguntes sobre la viabilitat i la seguretat d'una possible teràpia cel·lular a partir d'aquestes cèl·lules.



## LES CÈL·LULES MARE DE L'ADULT

Les investigacions portades a terme en els darrers anys demostren que hi ha cèl·lules mare (*stem cells*, en anglès) a l'individu adult i que aquestes cèl·lules, tot i ser limitades en nombre, estan distribuïdes en nombrosos teixits i suposen un reservori de recanvi cel·lular. Els resultats obtinguts indiquen que l'ús de cèl·lules mare de l'adult pot ser una alternativa viable i complementària a l'ús de cèl·lules mare embrionàries generades per SCNT. Certament, les cèl·lules mare de l'adult poden ser una possible font de cèl·lules autòlogues per a trasplantament o substitució tissular o cel·lular. Se les ha pogut aïllar de diversos teixits, com la medul·la òssia, el sistema nerviós, la pell, el teixit adipós, i els endotelis i músculs, i sembla que podrien tenir un potencial de desenvolupament superior al que inicialment s'havia pensat, sobretot pel que fa a les cèl·lules mare de la medul·la òssia.

Tanmateix, hi ha certs problemes tècnics en la seva identificació i aïllament, que caldria investigar i resoldre abans d'emprar-ho. En primer lloc, l'accessibilitat: hi ha teixits als que es pot accedir de manera relativament senzilla per extreure'n cèl·lules mare, com per exemple la medul·la òssia, el teixit adipós, l'endoteli, la pell o, fins i tot, els músculs, però a altres teixits, com el sistema nerviós, els neuroblasts són escassos i de difícil accés, i la seva extracció pot comprometre el funcionament de la resta del sistema nerviós. Aquest problema quedaria resolt si es confirmés la versatilitat que semblen tenir les cèl·lules mare de la medul·la òssia. En segon lloc, el seu nombre: com que la seva funció biològica és el recanvi cel·lular, la reserva de cèl·lules mare embrionàries a l'adult és finita i hi ha un procés de depleció, en què el nombre disminueix amb l'edat. En tercer lloc, les cèl·lules són difícils de propagar en cultiu i mantenir el seu estat d'indiferenciació, probablement perquè es desconeixen les condicions necessàries per al seu cultiu, condicions que poden ser diferents per a cada tipus de cèl·lula mare. En tot cas, qualsevol teràpia cel·lular futura necessitaria cèl·lules diferenciades en una quantitat considerable. En quart lloc, i aquest és un inconvenient seriós per a alguns tipus de teràpia cel·lular, la seva baixa capacitat per a la manipulació genètica que contrasta amb la de les cèl·lules mare embrionàries, en què és molt més fàcil corregir un determinat defecte genètic i seleccionar les cèl·lules adequades per a un futur tractament. Finalment, i no menys important, el seu potencial

de diferenciació, és a dir, la seva plasticitat, sembla ser menor que el de les cèl·lules mare embrionàries, ja que les cèl·lules mare de l'adult són multipotents, perquè en el seu desenvolupament ja han patit una programació específica que les determina cap a certes pautes de diferenciació i els impedeix, o dificulta, altres pautes. Hi ha alguns experiments de transdiferenciació que, en la majoria dels casos, és limitada i que, en altres, encara no està clar si no són conseqüència de fusions cel·lulars.

Per tant, el potencial terapèutic de les cèl·lules mare de l'adult roman encara per determinar. Tot i que la seva capacitat de diferenciació sembla més restringida i no presenta la versatilitat del potencial terapèutic de les cèl·lules mare embrionàries, cal no oblidar que presenten una compatibilitat genètica total amb el donador, sense necessitat de recórrer a tècniques de SCNT. A més, és possible que en el futur es pugui treballar amb cèl·lules mare pluripotents en l'adult, i és obvi que, des del punt de vista científic, en cada cas cal utilitzar el tipus cel·lular més adequat pel pacient, independentment que el seu origen sigui un embrió gamètic, un embrió somàtic o un adult. Per tant, l'ús de cèl·lules mare embrionàries obtingudes per clonatge terapèutic i l'ús de cèl·lules mare de l'adult han de considerar-se estratègies complementaries més que no pas contraposades, ja que segons la malaltia i les cèl·lules afectades, serà més convenient recórrer a una aproximació terapèutica o a l'altra.

Convé considerar que, tenint en compte que la informació obtinguda en les investigacions en cèl·lules mare embrionàries i en cèl·lules mare d'adults sobre els processos de diferenciació/desdiferenciació serà totalment complementària, en un futur, si la recerca sobre ambdós tipus de cèl·lules prospera, potser es podrà desdiferenciar completament cèl·lules mare multipotents de l'adult, després d'una correcta reprogramació nuclear, per tal d'obtenir cèl·lules pluripotents, similars a cèl·lules mare embrionàries, sense que calgui recórrer a la donació d'òcits (que és sempre una dificultat afegida), ni al clonatge terapèutic mitjançant SCNT. Per a això, caldrà comprendre millor els processos de diferenciació i desdiferenciació cel·lular, per tal que, a partir de cèl·lules mare somàtiques d'un pacient, es puguin obtenir cèl·lules pluripotents per una banda i, per altra, es puguin diferenciar homogèniament cap al tipus

cel·lular concret que calgui per a la teràpia cel·lular o tissular. Per exemple, el factor de transcripció embrionari Oct-4 és necessari per a la regulació i manteniment de l'estat de pluripotencialitat durant el desenvolupament. Conèixer la regulació d'aquest factor de transcripció i els seus gens diana permetrà, molt probablement, manipular aquest gen en cèl·lules somàtiques, per tal de desdiferenciar-les i reprogramar-les cap a un estadi pluripotent, similar a l'embrionari.



## ASPECTES ÈTICS

Des d'un punt de vista ètic, l'ús científic o terapèutic d'embrions humans planteja sobretot un dubte: la legitimitat o il·legitimitat ètica d'emprar embrions per a una finalitat diferent de la que semblen estar destinats els embrions, és a dir la reproducció. Aquest dubte o problema va unit a un altre, aparentment de més gran envergadura, relatiu a la humanitat o dignitat de l'embrió. Tenint en compte que alguns sectors consideren que un embrió és una persona en potència, emprar-lo amb finalitats diferents a la d'obtenir un ésser humà seria la usurpació d'una tasca que no ens correspon. La recerca és vista, en aquest cas, com una forma de pervertir la natura de l'embrió i, allò que per a aquests sectors és més greu, com la destrucció de quelcom que ha de ser vist com un ésser humà.

En aquest cas, el problema no és científic, ni tan sols ètic, sinó religiós. Des de sempre, s'ha discutit, en filosofia, quin és el moment en què l'ésser humà comença a ser-ho, és a dir, en quin moment, des de la producció de l'embrió fins el naixement, podem parlar de que existeix un individu o una persona. Com que la qüestió no té una resposta empírica, per resoldre-la cal acudir a la religió o a la metafísica, és a dir, cal buscar una resposta basada en una doctrina, més derivada d'unes creences o conviccions religioses o ideològiques, que no pas d'una argumentació estrictament racional. L'embrió és, sens dubte, un ésser humà en potència, però només en potència, com ho és el fetus en les primeres setmanes de desenvolupament. Només un acord social unànim que afirmés la dignitat humana de l'embrió podria impedir-nos acceptar la recerca amb embrions. Aquest acord, en aquests moments, no existeix, ja que les posicions més extremes a favor de la humanitat de l'embrió són deutores de doctrines religioses. I la religió no és universalitzable ni és legítim imposar les seves creences al conjunt de la població.

La postura més radicalment contrària a la legitimitat ètica de la recerca amb embrions és la que prové de conviccions dogmàtiques i s'oposa a ella si els embrions provenen de la fecundació *in vitro*, si són el resultat d'avortaments o si s'obtenen amb tècniques de clonatge. En tots els casos, es produeix igualment una interrupció del desenvolupament de l'embrió com a unitat biològica, i per tant queda avortat un procés que és considerat com a "natural".

Els grups pro vida, defensors d'aquest punt de vista, parteixen del supòsit que l'ésser humà ho és des de la fecundació, que la humanitat o la dignitat li és tan inherent a l'embrió com a la persona i que emprar l'embrió com a mitja per a altres interessos i no com a una finalitat en si mateix és tan pecaminós com un assassinat.

Una postura més tolerant i millor disposada en vers la recerca amb embrions produïts per la fecundació *in vitro* és la gradualista, que diferencia diferents fases en el desenvolupament de l'embrió, concretament abans i després dels catorze dies a partir de la fecundació. Abans dels catorze dies, hi ha una agrupació de cèl·lules encara indiferenciades. A partir del dia catorze, en canvi, apareixen els primers indicis del futur sistema nerviós de l'embrió, la formació de la línia cel·lular primitiva i l'inici del desenvolupament neuronal, i per tant es considera finalitzada la individualitat de l'embrió. Des d'aquesta perspectiva, no es nega que l'embrió humà mereixi un respecte i calgui protegir-lo, però el respecte i la protecció varien segons la fase en què es troba. D'aquesta manera, en nombrosos fòrums científics, ètics, legals i polítics, s'ha arribat a l'acord que no és legítim manipular l'embrió després dels catorze dies, però sí que ho és abans d'aquesta data. Es tractaria d'una protecció gradual, que aniria augmentant segons augmentés la seva viabilitat com a futur individu. Tenint en compte que molts embrions inicials es perden de manera natural, el que fa la tècnica no és gaire diferent del que ja passa sense cap intervenció externa. Hem vist, a més, que els embrions gamètics produïts per fecundació d'un òvul per un espermatozoide que s'empren en la recerca han perdut la seva finalitat reproductiva, perquè han deixat de formar part d'un projecte reproductiu, sigui *de facto* sigui *de iure*, i per tant les seves úniques destinacions possibles són la criopreservació indefinida, la seva destrucció o el seu ús per a la recerca. A més, la gradualitat en la protecció de drets, en aquest cas, segons l'edat de l'embrió, és d'ús comú en la teoria moral i en el dret sanitari.


La consideració de les diverses fases de desenvolupament per les que passa l'embrió no és compartida pels biòlegs darwinistes, que no entenen que la vida humana comenci a existir en un moment concret ni que tot el pes de

l'argumentació moral hagi de recaure en un moment determinat com l'origen de la vida humana. Tanmateix, la teoria és antiga i respon a la necessitat de tenir que determinar el començament de la vida humana, com si d'aquesta definició en depengués la moralitat o immoralitat de la manipulació d'embrions. Aristòtil, que ni tan sols somniava en el clonatge, es va preguntar ja quin era el moment concret en què la vida humana començava a ser racional i no purament vegetativa o sensitiva. El dubte aristotèlic va ser recollit després pels filòsofs medievals, sobretot Tomàs d'Aquino, que es va preguntar en quin moment l'ànima entrava al cos, donant naixement d'aquesta manera a una vida pròpiament humana. La pregunta no ha rebut mai una resposta unànime ni plenament convincent, i avui, amb altres termes, continuem donant-hi voltes a aquest mateix problema.

Tot el que s'ha dit fins aquí és vàlid només pel que fa a la recerca amb embrions que ja existeixen, i no per al clonatge mitjançant SCNT, que afegeix noves dimensions al problema de la legitimitat o il·legitimitat ètica d'aquestes qüestions.

Els judicis ètics pel que fa al clonatge cal dividir-los en dos àmbits fonamentals: que el clonatge embrionari es faci amb una finalitat estrictament terapèutica o que tingui una finalitat reproductiva. En el cas del clonatge reproductiu, la legitimitat ètica és molt més dubtosa que en els casos anteriors. L'embrió somàtic és un producte de l'enginy humà, ja que la tècnica de SCNT és una invenció humana, que no té cap equivalent biològic. En aquest cas, l'embrió somàtic és produït amb finalitats reproductives, però la tècnica no ha estat mai aplicada a éssers humans, i és probable que mai no ho sigui. Les raons són múltiples: es tracta d'un anacronisme inútil, el nombre de dones que haurien de participar en el projecte per tal d'aconseguir que naixés un únic ésser clònic és enormement elevat, el clonatge massiu, encara que fos possible, és antieconòmic i només és factible en el marc d'una dictadura absoluta en què els principis ètics no hi tinguessin cabuda, i hi ha un consens generalitzat que condemna la seva pràctica.

Pel que fa a la tècnica de SCNT o clonatge terapèutic, és també un producte de l'enginy humà, tot i que la seva finalitat és una altra. S'empra per obtenir



embrions somàtics destinats, no a la reproducció, sinó simplement a ésser cultivats fins l'estadi de blastocist, per tal de derivar a partir d'ells línies de cèl·lules mare amb finalitats terapèutiques i de recerca. Aquesta possibilitat no és rebutjada del tot, sinó que davant d'ella hi ha dues postures similars a les que s'enfronten en el cas de la recerca amb embrions que ja existeixen. La primera postura prové de l'ortodòxia catòlica i, com en el cas anterior, nega absolutament la moralitat de la tècnica, basant-se en la doctrina que l'embrió no és utilitzable mai ni ha de ser produït per a cap finalitat que no sigui la reproductiva. Es rebutja no tant la tècnica en si mateixa, sinó la intervenció humana en un procés que només es concep com a natural.

La segona postura mostra una certa disposició a acceptat el clonatge amb finalitats terapèutiques sempre que estigui justificat per una d'aquestes dues raons: 1) que els embrions obtinguts per FIV siguin insuficients; 2) que el clonatge permeti obtenir teixits autogènics, terapèuticament més prometedors que els obtinguts mitjançant embrions existents. Com a argument bàsic i que fonamenta els altres, n'hi ha un tercer, que és el de la solidaritat: tenint en compte que hi ha tècniques que si es desenvolupen podrien permetre guarir malalties que abans eren incurables, no hi ha cap raó que impedeixi utilitzar-los, amb tots els controls i prevencions necessaris, per tal de millorar l'existència d'algunes persones o fins i tot evitar la reproducció de patologies inevitables amb aquest mitjans. L'anomenada "tercera generació de drets humans" apunta a les nostres obligacions pel que fa a les generacions futures. La utilització d'embrions que ja existeixen o el clonatge d'embrions, pel bé d'aquestes generacions no pot ser vista com una cosa reprobable des d'una ètica racional o laica. És una aportació més a les finalitats de la medicina, i una oferta possible de teràpies substitutives de tractaments insatisfactoris o poc generalitzables.


El temor als efectes o utilitzacions indesitjables és un dels motius que posen més frens al desenvolupament i l'acceptació jurídica de qualsevol procediment innovador. És el temor a l'anomenat "pendent relliscós" que pot donar lloc a totes les aberracions imaginables o possibles. S'acostuma a dir, doncs, que si finalment es legalitza el clonatge amb finalitats terapèutiques, acabarà



emprant-se també amb finalitats reproductives. O sigui, que si es permet investigar amb embrions sobrants de les tècniques de FIV, es tendirà a produir més embrions que no pas calen. Els temors no són pas poc fonamentats, ja que la naturalesa humana no és angèlica i els seus desigs d'innovar, experimentar o satisfer interessos diversos han de tenir limitacions. Però aquest mateix temor s'ha manifestat cada cop que s'ha produït alguna cosa nova, que després ha resultat ser un progrés per a la humanitat. Una ètica racional o laica, no s'oposa a la innovació ni al canvi, però exigeix que es continuïn respectant els valors i drets fonamentals, és a dir, que els canvis es portin a terme responsablement.

Per tant, de tot allò que s'ha dit no es desprèn que, un cop oberta la veda a la recerca amb embrions o al clonatge terapèutic, tot pugui estar permès. La legislació haurà de preveure les cauteles i controls necessaris per tal que les finalitats i el mitjans utilitzats siguin coherents amb els drets fonamentals. Un d'aquests drets, que ja es té en compte en aquest moment, consisteix en obtenir el consentiment de les parelles que siguin donadores possibles d'embrions, o de les dones que puguin ser donadores d'òvuls. En general, el desenvolupament científic conté moltes incerteses, i per tant és imprescindible aconseguir el màxim consens sobre les qüestions a legislar i realitzar un seguiment i un control rigorós de la pràctica investigadora.

A més, hi ha dues altres consideracions que tenen derivacions ètiques evidents. Per una banda, el seguiment rigorós de les investigacions amb cèl·lules mare, sigui les que provenen de l'adult, sigui les cèl·lules mare embrionàries derivades d'embrions generats per SCNT o embrions descartats després de la FIV, per a un ús en medicina regenerativa hauria d'incloure una anàlisi exhaustiva dels possibles riscos, i també dels probables beneficis de les teràpies derivades d'aquesta mena de recerca per als possibles pacients. Només uns observadors informats i sense prejudicis podrien avaluar sense desviacions la possible aplicabilitat dels avenços en una recerca que combina aspectes bàsics i clínics. En aquest sentit, cal ser molt cautes amb la informació que rep l'opinió pública, que hauria d'ésser sempre rigorosa i contrastada, tot procurant no generar expectatives poc fonamentades pel que fa a una possible o pròxima aplicació terapèutica d'unes tècniques que encara són en procés d'investigació.



Per altra banda, caldria considerar la possible distribució i accessibilitat dels avenços de la medicina regenerativa derivada d'aquestes investigacions. Hem de recordar que, en un estat del benestar, hi ha un sistema sanitari de cobertura pública i universal que ha de vetllar per a l'increment de la salut en tota l'escala social. És per això que seria lògic i recomanable que no es deixés exclusivament en mans d'empreses o institucions privades la recerca en aquests camps, ja que podria desembocar, en el futur, en un ús únicament privat i amb finalitats lucratives d'una teràpia que podria millorar la qualitat de vida de molts pacients. Si es generés un marc legal adequat, caldria considerar la necessitat d'invertir fons públics en una recerca que pot donar resultats que beneficiïn el conjunt de la societat, independentment del poder adquisitiu del pacient en qüestió. Èticament, seria reprovable que, degut a manca d'acció o desídia dels governs, només podessin accedir a aquest tipus de teràpies els pacients amb un determinat poder adquisitiu, perquè les investigacions haguessin estat patrocinades tan sols per empreses privades.

## ASPECTES LEGALS

Actualment, la legislació sobre la SCNT és gairebé inexistent, sobretot degut a que es tracta d'un procediment que fins l'any 2004 no havia donat resultats, i també a que la majoria de països prohibia la SCNT de manera genèrica, igual que el clonatge reproductiu. En aquest apartat, s'analitza la situació existent a inicis de l'any 2005, que pot haver canviat quan es publiqui aquest quadern.

L'Organització de Nacions Unides, el 18 de febrer de 2005, va aprovar una recomanació no vinculant, presentada per Hondures, i liderada per Costa Rica i els Estats Units, que prohibia qualsevol tipus de clonatge, sigui reproductiu sigui terapèutic, i que considerava que el clonatge atenta contra la dignitat humana. En la votació es varen abstenir tots els països islàmics, i alguns països, com ara el Regne Unit i Bèlgica, van anunciar immediatament després de la votació que no farien cap cas de la proposta, i continuarien amb les seves investigacions en clonatge terapèutic.

Als Estats Units d'Amèrica, està prohibit l'ús de fons públics federals per a la recerca sobre cèl·lules mare, però cada Estat de la Unió pot tenir la seva pròpia legislació estatal sobre la qüestió. Al Novembre de 2004, Califòrnia va aprovar la recerca amb cèl·lules mare mitjançant un referèndum.

A l'est d'Àsia, Corea del Sud autoritza el clonatge terapèutic. A Singapur, està en estudi la prohibició.

A Europa, la SCNT és legal al Regne Unit des de 2001, i a Bèlgica des de 2004. A Suècia, és legal des del primer d'abril de 2005, i a Finlàndia la legislació la permet, però no hi ha hagut sol·licituds d'aprovació de projectes fins ara. Cal assenyalar que, tot i que Suècia i Finlàndia varen signar el Conveni d'Oviedo sobre Biomedicina, no el varen ratificar posteriorment.

A Finlàndia, la Llei de Recerca Mèdica de 1999 permet investigar amb embrions fins als 14 dies, però prohibeix la creació d'embrions per a la recerca. Tanmateix, defineix la creació d'embrions com la fusió de gàmetes, i per tant la SCNT està autoritzada.

Espanya va signar el Conveni i el va ratificar. Per aquest motiu, no pot legalitzar el clonatge terapèutic amb finalitats de recerca o experimentació. En canvi, sí



que pot autoritzar el clonatge terapèutic per al tractament de pacients concrets, i fins i tot per a assaigs clínics, és a dir, accepta que investiguin altres per aplicar després els resultats, la qual cosa no deixa d'implicar un cert fariseisme pel que fa a la moral i un cost econòmic considerable. Tanmateix, cal no oblidar que el Tribunal Constitucional defensa els drets de l'embrió, sempre que tingui vida i sigui viable. Un embrió gamètic, descartat després de la FIV, o un embrió somàtic generat per SCNT no són, en principi, viables, tal com ja s'ha comentat, i per tant quedaria una via oberta per a una possible recerca en el futur.

En conseqüència:

1. El govern d'Espanya hauria d'emprar els mitjans que té al seu abast per autoritzar el clonatge terapèutic de la forma més àmplia que permeti el context legal de la Unió Europea, i finançar la recerca amb cèl·lules mare provinents de la transferència nuclear de cèl·lules somàtiques.
2. Els projectes haurien de ser avaluats individualment i aprovats, en el seu cas, per l'organisme competent.
3. Caldria permetre la donació d'òocits en el context legal indicat. El consentiment informat signat per les donadores hauria d'incloure aquest pressupòsit. La compensació econòmica hauria de ser la mateixa que en la donació d'òocits per a la reproducció. Caldria assegurar l'anonimat de la donadora.

De manera similar, s'hauria de permetre la donació de cèl·lules somàtiques per a l'extracció del nucli i la utilització en la transferència de nuclis de cèl·lules somàtiques (SCNT), per a un ús en teràpia cel·lular. El consentiment informat signat pels/per les donadors/es hauria d'incloure aquest pressupòsit.

4. La normativa que regula la recerca amb embrions hauria d'aplicar-se substituint "pare" i "mare" per "donador d'òocits" i "donador de nuclis".
5. S'hauria de prohibir la transferència a l'úter dels productes d'una SCNT.
6. S'hauria de prohibir el clonatge reproductiu.

## ON SOM? QUÈ ENS RESERVA EL FUTUR?

Malgrat la promesa terapèutica que ofereixen les cèl·lules mare embrionàries, obtingudes o no per SCNT, i les cèl·lules mare de l'adult, som en fases molt incipients del coneixement sobre la seva potencialitat i sobre la seva versatilitat i els resultats són encara preliminars. Caldrà un considerable esforç de recerca consistent i rigorosa, a l'àmbit cognitiu i també a l'experimental, abordada des de múltiples camps no només científics sinó també de consciència social, per tal d'oferir expectatives reals d'aplicabilitat que, en tot cas, no seran en un futur immediat.

Tanmateix, no és pas impensable suposar que si la recerca sobre cèl·lules mare embrionàries i clonatge terapèutic continua, es pugi oferir en el futur una font renovable i versàtil de teixits i cèl·lules per a la teràpia de substitució a multitud de malalties que no tenen encara, en el millor dels casos, altre tractament pal·liatiu que el trasplantament provinent d'un donador compatible.



## GLOSSARI:

**Cèl·lules germinals:** cèl·lules de les gònades que generen gàmetes i, per tant, passen el seu material genètic a la descendència. En la formació dels gàmetes, calen diversos processos que afecten a la reordenació i expressió del material genètic: entre ells, la meiosi, per tal de generar gàmetes haploides ( $n$ ) i la reprogramació nuclear, de tal manera que tota la informació genètica nuclear sigui accessible per a la seva expressió a l'embrió.

**Cèl·lula mare:** cèl·lula que té la capacitat de reproduir-se, de tal manera que s'obtenen cèl·lules filles de les mateixes característiques, o bé cèl·lules filles que poden seguir patrons concrets de diferenciació. S'anomenen multipotents (**cèl·lules mare adultes**) o pluripotents (**cèl·lules mare embrionàries** del blastocist), si poden diferenciar-se cap a diversos tipus cel·lular diferents, o totipotents (cèl·lules de l'embrió inicial en divisió) si poden generar tots els tipus cel·lulars d'un individu. Si provenen d'un embrió s'anomenen **cèl·lules mare embrionàries** (en anglès **Embryonic Stem Cells** o **cèl·lules ES**). Si provenen d'un adult reben el nom de **cèl·lules mare de l'adult** i, en general, el seu potencial de diferenciació és menor.

**Cèl·lules somàtiques:** cèl·lules que formen part d'un individu, però que no participen en la formació de gàmetes. El seu material genètic no passa a la descendència. La majoria són cèl·lules diferenciades, que realitzen una funció concreta, i part tant només s'expressa una part del seu DNA.

**Zigot:** embrió inicial obtingut per fecundació d'un òvul ( $n$ , haploide) per part d'un espermatozoide ( $n$ , haploide). Primera cèl·lula diploide ( $2n$ ) a partir de la qual es desenvoluparà un nou individu.

**Clonatge reproductiu:** procés mitjançant de qual es genera un embrió somàtic amb la finalitat d'obtenir un individu genèticament idèntic a un altre.

**Clonatge terapèutic:** procés mitjançant el qual es genera un embrió somàtic que mai no serà implantat, sinó disgregat *in vitro* per tal d'obtenir cèl·lules mare embrionàries genèticament idèntiques a les de l'individu donador del nucli.

**Embrió gamètic:** embrió que es desenvolupa a partir d'un zigot (diploide) obtingut per fecundació d'un oòcit (haploide) per part d'un espermatozoide (haploide) i que té com a finalitat biològica la reproducció. Aquest embrió pot haver estat generat *in vivo* o *in vitro*. Si l'embrió s'implanta, el percentatge de viabilitat acostuma a ser elevat.

**Embrió somàtic:** embrió que es desenvolupa a partir de la transferència del nucli d'una cèl·lula somàtica (diploide) a un oòcit enucleat (al qual s'ha extret el nucli). La seva generació és totalment *in vitro* i no prové de cap procés reproductiu ni de fecundació i, per tant, no té cap equivalent biològic i li cal la intervenció i intencionalitat humanes per generar-lo. El seu objectiu en el clonatge terapèutic és produir cèl·lules mare embrionàries per a la seva posterior diferenciació. Ni pel que fa a l'origen ni pel que fa a la finalitat és equiparable a un embrió generat per fecundació. Fins i tot amb les tècniques actuals més avançades i en el millor dels models animals, menys d'un 1-5% dels embrions somàtics generats per a un clonatge reproductiu arriben a terme, i fins i tot aquests presenten nombroses desviacions pel que fa a l'expressió del seu material genètic.

**Reprogramació nuclear:** denominació general de múltiples processos que tenen com a resultat conduir a l'accessibilitat de tota la informació genètica, tot eliminant les modificacions epigenètiques, és a dir, sobreposades al material genètic, durant el desenvolupament embrionari i la diferenciació cel·lular.

**SCNT:** Sigles en anglès de Transferència Nuclear de Cèl·lula Somàtica, en què el nucli extret d'una cèl·lula somàtica, no involucrada en la reproducció, és introduït en un oòcit enucleat (sense nucli), per tal de generar un embrió somàtic, genèticament idèntic a l'individu donador. Aquest embrió somàtic pot ésser utilitzat en el clonatge terapèutic o reproductiu.



## AGRAÏMENTS:

Per redactar el present document s'ha comptat amb la col·laboració dels experts següents:

- **Dr. Jordi Alberch**, Professor del Departament de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica de la Universitat de Barcelona.
- **Dra. Margarita Boladeras**, Catedràtica de Filosofia Moral de la Universitat de Barcelona.
- **Dra. María Casado**, Directora de l'Observatori de Bioètica i Dret del Parc Científic de Barcelona.
- **Dra. Carme Nogués**, Professora Titular de Biologia Cel·lular de la Universitat Autònoma de Barcelona.
- **Dra. Encarna Roca**, Catedràtica de Dret Civil de la Universitat de Barcelona.
- **Dr. Carlos Romeo Casabona**, Catedràtic de Dret Penal de la Universitat del País Basc.
- **Dr. Carlos Simón**, Director Científic del Instituto Valenciano de Infertilidad.
- **Dra. Verena Stolcke**, Catedràtica del Departament d'Antropologia Social de la Universitat Autònoma de Barcelona.





## Clonación terapéutica: perspectivas científicas, legales y éticas

Redacción a cargo de:  
Gemma Marfany  
Josep Egozcue  
Victoria Camps

Edita: Fundació Víctor Grífols i Lucas



## PRESENTACIÓN

Muchos temas biomédicos, con implicaciones éticas y políticas importantes, captan la atención del gran público sin que se llegue a dar la información suficiente para que se produzcan debates sólidos y razonables. Los problemas suscitados por la investigación con células madre embrionarias son de este tipo. Se hacen manifestaciones públicas, se anuncian descubrimientos, los políticos protagonizan declaraciones de signos diversos, las asociaciones de enfermos se pronuncian y presionan, se abren expectativas, pero muy pocos podrían hablar con conocimiento de causa y con fundamento. En concreto, el tema de la clonación de embriones, denominación vulgar para “la clonación por transferencia nuclear de células somáticas”, emerge periódicamente, rodeado de todos los fantasmas y tabúes que acompañan a la idea de clonación. Lo único que con ello se consigue es provocar unas cuantas declaraciones mediáticas y desconcertar a la opinión pública.

El presente documento, realizado a iniciativa del patronato de la Fundació Víctor Grífols i Lucas, pretende contribuir a difundir información sobre el estado actual de la investigación con células madre y la clonación terapéutica. El objetivo no es otro que ayudar a crear opinión y a profundizar en el debate público desde el convencimiento de que la información es condición necesaria para avanzar en el conocimiento y para que las opiniones sean razonables.

El análisis llevado a cabo aborda los aspectos científicos, éticos y legales de la cuestión. Razona sobre los distintos enfrentamientos derivados de posturas ideológicas discrepantes. Apunta los cambios legislativos y las propuestas políticas que serían deseables dado el estado actual de la cuestión. Todo ello deriva de la convicción que compartimos de que importa seguir reflexionando sobre el lugar de la ciencia, la responsabilidad de los científicos y sobre la necesidad de establecer pactos políticos que hagan frente a nuestro aún débil desarrollo científico y tecnológico. Conviene, en cualquier caso, no olvidar que el objetivo último de la ciencia es el ser humano y su mayor bienestar, objetivo sólo abordable desde la discusión y el diálogo. A tal fin, es imprescindible que la ciudadanía tenga una información correcta sobre los descubrimientos científicos y tecnológicos. Sólo de esta forma, la discusión sobre los usos correctos de la ciencia podrá darse sobre una base de auténtica libertad.

## CLONES Y CLONACIÓN

Muchos seres vivos se reproducen por clonación, es decir, generan copias idénticas de sí mismos mediante un proceso que recibe múltiples denominaciones, desde reproducción asexual a escisión, y cuyo objetivo es incrementar el número de individuos, produciendo clones. El caso más conocido es el de las bacterias, pero también se da en hongos, esponjas, corales, medusas y otros muchos organismos.

Ahora bien, en la naturaleza coexisten diferentes formas de reproducción. La reproducción mediante clonación es la más antigua desde el punto de vista evolutivo. Un individuo posee una información genética que transmite, en teoría sin variaciones, a sus descendientes, pero como que al replicarse se incorporan siempre pequeños cambios (mutaciones) en la información genética, éstos pasan a la descendencia y son así sujetos a la selección natural. La evolución sobre esta base, sin embargo, ocurre lentamente, al partir de individuos casi idénticos. La reproducción sexual surgió como un mecanismo de adquisición y transmisión de una mayor variabilidad genética y, como tal, triunfó y fue seleccionada rápidamente en numerosas especies, ya que generaba nuevos individuos con características diferentes, aún cuando similares, a sus progenitores.

Con todo, la clonación continua estando presente en todos los organismos, ya que desde la creación del cigoto, originado por la unión de dos gametos, todo el organismo se genera por clonación de la información genética inicial, seguida de una posterior diferenciación celular. Además, ocasionalmente, nacen gemelos (mellizos monocigóticos), que aunque reciben el nombre de gemelos idénticos y son idénticos genéticamente, distan mucho de serlo en sus características (fenotipo), puesto que, aparte de ser físicamente muy parecidos, en todo lo demás son personas tan distintas como cualquier otra pareja de hermanos no gemelos. Por tanto, la clonación no es antinatural ni es sinónimo de manipulación genética, sino que es inherente a la especie humana.

Entonces, ¿de dónde surge la preocupación social por el fenómeno de la clonación? ¿Por qué el término “clon” despierta en muchos el temor de una posible manipulación y control de la especie humana?

El detonante fue la publicación por Aldous Huxley de la novela *Brave New World*, traducida como “*Un mundo feliz*”, a la que siguieron numerosas producciones literarias y cinematográficas, en todas las cuales se insistía en una forma de clonación que no sólo es ilógica sino que, además, es técnicamente imposible: la producción masiva de subhumanos o de ejércitos clónicos. Por otra parte, ya desde la década de los 70, se acuñó el término “clonación” en el campo de la ingeniería genética para designar la generación de construcciones de ADN recombinante y el uso generalizado de esta palabra en medios científicos y no científicos le ha conferido, en el inconsciente colectivo social, un matiz semántico de manipulación genética. Así, pues, no es de extrañar que la clonación del primer mamífero, la oveja Dolly, hiciese aflorar de nuevo estos temores, amplificados hasta el infinito por los medios de comunicación, hasta el punto de que quienes se oponen a la clonación terapéutica son los más interesados en que la palabra “clonación”, que por sí misma produce ya un cierto rechazo, figure en el debate social sobre el tema. Tampoco ha ayudado el hecho que personajes desaprensivos y no científicos hayan aprovechado el fenómeno y la publicidad gratuita para anunciar la consecución de humanos clónicos, lo cuál es patentemente falso.

A pesar de que este documento pretende centrarse en los conocimientos actuales y perspectivas de futuro que ofrece la investigación sobre clonación terapéutica, es decir, en la obtención de células obtenidas por transferencia nuclear de células somáticas (cuya información genética es idéntica a la del individuo dador) para su uso en terapia celular, debemos aclarar cuáles son sus diferencias con la llamada clonación reproductiva, la cuál, partiendo de la misma tecnología *a priori*, tiene un objetivo intrínseco radicalmente distinto, la creación de individuos genéticamente idénticos. Para ello, dedicaremos una parte de nuestros esfuerzos a clarificar y contraponer la tecnología, limitaciones y objetivos de ambos tipos de clonación.

## LA CAJA DE PANDORA, DOLLY

Todo nuevo avance científico debe ser percibido en su contexto y evaluado en perspectiva. La clonación terapéutica en humanos debe su origen al desarrollo de la clonación reproductiva en mamíferos. Y ésta última surgió como respuesta, muy poco eficiente hasta el momento, a un problema científico y farmacológico real: la obtención de productos, como hormonas y enzimas, que sólo pueden obtenerse en su forma biológica activa a través de un organismo vivo. Por tanto, en último término, estamos hablando de un problema de alcance social, no del capricho de unos pocos científicos encerrados en su torre de marfil y ajenos a la realidad.

Los últimos 30 años han sido testigos del rápido desarrollo de novedosas técnicas de ingeniería genética que han permitido manipular genéticamente a ciertos organismos en el laboratorio. Empezando por la introducción de nuevo material genético, o ADN recombinante en la bacteria *Escherichia coli*, pronto se diseñaron estrategias de manipulación genética de organismos más complejos, como la mosca del vinagre (*Drosophila*) o el ratón. Estos métodos permiten introducir material genético nuevo en el genoma del individuo. La nueva información genética se denomina transgen, y el organismo que ha sido manipulado organismo transgénico.

Una de las aplicaciones más útiles y rentables de los animales transgénicos es la producción de sustancias farmacológicamente activas, que son de difícil o imposible obtención mediante síntesis química. Estas sustancias sólo se pueden producir a partir de células vivas, método excepcionalmente costoso, o utilizando organismos vivos como máquinas que produzcan la sustancia de forma que su obtención sea relativamente sencilla. Para ello, los animales productores de leche son organismos ideales, ya que se les pueden introducir genes humanos, para su posterior secreción a través de las glándulas mamarias de vacas, ovejas, cabras, etc.

En el Instituto Roslin, en Escocia, se investigaba desde hacía años, la posibilidad de obtener animales transgénicos de interés farmacéutico. Muchos laboratorios asociados a diversas empresas farmacéuticas compartían el mismo objetivo. El principal escollo con que topaban es que después de múltiples esfuerzos para obtener el animal transgénico adecuado, que produjera

suficiente cantidad de la sustancia de interés en la leche (por tanto, hembra), esta capacidad solía perderse cuando el transgen era transmitido a la descendencia mediante reproducción sexual, única forma conocida en animales superiores para incrementar el número de individuos con el transgen. Los descendientes heredaban una nueva combinación genética y, por tanto, la respuesta de sus genes, incluido el transgen, variaba respecto a la de su madre.

¿Cómo mantener las características deseadas del costoso organismo transgénico inicial? Para los horticultores y floricultores la solución es muy simple, ya que los vegetales permiten la clonación de maneras diversas y variadas, lo que facilita obtener múltiples copias idénticas de una nueva cepa especialmente deseable por sus características. ¿Por qué no emular a la naturaleza y adaptar esta estrategia a los animales? Los investigadores desarrollaron una nueva técnica por la cual, a partir de un organismo adulto, que posee las características que deseamos, se pueden obtener nuevos individuos, genéticamente idénticos.

Así nació la famosa oveja Dolly, la primera oveja clónica, clon de una hembra adulta de 6 años. Este proceso de clonación (que hasta ahora no ha variado en su procedimiento) se basa en la extracción de núcleos (donde se encuentra el ADN o información genética) de células somáticas (es decir, del cuerpo o soma y, por tanto, no germinales) de distintos tejidos para introducirlos en óvulos a los que previamente se les ha extraído el núcleo. Después de numerosos intentos se produjeron casi trescientos óvulos con núcleos somáticos, pero casi todos ellos fallaron de entrada, dieron lugar a embriones defectuosos que fueron abortados de forma espontánea, o a fetos muertos al nacer. Sólo uno de estos intentos originó una oveja viva y, aparentemente, normal. No mucho más tarde, el mismo grupo obtuvo a Polly, la primera oveja clónica transgénica, que había sido el objetivo inicial de los investigadores, pero la atención y, sobre todo, la imaginación de la sociedad había sido ya previamente capturada por el avance anterior, que es el que ha quedado impreso como un hito absolutamente novedoso en la historia de la ciencia, a pesar de que muchos laboratorios estaban avanzando en el mismo tema y, tarde o temprano, se

hubiera conseguido una clonación. En parte, esto explica el relativo éxito de múltiples grupos que, a continuación, se lanzaron a comprobar y repetir los resultados pioneros del grupo escocés, consiguiendo resultados similares con terneros, conejos, ratones, etc.

Con este primer organismo, una oveja que, finalmente, fue eliminada prematuramente mediante eutanasia para evitarle el sufrimiento que la artritis y otras enfermedades le estaban causando, se abrió la caja de Pandora de la posible obtención de seres humanos clónicos idénticos y genéticamente manipulables, es decir, el material necesario para hacer realidad algunos de los sueños o de las pesadillas que el imaginario de la humanidad había creado.

Sin embargo, esta técnica, a pesar de parecer muy simple y directa, adolece de varios puntos críticos. El más importante es el hecho de que en todas las especies, para conseguir un individuo clónico nacido y aparentemente viable, han sido necesarios múltiples intentos, ya que el porcentaje de éxito es desalentadoramente bajo, de alrededor del 1-5% en el mejor de los casos. Hay especies, incluso, en las que esta técnica, por el momento, fracasa. ¿Por qué? ¿Cuáles son realmente estos puntos críticos?:

### **1.- Elevado número de óvulos y de madres de alquiler.**

Debido a que el proceso presenta un porcentaje de éxito tan bajo, se necesita un gran número de óvulos, varios centenares, para asegurar que alguno de los embriones obtenidos llegará a término con éxito, y aquí radica uno de los problemas principales. Los ovocitos maduros son difíciles de obtener. De forma natural las hembras de mamíferos maduran un número escaso de óvulos en cada ciclo, de uno a una docena, según las especies. Además, hay que utilizar úteros de alquiler y muchas de las especies en las que se ha intentado la clonación tienen embarazos con un solo embrión, o como mucho dos (ovejas, cabras, vacas,...), lo que implica disponer de un número muy elevado de madres de alquiler, de las cuales, en menos de un 1-5 %, el embarazo terminará con éxito. En animales de granja la disponibilidad de ovocitos maduros y de madres de alquiler es un inconveniente muy difícilmente solventable, pero en la especie humana supone un escollo imposible de superar.



## 2.- Del núcleo adulto al núcleo embrionario.

La procedencia y el estado de diferenciación del núcleo de la célula somática son cruciales. Como menos diferenciada esté la célula dadora, mayor probabilidad de éxito. Si se utiliza un núcleo de un embrión o de un feto, el porcentaje de éxito aumenta hasta a un 30 % de los intentos.

Una célula diferenciada contiene, en principio, toda la información genética de un organismo, pero solamente es accesible el ADN con la información relevante para el tejido en que se encuentra y la función que ejerce la célula dadora. Una célula diferenciada posee en su ADN un gran número de modificaciones producidas durante el proceso de diferenciación: es lo que se denomina cambios epigenéticos, que afectan principalmente a la expresión de los genes. En cambio, en un embrión temprano toda la información del ADN es necesaria y tiene que ser accesible: las células tienen potencialidad múltiple y según el proceso de diferenciación seguido pueden producir todos los tipos celulares de un organismo. Así, pues, el núcleo de una célula somática a la que se le cambia de contexto celular y se la sitúa en un ovocito enucleado, recibe señales que la obligan a adaptarse a su nuevo contexto, y sufre un proceso de reprogramación nuclear para permitir que toda la información genética sea potencialmente expresable, deshaciendo los cambios epigenéticos que su ADN había sufrido durante el proceso de diferenciación.

El lapso de tiempo en que la reprogramación nuclear debe ocurrir para convertir el núcleo de una célula somática en un núcleo compatible o similar al de un cigoto está predeterminado en cada especie, ya que tiene que suceder en el breve intervalo que transcurre desde la transferencia del núcleo al ovocito (homologable al proceso de fecundación), en que la información materna depositada en el óvulo toma el mando, hasta que los propios genes cigóticos deban expresarse para controlar el proceso de desarrollo. Se puede distinguir entre la reprogramación precigótica, que ocurre durante la formación de las células germinales, y la reprogramación postcigótica, que ocurre cuando el cigoto está ya formado. De todas estas modificaciones epigenéticas, las que causan el mayor porcentaje de fracasos en los embriones obtenidos por clonación son los defectos en la reprogramación precigótica, que afectan a la

expresión de la mayoría de los genes, y en particular a genes cruciales para el desarrollo embrionario, mientras que la reprogramación postcigótica suele ocurrir con normalidad, ya que el lapso de tiempo para su reajuste es más largo.

### **3.- Escasísimo porcentaje de éxito final.**

De hecho, el punto anterior se encuentra íntimamente relacionado con el porcentaje de éxito final. La clonación para obtener individuos, de momento, es un proceso ineficiente y propenso a errores que, habitualmente, conlleva el fracaso de la mayoría de intentos. La experiencia adquirida en las especies en las que se ha practicado la clonación indica que entre un 20% y un 30% de los embriones no consiguen ni siquiera llegar al estadio de blastocisto (día 5 después de la fecundación en humanos), por lo que no se implantarán, y del 70%-80% restante, la mayoría producen embriones o fetos con patrones de desarrollo aberrantes, que mueren intrauterinamente o perinatalmente. Tan sólo entre un 1%-5% llegan a término y, aunque sean aparentemente normales, presentan patrones de expresión génica distintos de los obtenidos por fecundación natural y muchos de ellos desarrollan enfermedades prematuramente.

Curiosamente, la mayoría de las numerosas voces procedentes del ámbito no-científico que se han alzado para apoyar o denostar las posibles aplicaciones de la clonación, suelen desconocer el verdadero alcance de la misma, muy poco eficiente, y de las numerosas dificultades técnicas que comporta. Por otra parte, la argumentación esgrimida hace mucho más hincapié en una posible aplicación reproductiva que en la vertiente, mucho más probable y factible desde un punto de vista técnico y científico, de la clonación terapéutica, como se comentará más adelante.

## CLONACIÓN POR TRANSFERENCIA NUCLEAR DE CÉLULAS SOMÁTICAS (SCNT)

Actualmente, los investigadores no utilizan el término clonación, demasiado ambiguo, para referirse al método que permite obtener un individuo clónico a partir de otro, sino el más preciso y tecnológico de “transferencia nuclear de células somáticas” (o sus siglas en inglés, SCNT). Esta técnica, como hemos comentado, no ha sufrido casi variaciones respecto a la inicialmente desarrollada por los investigadores del Instituto Roslin. Siempre se debe utilizar un ovocito receptor, detenido en un determinado estadio de su ciclo, al que se extrae el material genético, es decir, el núcleo (con 23 cromosomas), de forma que queda enucleado a la espera que se le introduzca otro núcleo dador, con la dotación cromosómica completa (46 cromosomas). Este nuevo material genético, es decir, el núcleo que será introducido en el óvulo receptor, procede de una célula somática (no destinada a la reproducción) del organismo que se esté intentando clonar. Esta célula somática dadora del núcleo ha estado previamente tratada para mejorar el resultado final, de forma que se encuentra en fase de reposo celular (estadio  $G_0$ ).

El huevo así reconstruido emula (pero no es idéntico a) un cigoto natural, y necesita ser activado artificialmente (para simular el proceso de fecundación) de forma que inicie de nuevo la replicación de su ADN y la célula se divida, comportándose como si fuera un embrión. Si supera estos estadios iniciales del desarrollo y llega al estadio de blastocisto, puede ser implantado en el útero de una madre de alquiler, que habrá sido tratada hormonalmente para que pueda recibir y permitir la implantación del futuro clon, o puede ser utilizado para la obtención de células madre.

Así, pues, es necesario distinguir claramente entre un embrión gamético, producido cuando un espermatozoide fecunda a un óvulo, sea de forma natural o con la ayuda de técnicas de reproducción asistida, de un embrión somático, que es una construcción artificial, obtenida a través de la intervención humana, que puede comportarse a modo de embrión gamético, pero que es distinto tanto en su origen como en su finalidad. En breve, un cigoto tiene una identidad genética distinta de sus progenitores y su finalidad biológica es la reproducción; un embrión somático obtenido por SCNT tiene la misma identidad genética que el individuo donador del núcleo, se puede

obtener únicamente tras manipulación humana y no tiene ningún equivalente biológico, por tanto, no tiene ninguna finalidad biológica definida.

Finalmente, mientras que, en principio, un embrión gamético tiene vida y es viable, lo que de acuerdo con el Tribunal Constitucional (212/96) lo hace merecedor de una cierta protección, un embrión somático tiene vida, pero no es viable, por lo que carece del derecho a la protección reconocido por el Tribunal Constitucional.



## LA TRANSFERENCIA NUCLEAR DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN HUMANOS: CLONACIÓN TERAPÉUTICA Y CLONACIÓN REPRODUCTIVA

En toda argumentación sobre clonación humana hay que distinguir si se está tratando de clonación reproductiva o de clonación terapéutica. La donación reproductiva es aquella que tiene como objetivo producir un ser humano genéticamente idéntico a otro, mientras que la clonación terapéutica tiene como objetivo obtener células humanas genéticamente idénticas, para utilizarlas en terapia celular, como herramienta terapéutica para la sustitución de las células de un paciente, que ya están muertas, dañadas o son disfuncionales, evitando así el grave problema del rechazo inmunológico. En el primer caso, es forzoso obtener un embrión somático viable que pueda llegar a término y generar un humano adulto sin defectos aparentes de desarrollo. En el segundo, al menos actualmente, basta con obtener un embrión somático, que nunca llegará a desarrollarse más allá de la fase de blastocisto (día +5 posfecundación).

Independientemente de las posibles objeciones morales o éticas a la clonación reproductiva en humanos y del hecho que la identidad genética no equivale a identidad total en las características físicas, emocionales e intelectuales en humanos (basta con observar dos gemelos monocigóticos, clones naturales, para evidenciarlo), dada la experiencia adquirida con la SCNT en otras especies de mamíferos y el elevadísimo riesgo de desarrollo aberrante, muerte perinatal e incremento de enfermedades postnatales, en la actualidad los intentos de clonación reproductiva en humanos sólo pueden ser considerados, desde un punto de vista científico, como absolutamente ingenuos, inútiles, y basados en el desconocimiento de la realidad y, en el peor de los casos, como totalmente irresponsables.

En cambio, la mayor parte de los científicos abogan por el estudio de las posibilidades de la clonación terapéutica en la especie humana, ya que presenta menos dilemas éticos y, en cambio, ofrece un potencial terapéutico futuro (todavía lejano) que puede cambiar el pronóstico y tratamiento de numerosas enfermedades humanas en las que se presentan lesiones en células y tejidos, como la diabetes, infartos de miocardio, o enfermedades neurodegenerativas. Con todo, hay mucho camino por recorrer y se necesitará mucho trabajo de investigación para entender por qué la clonación presenta un porcentaje de

fracasos tan elevado y dilucidar cómo se efectúan las primeras decisiones en el proceso de diferenciación y desarrollo con el fin de obtener células y, si es el caso, tejidos plenamente funcionales.




## POTENCIAL DE LAS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS

Las células madre embrionarias (en inglés, *Embryonic Stem cells* y, de ahí, *ES cells* o células ES) son células pluripotentes que pueden diferenciarse en cualquiera de los tipos celulares que pueden encontrarse en un individuo adulto. Estas células se obtienen de un estadio embrionario concreto, el de blastocisto, justo antes de la implantación, que en humanos corresponde al día 5 después de la fecundación o, en su caso, después de la transferencia de un núcleo somático.

En este estadio, el embrión posee una capa de células exterior o trofotodermo (que, posteriormente, dará lugar a la placenta y otros tejidos de sostén del embrión) y una masa celular interna de células pluripotentes e indiferenciadas, todavía poco estructuradas, algunas de las cuales contribuirán a la formación de membranas extrafetales, y sólo unas pocas formarán el cuerpo del embrión. Esta masa celular interna puede ser disgregada, y las células cultivadas *in vitro*, recibiendo el nombre de células madre embrionarias y demostrando su pluripotencia por la capacidad de diferenciarse en multitud de tipos celulares.

Según las condiciones del medio de cultivo, las células madre embrionarias pueden ser mantenidas en estado de pluripotencia, sin diferenciarse, para ser manipuladas y reintroducidas en un embrión del mismo estadio, o pueden ser inducidas a diferenciarse hacia diversos tipos celulares, suplementando el medio de cultivo con cócteles de hormonas y factores de crecimiento adecuados. A pesar de que se pueden lograr, *in vitro*, diferenciaciones hacia todos los tipos celulares existentes en un organismo adulto, todavía se desconoce, con algunas excepciones, cómo obtener diferenciaciones homogéneas controladas, activando únicamente los patrones de expresión génica que determinan un único tipo celular en concreto, por lo que es muy importante evitar en el cultivo la presencia de tipos celulares distintos al deseado, o de células embrionarias indiferenciadas, que pueden dar origen a la formación de teratomas. Afortunadamente, en la actualidad existen las técnicas necesarias para solventar estos problemas.

¿Cuál es la fuente principal de células madre humanas? Actualmente, se pueden obtener células madre embrionarias humanas a partir de embriones congelados producidos por fertilización *in vitro* y que corresponden a distintos grupos:

- 
1. Embriones que se desarrollan anormalmente, y que podrían utilizarse para el estudio de las anomalías del desarrollo.
  2. Embriones anormales (después de un diagnóstico preimplantacional), para la misma finalidad.
  3. Embriones normales (después de un diagnóstico preimplantacional), pero que no se transferirán (Ej., los varones después de un sexado para una enfermedad ligada al sexo).
  4. Embriones sobrantes de procesos de reproducción asistida que no son transferibles, porque la pareja ha completado sus planes reproductivos, no desea cederlos para la reproducción, pero acepta donarlos para la investigación.

Las principales ventajas son que estos embriones ya existen, la facilidad con que generan células madre embrionarias y, además, con la investigación en células madre embrionarias se obtiene mucha información sobre los procesos de diferenciación celular y tisular en el desarrollo para su posterior uso en otras aplicaciones. Sin embargo, su empleo como posible herramienta terapéutica puede causar dilemas éticos, y plantea algunas dificultades estratégicas.

Los problemas técnicos son bien conocidos: el primero de ellos es que las células madre embrionarias son ajenas al receptor, y pueden provocar problemas de rechazo, que en todo caso son susceptibles de tratamiento. El segundo problema es su bajo número y calidad: en efecto, aunque una encuesta reciente llevada a cabo en Barcelona muestra que casi un 80 % de las parejas con embriones criopreservados estaría dispuesta a donar sus embriones sobrantes para la investigación, en general los embriones congelados son los de menor calidad, puesto que los mejores embriones son seleccionados para ser transferidos. Así, se ha calculado que si todos los embriones congelados existentes en los Estados Unidos de América se empleasen para obtener células madre, tan sólo se conseguirían unas 275 líneas celulares. Además, al autorizarse la congelación de ovocitos, el número de embriones criopreservados disminuirá extraordinariamente, incluso si se utilizan técnicas para la obtención de ovocitos a partir de células madre, procedimiento muy



peligroso, ya que algunos centros podrían verse tentados a emplear estos ovocitos para la reproducción. Por esta razón, es indispensable recurrir al uso de la técnica de SCNT (la mal llamada clonación terapéutica), y a la donación de ovocitos. De hecho, se ha calculado que en el Reino Unido, si un 20 % de las mujeres que comparten ovocitos los donasen para la investigación, se podría disponer de unos 900 óvulos al año para la transferencia nuclear o clonación terapéutica.



## LA CLONACIÓN TERAPÉUTICA COMO ESTRATEGIA GENERADORA DE CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS

En este contexto, la clonación terapéutica tiene como objetivo generar un embrión somático por SCNT y dejarlo desarrollar hasta el estadio de blastocisto (día +5 posfecundación) para disgregar la masa celular interna y obtener células madre embrionarias clónicas para trasplantes. Recordemos que el rechazo debido a la incompatibilidad inmunológica, que es la complicación más frecuente en los trasplantes de órganos, es tratado con terapia inmunosupresora, que produce efectos secundarios. También puede ocurrir que en caso necesario, no se encuentre un donante compatible.

Las células madre embrionarias (y, por tanto, las células o tejidos que de las mismas se deriven) obtenidas por SCNT serían genéticamente idénticas a las del paciente, que se convierte a un tiempo en donante y receptor, eliminando el riesgo de rechazo y, por tanto, la necesidad de un tratamiento inmunosupresor. Además, estas células proporcionan una fuente renovable de tejido, permitiendo que la terapia se repita cuantas veces sea necesario. La clonación terapéutica podría realizarse siempre que fuese necesario, con lo que, potencialmente, todos los individuos podrían recibir un tejido compatible, eliminando el proceso de espera y selección de un donante. Incluso, en algunas enfermedades genéticas hereditarias graves (como la anemia falciforme o la beta-talasemia), se podría prever una terapia génica previa en las células madre embrionarias clónicas para corregir el gen defectuoso y, posteriormente, reintroducirlas en el paciente.

Los posibles dilemas morales del uso del embriones somáticos clónicos generados por SCNT son mucho menores que en el caso del uso de embriones desechados tras un proceso de fecundación *in vitro* ya que, en primer lugar, no se genera un cigoto real, sino una construcción que responde a una invención humana; en un 95-99 % de los casos el embrión somático generado por SCNT presentaría un desarrollo tan anormal por falta de una reprogramación nuclear adecuada, que no llegaría a término; y, lo que es más importante, mientras que un embrión gamético se crea para la reproducción, un embrión somático se crea con finalidades terapéuticas. Además, al realizarse todo el proceso *in vitro* y en estadios preimplantacionales, en ningún caso sería necesario recurrir a úteros de alquiler (uno de los problemas estratégicos y ético-legales que puede presentarse con la clonación reproductiva).

El argumento de la pendiente resbaladiza (la clonación terapéutica llevará indefectiblemente a la clonación reproductiva) no merece siquiera consideración. En primer lugar, las dificultades de uno y otro método han sido ya contrastadas. Pero además, basta con legislar adecuadamente uno y otro tipo de clonación para evitar abusos en este sentido.

Finalmente, plantear que la clonación terapéutica va a precisar un número ilimitado de óvulos es un error. El Reino Unido ha creado ya un banco de células madre, al que todos los científicos deberán ceder gratuitamente una muestra de sus líneas celulares embrionarias. De esta forma, el esfuerzo de algunos revierte a toda la comunidad científica, y el número de ovocitos necesario será tanto más limitado cuanto mejores sean las técnicas empleadas para derivar líneas de células madre.

Además, en mayo de 2005 el grupo surcoreano del Prof. Hwang ha perfeccionado la técnica de transferencia nuclear de tal modo que, en la actualidad, la posibilidad de derivar una línea de células madre a partir de un blastocisto se cifra entre un 30 y un 40 %. Así, antes de esta fecha se habrían precisado unas 20-30 donantes de ovocitos para obtener una línea celular para tratar a un paciente. Ahora, basta con los óvulos que pueden obtenerse de una sola donante, que bien podría ser una familiar o amiga del paciente, si en estos casos se levantara la exigencia de anonimato, que no parece ser necesaria.

Aún así, se debería profundizar más en los requerimientos necesarios para conseguir diferenciaciones homogéneas de las células madre embrionarias en cultivo. Si, además, pensamos en una posible terapia de enfermedades neurodegenerativas (como por ejemplo, la enfermedad de Parkinson, o la ceguera por pérdida progresiva de neuronas fotorreceptoras) éste es un problema acuciante, ya que existe una enorme diversidad de neuronas diferenciadas, con funciones claramente distintas, como refleja la síntesis y recepción de neurotransmisores. Para lograr este conocimiento es absolutamente imprescindible una investigación seria y contrastada con células madre embrionarias humanas.

## CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS PROCEDENTES DE EMBRIONES CRIOPRESERVADOS Y CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS OBTENIDAS POR SCNT (CLONACIÓN TERAPÉUTICA)

Algunos países, como USA y el Reino Unido, disponen ya de algunas líneas de células madre embrionarias humanas establecidas. Si éste es el caso, ¿por qué se plantea obtener nuevas líneas de estas células a partir de embriones congelados? y, por la misma razón, ¿para qué hablar de clonación terapéutica?, ¿cuál es su utilidad?.

La respuesta principal es la gran variabilidad humana en antígenos de histocompatibilidad. Nuestro sistema inmune es muy sensible y versátil, capaz de reconocer, de entre millones de combinaciones de proteínas, aquéllas que le son propias de las que no lo son, de forma que constituye un mecanismo de defensa extremadamente complejo. Podríamos decir que no existen dos seres humanos que compartan la misma dotación genética en antígenos de histocompatibilidad (a excepción de los gemelos monocigóticos), aun cuando podríamos agrupar la población humana según su mayor o menor compatibilidad, es decir, según si comparten un determinado número de antígenos. De ahí la importancia de la histocompatibilidad en el trasplante de órganos o células, ya que en caso contrario se produce un choque agudo que causa la muerte del receptor no compatible en cuestión de horas.

Aún suponiendo que se disponga de un banco muy completo de células madre embrionarias, no es factible disponer de todas las posibles combinaciones genéticas, sino sólo de unas cuantas, con lo que la necesidad del tratamiento inmunosupresor del donante no quedaría resuelto. El coste de mantenimiento y almacenaje no es desdeñable. Por tanto, la posible aplicación de las líneas de células madre embrionarias disponibles es, en su mayor parte, el conocimiento que se pueda derivar de ellas sobre los mecanismos necesarios para controlar su diferenciación, más que una aplicación inmediata.

Como ya se ha comentado, la clonación terapéutica ofrecería la ventaja de la total identidad genética de las células obtenidas. Pero también existen algunos inconvenientes que deberían ser adecuadamente considerados, como el costo económico de generar cada vez un embrión somático, y la limitación temporal, ya que el tiempo necesario para generar generar las células necesarias para un determinado tratamiento podría ser crítico para algunas de las aplicaciones, que necesitarían la disponibilidad de células o tejidos en un tiempo limitado,

por ejemplo, para ser utilizadas en injertos de piel en quemados, o para tratamientos de refuerzo de las células del músculo cardíaco en infartos de miocardio. Es obvio que ninguna terapia puede llegar a ser la panacea para todas las patologías, sino que para cada enfermedad concreta debe plantearse la mejor terapia posible, y que la clonación terapéutica puede ofrecer tratamiento para algunas de las enfermedades actuales de difícil tratamiento o curación.



## LIMITACIONES CIENTÍFICAS DE LA CLONACIÓN TERAPÉUTICA

Antes de plantear su uso en seres humanos, hay varias cuestiones cruciales sobre la clonación terapéutica que deben ser resueltas: su viabilidad, su eficacia y la seguridad de su utilización. Sabemos que una reprogramación errónea del núcleo es la causa más frecuente de desarrollo aberrante y de fenotipos anormales en las especies de mamíferos en las que se ha logrado obtener individuos clónicos. Esta reprogramación defectuosa ¿podría impedir el uso terapéutico de células madre embrionarias obtenidas por clonación?.

Los datos de que se dispone hasta el momento muestran que la diferenciación *in vitro* de células madre embrionarias no se ve comprometida por el hecho de que hayan sido generadas a través de un proceso de SCNT, sino que, en la mayoría de los casos, la reprogramación nuclear es suficiente. No hay que olvidar que no se pretende obtener un embrión y un feto totalmente viables, en el que todas y cada una de las células debe cumplir su función para un correcto desarrollo del organismo, sino que las células son disgregadas en un estadio muy temprano (blastocisto), y sólo crecen adecuadamente en cultivo aquellas que poseen las características de células madre embrionarias. El mismo proceso de cultivo celular selecciona las células que se comportan correctamente, descartando aquellas en las que la reprogramación nuclear es defectuosa. Este proceso no puede tener lugar en un embrión o un feto en el que la reprogramación nuclear correcta es un requisito imprescindible para que se produzca un desarrollo fetal normal. En principio, pues, parece que no hay limitaciones a la pluripotencia de las células madre embrionarias obtenidas por SCNT y, por tanto, a su capacidad de diferenciación y viabilidad. Con todo, rara vez un científico puede ofrecer una certeza absoluta, sino sólo racional y basada en datos estadísticos. De nuevo, sólo una investigación apropiada sobre células madre embrionarias humanas podrá responder adecuadamente a estas y otras preguntas sobre la viabilidad y seguridad de una posible terapia celular a partir de estas células.

## LAS CÉLULAS MADRE DEL ADULTO

Las investigaciones llevadas a cabo en los últimos años demuestran que existen células madre (*stem cells*, en inglés) en el individuo adulto y que éstas células, aunque limitadas en número, están distribuidas en numerosos tejidos y suponen un reservorio de recambio celular. Los resultados obtenidos muestran que el uso de células madre del adulto puede ser una alternativa viable y complementaria al uso de células madre embrionarias generadas por SCNT. Ciertamente, las células madre del adulto pueden ser una fuente potencial de células autólogas para trasplante o sustitución tisular o celular. Se las ha podido aislar de diversos tejidos, como la médula ósea, el sistema nervioso, la piel, el tejido adiposo y los endotelios y músculos, y parece que podrían tener un potencial de desarrollo superior al que inicialmente se había supuesto, especialmente las células madre de la médula ósea.

Sin embargo, existen ciertos problemas técnicos en su identificación y aislamiento, que deberían ser investigados y solventados previamente a su uso posterior. En primer lugar, su accesibilidad: hay tejidos a los que es relativamente sencillo acceder para extraer células madre, como la médula ósea, el tejido adiposo, el endotelio, la piel o, incluso, el músculo, pero en otros tejidos, como el sistema nervioso, los neuroblastos son escasos y de difícil acceso, y su extracción puede comprometer el funcionamiento del resto del sistema nervioso. Este problema quedaría resuelto de confirmarse la versatilidad que parecen poseer las células madre de médula ósea. En segundo lugar, su número: como su función biológica es el recambio celular, la reserva de células madre embrionarias en el adulto es finita y existe un proceso de depleción, por el cuál su número disminuye con la edad. En tercer lugar, son difíciles de propagar en cultivo y mantener su estado de indiferenciación, probablemente porque se desconocen las condiciones necesarias para su cultivo, condiciones que pueden ser diferentes para cada tipo de célula madre. En todo caso, cualquier terapia celular futura necesitaría células diferenciadas en una cantidad considerable. En cuarto lugar, y éste es un serio inconveniente para algunos tipos de terapia celular, su baja capacidad para la manipulación genética, que contrasta con las células madre embrionarias, en las que es mucho más fácil corregir un determinado defecto genético y seleccionar las células adecuadas para un futuro tratamiento. Por último, y no menos

importante, su potencial de diferenciación, es decir, su plasticidad, parece ser menor que el de las células madre embrionarias, ya que las células madre del adulto son multipotentes, dado que en su desarrollo ya han sufrido una programación específica que las determina hacia ciertas pautas de diferenciación y les impide, o dificulta, otras pautas. Existen algunos experimentos de transdiferenciación que, en la mayoría de los casos, es limitada y que, en otros, todavía no está claro si no se deben a fusiones celulares.

Así, pues, el potencial terapéutico de las células madre del adulto queda todavía por determinar. Aunque su capacidad de diferenciación parece más restringida y no presenta la versatilidad del potencial terapéutico de las células madre embrionarias, no debemos olvidar que presentan compatibilidad genética total con el dador sin necesidad de recurrir a técnicas de SCNT. Además, es posible que, en un futuro, se pueda trabajar con células madre pluripotentes en el adulto, y es obvio que, desde el punto de vista científico, en cada caso debe utilizarse el tipo celular más adecuado para el paciente, independientemente de que su origen sea un embrión gamético, un embrión somático o un adulto. Por tanto, el uso de células madre embrionarias obtenidas por clonación terapéutica y el uso de células madre del adulto deben ser consideradas estrategias complementarias más que contrapuestas, ya que según la enfermedad y las células afectadas, sería más conveniente recurrir a una aproximación terapéutica u otra.

No está de más considerar que, dado que la información obtenida en las investigaciones en células madre embrionarias y en células madre de adultos sobre los procesos de diferenciación/desdiferenciación será totalmente complementaria, en un futuro, si la investigación sobre ambos tipos de células prospera, se logre desdiferenciar completamente células madre multipotentes del adulto, tras una correcta reprogramación nuclear, para obtener células pluripotentes, similares a células madre embrionarias, sin necesidad de recurrir a la donación de ovocitos (que es siempre una dificultad añadida), ni a la clonación terapéutica mediante SCNT. Para ello, hace falta comprender mejor los procesos de diferenciación y desdiferenciación celular, para así, a



partir de células madre somáticas de un paciente, obtener células pluripotentes por un lado y, por otro, poder diferenciarlas homogéneamente hacia el tipo o tipos celulares concretos necesarios para la terapia celular o tisular. Así, por ejemplo, el factor de transcripción embrionario Oct-4 es necesario para regular y mantener el estado de pluripotencialidad durante el desarrollo. Conocer la regulación de este factor de transcripción y de sus genes diana permitirá, muy probablemente, manipular este gen en células somáticas con el fin de desdiferenciarlas y reprogramarlas hacia un estadio pluripotente, similar al embrionario.



## ASPECTOS ÉTICOS

Desde un punto de vista ético, el uso científico o terapéutico de embriones humanos plantea mayormente una duda: la legitimidad o ilegitimidad ética de utilizar embriones para otro fin que no sea aquel al que los embriones parecen destinados, que es el de la reproducción. Esta duda o problema va unido a otro, aparentemente de mayor envergadura, referido a la humanidad o dignidad del embrión. Dado que algunos sectores consideran que un embrión es una persona en potencia, utilizarlo con propósitos distintos al de obtener un ser humano, sería la usurpación de un cometido que no nos corresponde. La investigación es vista, en tal caso, como una forma de pervertir la naturaleza del embrión y, lo que para estos sectores es más grave, como la destrucción de algo que debe ser visto como un ser humano.


El problema, en tal caso, no es científico, ni siquiera ético, sino religioso. Desde siempre se ha discutido, en filosofía, cuándo el ser humano empieza a serlo, es decir, en qué momento, desde la producción del embrión hasta el nacimiento, podemos hablar de que existe un individuo o una persona. Puesto que la cuestión no tiene una respuesta empírica, para responderla hay que acudir a la religión o a la metafísica, es decir, hay que buscar una respuesta basada en una doctrina, más derivada de unas creencias o convicciones religiosas o ideológicas, que de una argumentación estrictamente racional. El embrión es, sin duda, un ser humano en potencia, pero sólo en potencia, como lo es el feto en las primeras semanas de desarrollo. Sólo un acuerdo social unánime que afirmara la dignidad humana del embrión podría impedirnos aceptar la investigación con embriones. Ese acuerdo, en estos momentos, no existe, dado que las posiciones más extremas, a favor de la humanidad del embrión son deudoras de doctrinas religiosas. Y la religión no es universalizable ni es legítimo imponer sus creencias al conjunto de la población.

La postura más radicalmente contraria a la legitimidad ética de la investigación con embriones es la que procede de convicciones dogmáticas y se opone a ella tanto si los embriones proceden de la fecundación *in vitro*, son el resultado de abortos o se obtienen mediante técnicas de clonación. En todos los casos, se interrumpe igualmente el desarrollo del embrión como unidad biológica, por lo que queda abortado un proceso que es considerado como “natural”. Los

grupos pro vida, defensores de tal punto de vista, parten del supuesto de que el ser humano lo es desde la fecundación, que la humanidad o la dignidad le es tan inherente al embrión como a la persona y que utilizar al embrión como un medio para otros intereses y no como un fin en sí mismo es tan pecaminoso como un asesinato.

Una postura más tolerante y mejor dispuesta hacia la investigación con embriones producidos por la fecundación *in vitro* es la gradualista, que distingue distintas fases en el desarrollo del embrión, concretamente antes y después de los catorce días a partir de la fecundación. Antes de los catorce días, lo que hay es una agrupación de células aún indiferenciadas. A partir del día catorce, en cambio, aparecen las primeras trazas de lo que será el sistema nervioso del embrión, la formación de la línea celular primitiva y el inicio del desarrollo neuronal, por lo que se considera determinada la individualidad del embrión. Desde esta perspectiva, no se niega que el embrión humano merezca un respeto y deba ser protegido, pero el respeto y la protección varían según sea la fase en que se encuentre. Así, en numerosos foros científicos, éticos, legales y políticos se ha llegado al acuerdo de que no es legítimo manipular al embrión después de los catorce días, pero sí lo es con anterioridad a esa fecha. Se trataría de una protección gradual, que incrementaría según su viabilidad como futuro individuo incrementara. Dado que muchos embriones tempranos se pierden de forma natural, lo que realiza la técnica no es tan distinto de lo que ya ocurre sin intervención externa ninguna. Hemos visto, además, que los embriones gaméticos producidos por fecundación de un óvulo por un espermatozoide que se utilizan para la investigación han perdido su finalidad reproductiva, ya que han dejado de formar parte de un proyecto reproductivo, sea *de facto* o *de jure*, por lo que sus únicos destinos posibles son su criopreservación indefinida, su destrucción o su uso para la investigación. Además, la gradualidad en la protección de derechos, en este caso, dependiendo de la edad del embrión, es de uso común tanto en teoría moral como en derecho sanitario.

La consideración de que el embrión pasa por una serie de fases de desarrollo no es compartida por los biólogos darwinistas, los cuales no entienden que la



vida humana empiece a existir en un momento concreto ni que todo el peso de la argumentación moral tenga que recaer en un momento determinado como el origen de la vida humana. No obstante, la teoría es antigua y responde a la necesidad de tener que determinar el comienzo de la vida humana, como si de esa definición dependiera la moralidad o inmoralidad de la manipulación de embriones. Ya Aristóteles, que ni soñaba en la clonación, se preguntó en qué momento concreto la vida humana comenzaba a ser racional y no puramente vegetativa o sensitiva. La duda aristotélica fue luego recogida por los filósofos medievales, en especial Tomás de Aquino quien se preguntó en qué momento el alma entraba en el cuerpo dando así comienzo a una vida propiamente humana. La pregunta nunca ha recibido una respuesta unánime ni plenamente convincente, y hoy, con otros términos, seguimos dándole vueltas al mismo problema.

Lo dicho hasta aquí vale sólo para la investigación con embriones ya existentes, no para la clonación mediante SCNT que añade nuevas dimensiones al problema de la legitimidad o la ilegitimidad ética de estas cuestiones.

Los juicios éticos con respecto a la clonación deben distinguir entre dos ámbitos fundamentales: que la clonación embrionaria se haga con fines estrictamente terapéuticos o con fines reproductivos. En el caso de la clonación reproductiva, la legitimidad ética es mucho más dudosa que en los casos anteriores. El embrión somático es un producto del ingenio humano, puesto que la técnica de SCNT es una invención humana, sin equivalente biológico. En este caso, el embrión somático es producido con finalidades reproductivas, pero la técnica no ha sido nunca aplicada a seres humanos, y probablemente nunca lo sea. Las razones son múltiples: se trata de un anacronismo inútil, el número de mujeres que deberían participar en el proyecto para que naciese un único ser clónico es enormemente elevado, la clonación masiva, aunque fuera posible, es antieconómica y sólo factible en el marco de una dictadura absoluta en la que los principios éticos no tuvieran cabida, y existe un consenso generalizado que condena su práctica.

Por lo que hace a la técnica de SCNT o clonación terapéutica, es igualmente un producto del ingenio humano, si bien su finalidad es otra. Se emplea para

obtener embriones somáticos cuyo destino no es la reproducción, sino simplemente el cultivo de los mismos hasta el estadio de blastocisto, con el fin de derivar de ellos líneas de células madre con finalidades terapéuticas o de investigación. Tal posibilidad no es rechazada del todo, sino que frente a ella existen dos posturas similares a las que se enfrentan en el caso de la investigación con embriones ya existentes. La primera postura procede de la ortodoxia católica y, como en el caso anterior, niega absolutamente la moralidad de la técnica, basándose en la doctrina de que el embrión no es utilizable nunca ni debe ser producido para otra finalidad que no sea la reproductiva. Lo que se rechaza no es tanto la técnica en sí misma, sino la intervención humana en un proceso que sólo se concibe como natural.

La segunda postura muestra una cierta disposición a aceptar la clonación con fines terapéuticos siempre que ésta esté justificada por una de estas dos razones: 1) que los embriones obtenidos por FIV sean insuficientes; 2) que la clonación permita obtener tejidos autogénicos, terapéuticamente más prometedores que los obtenidos a través de embriones existentes. Como argumento básico y subyacente a los demás, hay un tercero, que es el de la solidaridad: dado que existen técnicas cuyo desarrollo puede permitir curar enfermedades antes incurables, no hay razón ninguna para no utilizarlas, con todos los controles y prevenciones necesarias, para mejorar la existencia de algunas personas o incluso evitar la reproducción de patologías evitables por tales medios. La llamada “tercera generación de derechos humanos” apunta a nuestras obligaciones con respecto a las generaciones futuras. La utilización de embriones ya existentes o la clonación de embriones, para el bien de esas generaciones no puede ser vista como algo reprochable desde una ética racional o laica. Es una aportación más a los fines de la medicina, y una oferta posible de terapias sustitutivas de tratamientos insatisfactorios o poco generalizables.

El temor a los efectos o utilidades indeseables es uno de los motivos que ponen más frenos al desarrollo y aceptación jurídica de cualquier procedimiento innovador. Es el temor a la llamada “pendiente resbaladiza” que puede dar lugar a todas las aberraciones imaginables o posibles. Se suele decir, así, que si acaba legalizándose la clonación para fines terapéuticos, acabará utilizándose también

para fines reproductivos. O que si se permite investigar con embriones sobrantes de las técnicas de FIV, se tenderá a producir más embriones de los necesarios. Los temores no son infundados dado que la naturaleza humana no es angélica y sus deseos de innovar, experimentar o satisfacer intereses varios deben tener limitaciones. Pero ese mismo temor se ha manifestado cada vez que se ha producido algo nuevo, que luego ha resultado ser un progreso para la humanidad. Una ética racional, o laica, no se opone a la innovación ni al cambio, pero exige que se sigan respetando los valores y derechos fundamentales, es decir, que los cambios se realicen responsablemente.

De lo dicho, pues, no se desprende que, abierta la veda a la investigación con embriones o a la clonación terapéutica, todo pueda estar permitido. La legislación habrá de prever las cautelas y controles necesarios para que los fines y los medios utilizados sean coherentes con los derechos fundamentales. Uno de ellos, ya tenido en cuenta en estos momentos, consiste en recabar el consentimiento de las parejas que sean donantes posibles de embriones, o de las mujeres que puedan ser donantes de óvulos. En general, el desarrollo científico-técnico contiene muchas incertidumbres, por lo que es imprescindible conseguir el máximo consenso sobre los extremos a legislar así como realizar un seguimiento y un control riguroso de la práctica investigadora.

Además, hay otras dos consideraciones con derivaciones éticas evidentes. Por un lado, el seguimiento riguroso de las investigaciones con células madre, ya sean del adulto, o células madre embrionarias derivadas de embriones generados por SCNT o embriones descartados tras FIV, para su uso en medicina regenerativa debería incluir un análisis exhaustivo de los riesgos potenciales, así como de los probables beneficios de las terapias derivadas de este tipo de investigación para los posibles pacientes. Sólo observadores informados y sin prejuicios podrían evaluar sin desviaciones la posible aplicabilidad de los avances en una investigación que combina aspectos básicos y clínicos. En dicho sentido, hay que ser muy cautos con la información que recibe la opinión pública, la cual debería ser siempre rigurosa y contrastada, procurando no generar expectativas infundadas con respecto a una posible o próxima aplicación terapéutica de unas técnicas que todavía están en proceso de investigación.

Por otro lado, debería considerarse la posible distribución y accesibilidad de los avances de la medicina regenerativa derivada de estas investigaciones. Debemos recordar que en un estado del bienestar, existe un sistema sanitario de cobertura pública y universal que debe velar por el incremento de salud en toda la escala social. Por este hecho, sería lógico y recomendable que no se dejara exclusivamente en manos de empresas o instituciones privadas la investigación en estos campos, ya que podrían desembocar en un futuro, en un uso únicamente privado y con fines lucrativos de una terapia que podría mejorar la calidad de vida de muchos pacientes. Si se generara un marco legal adecuado, debería considerarse la necesidad de invertir fondos públicos en una investigación cuyos resultados pueden beneficiar al conjunto de la sociedad, independientemente del poder adquisitivo del presunto paciente. Sería éticamente reprobable que, debido a inacción o desidia de los gobiernos, sólo los pacientes con un determinado poder adquisitivo pudieran acceder a este tipo de terapias, porque las investigaciones hubieran sido patrocinadas únicamente por empresas privadas.

## ASPECTOS LEGALES

En la actualidad, la legislación sobre la SCNT es casi inexistente, especialmente debido a que se trata de un procedimiento que hasta el año 2004 no había dado resultados, y también a que la mayoría de países prohibía la SCNT de forma genérica, junto con la clonación reproductiva. En este apartado, se analiza la situación existente a inicios del año 2005, que puede haber variado cuando aparezca este cuaderno.

La ONU, el 18 de febrero de 2005 aprobó una recomendación no vinculante, presentada por Honduras, y liderada por Costa Rica y los Estados Unidos, prohibiendo cualquier tipo de clonación, tanto reproductiva como terapéutica, que considera que la clonación atenta contra la dignidad humana. En la votación se abstuvieron todos los países islámicos, y algunos países, como el Reino Unido y Bélgica anunciaron inmediatamente después de la votación que harían caso omiso de la propuesta, y continuarían con sus investigaciones en clonación terapéutica.

72

En los Estados Unidos de América, está prohibido el empleo de fondos federales para investigar sobre células madre, pero cada Estado de la Unión puede tener su legislación estatal al respecto. En noviembre de 2004, California aprobó la investigación con células madre en referéndum.

En el este de Asia, Corea del Sur autoriza la clonación terapéutica. En Singapur, está en estudio su prohibición.

En Europa, la SCNT es legal en el Reino Unido desde 2001, y en Bélgica desde 2004. En Suecia es legal desde el 1 de abril de 2005, y en Finlandia la legislación la permite, pero no ha habido solicitudes de aprobación de proyectos hasta el momento. Hay que señalar que, aunque Suecia y Finlandia firmaron el Convenio de Oviedo sobre Biomedicina, no lo ratificaron posteriormente.

En Finlandia, la Ley de Investigación Médica de 1999 permite investigar con embriones hasta los 14 días, pero prohíbe la creación de embriones para la investigación. Sin embargo, define la creación de embriones como la fusión de gametos, por lo que la SCNT está autorizada.

España, firmó el Convenio y lo ratificó. Por esta razón, no puede legalizar la clonación terapéutica con finalidades de investigación o experimentación. En



cambio, sí le es posible autorizar la clonación terapéutica para tratar a pacientes concretos, e incluso para ensayos clínicos, es decir, acepta que investiguen otros para aplicar luego los resultados, lo cual no deja de implicar un cierto fariseísmo en lo moral, y un coste económico considerable. Sin embargo, no hay que olvidar que el Tribunal Constitucional defiende los derechos del embrión, siempre que tenga vida y sea viable. Un embrión gamético desechado tras FIV o un embrión somático generado por SCNT no son, en principio, viables, como ya se ha discutido, con lo que quedaría una vía abierta para una posible investigación en el futuro.

En consecuencia:

1. El gobierno de España debería utilizar los medios a su alcance para autorizar la clonación terapéutica de la forma más amplia que le permita el contexto legal de la Unión Europea, y financiar la investigación con células madre procedentes de la transferencia nuclear de células somáticas.
2. Los proyectos deberían ser evaluados individualmente y aprobados, en su caso, por el organismo competente.
3. Debería permitirse la donación de ovocitos en el contexto legal indicado. El consentimiento informado firmado por las donantes debería incluir este presupuesto. La compensación económica debería ser la misma que en la donación de ovocitos para la reproducción. Debería asegurarse el anonimato de la donante.

De manera similar, debería permitirse la donación de células somáticas para la extracción de su núcleo y su utilización en la transferencia de núcleos de células somáticas (SCNT), para su uso en terapia celular. El consentimiento informado firmado por los/las donantes debería incluir este presupuesto.

4. La normativa que regula la investigación con embriones debería aplicarse sustituyendo “padre” y “madre” por “donante de ovocitos” y “donante de núcleos”.
5. Debería prohibirse la transferencia al útero de los productos de una SCNT.
6. Debería prohibirse la clonación reproductiva.



## ¿DÓNDE ESTAMOS? ¿QUÉ NOS RESERVA EL FUTURO?

A pesar de la promesa terapéutica que ofrecen las células madre embrionarias, sean obtenidas o no por SCNT, y las células madre del adulto, estamos en estados muy incipientes del conocimiento sobre su potencialidad y sobre su versatilidad y los resultados son todavía preliminares. Se requiere un considerable esfuerzo de investigación consistente y rigurosa, tanto a nivel cognitivo como experimental, y abordada desde múltiples campos no sólo científicos sino de conciencia social, para ofrecer expectativas reales de aplicabilidad que, en todo caso, no serán en un futuro inmediato.

Sin embargo, no es descabellado suponer que si la investigación sobre células madre embrionarias y clonación terapéutica continua, se pueda ofrecer en un futuro una fuente renovable y versátil de tejido y células para terapia de sustitución en multitud de enfermedades para las que no existe todavía, en el mejor de los casos, otro tratamiento paliativo que el trasplante de un donante compatible.

## GLOSARIO:

**Células germinales:** Células de las gónadas que generan gametos y, por tanto, pasan su material genético a la descendencia. En la formación de los gametos, se requieren varios procesos que afectan a la reordenación y expresión del material genético: entre ellos, la meiosis, para generar gametos haploides (n) y la reprogramación nuclear, de forma que toda la información genética nuclear sea accesible para su expresión en el embrión.

**Célula madre:** Célula con capacidad de reproducirse, obteniéndose células hijas de iguales características, o bien células hijas que puedan seguir patrones concretos de diferenciación. Reciben la calificación de multipotentes (**células madre adultas**) o pluripotentes (**células madre embrionarias** del blastocisto), cuando pueden diferenciarse en varios tipos celulares distintos, o totipotentes (células del embrión inicial en división), cuando pueden generar todos los tipos celulares de un individuo. Si proceden de un embrión reciben el nombre de **células madre embrionarias** (en inglés **Embryonic Stem Cells** o **células ES**). Si proceden de un adulto reciben el nombre de **células madre del adulto** y, en general, su potencial de diferenciación es menor.

**Células somáticas:** Células que forman parte de un individuo pero que no participan en la formación de gametos. Su material genético no pasa a la descendencia. En su mayoría, son células diferenciadas, que ejecutan una función concreta, con lo que sólo parte de su ADN es expresado.

**Cigoto:** embrión inicial obtenido por la fecundación de un óvulo (n, haploide) por un espermatozoide (n, haploide). Primera célula diploide (2n) a partir de la cuál se desarrollará un nuevo individuo.

**Clonación reproductiva:** proceso por el que se genera un embrión somático con el fin de obtener un individuo genéticamente idéntico a otro.

**Clonación terapéutica:** proceso por el que se genera un embrión somático que nunca será implantado, sino disgregado *in vitro* para obtener células madre embrionarias genéticamente idénticas a las del individuo donador del núcleo.

**Embrión gamético:** embrión que se desarrolla a partir de un cigoto (diploide) obtenido por fecundación de un ovocito (haploide) por parte de un

espermatozoide (haploide) y cuyo fin biológico es la reproducción. Este embrión puede haber sido generado *in vivo* o *in vitro*. Si el embrión se implanta, el porcentaje de viabilidad suele ser elevado.

**Embrión somático:** embrión que se desarrolla a partir de la transferencia del núcleo de una célula somática (diploide) a un ovocito enucleado (al que se le ha extraído el núcleo). Su generación es totalmente *in vitro* y no procede de ningún proceso reproductivo ni fecundación y, por tanto, no tiene equivalente biológico y necesita de la intervención e intencionalidad humana para generarse. Su objetivo en la clonación terapéutica es producir células madre embrionarias para su posterior diferenciación. Ni por su origen ni por su finalidad es equiparable a un embrión generado por fecundación. Incluso con las técnicas actuales más avanzadas y en el mejor de los modelos animales, menos de un 1-5% de los embriones somáticos generados para clonación reproductiva llegan a término, e incluso éstos presentan numerosas desviaciones en cuanto a la expresión de su material genético.

76

**Reprogramación nuclear:** Denominación general de múltiples procesos que tienen como resultado conducir a la accesibilidad de toda la información genética, eliminando las modificaciones epigenéticas, es decir, sobreimpuestas al material genético, durante el desarrollo embrionario y la diferenciación celular.

**SCNT:** Siglas en inglés de Transferencia Nuclear de Célula Somática, en que el núcleo extraído de una célula somática, no implicada en la reproducción, es introducida en un ovocito enucleado (sin núcleo) para generar un embrión somático, genéticamente idéntico al individuo dador. Este embrión somático puede ser utilizado en clonación terapéutica o reproductiva.

## AGRADECIMIENTOS:

Para la redacción del presente documento, se ha contado con la colaboración de los siguientes expertos:

- **Dr. Jordi Alberch**, Profesor del Departamento de Biología Celular y Anatomía Patológica de la Universitat de Barcelona.
- **Dra. Margarita Boladeras**, Catedrática de Filosofía Moral de la Universitat de Barcelona.
- **Dra. María Casado**, Directora de l'Observatori de Bioètica i Dret del Parc Científic de Barcelona.
- **Dra. Carme Nogués**, Profesora Titular de Biología Celular de la Universitat Autònoma de Barcelona.
- **Dra. Encarna Roca**, Catedrática de Derecho Civil de la Universitat de Barcelona.
- **Dr. Carlos Romeo Casabona**, Catedrático de Derecho Penal de la Universidad del País Vasco.
- **Dr. Carlos Simón**, Director Científico del Instituto Valenciano de Infertilidad.
- **Dra. Verena Stolcke**, Catedrática del Departamento de Antropología Social de la Universitat Autònoma de Barcelona.







## Therapeutic cloning: ethical, legal and scientific perspectives

Authors:  
Gemma Marfany  
Josep Egozcue  
Victòria Camps

Published by: Fundació Víctor Grífols i Lucas  
Translated by: A&G Translations





## INTRODUCTION

Many biomedical issues with significant ethical and political repercussions capture the attention of the general public without people ever being given adequate information on which to base a knowledgeable, reasonable discussion. The problems aroused by embryonic stem cell research fall into this category. Public declarations are issued, discoveries are announced, politicians take a range of stances, patients' associations also enter the debate and exert pressure on policy-makers, expectations are created, but very few are able to talk in a well-informed way about the underlying issues. The subject of embryo cloning, the everyday term for 'somatic cell nuclear transfer', comes up regularly, accompanied by the inevitable baggage of chimeras and taboos which always come along with any mention of cloning. All this achieves is to provoke a flurry of media declarations and sow the seeds of further confusion among the public at large.

This document, written at the request of the Board of Trustees of the Victor Grifols Foundation, aims to assist in disseminating information about the current state of stem cell research and therapeutic cloning. Its objective is to help form public opinion and improve the quality of debate, in the belief that information is essential if we are to advance our understanding and arrive at rational opinions.

The analysis tackles scientific, ethical and legal issues relating to therapeutic cloning. It discusses the various confrontations which arise from differing ideological positions, and it highlights the legislative changes and political initiatives which would be desirable given the current situation. This approach derives from our conviction of the need to continue thinking about the place of science within society, the responsibility of scientists, and the need to reach political agreements which address scientific and technological developments which are still in their infancy. We should also remember that the ultimate aim of science is to improve the welfare of human beings, and this aim can only be achieved through discussion and dialogue. It is therefore vital that all members of society have accurate information about scientific and technological discoveries, for only in this way can debate about the proper uses of science be built upon the participation of all.

## CLONES AND CLONING

Many organisms reproduce by cloning. This is the process whereby an organism generates identical copies or clones of itself through a process referred to by a range of names, from asexual reproduction to division, in order to create new individuals. Although the best known example is bacteria, cloning also occurs in fungi, sponges, corals, jellyfish and many other organisms.

In nature, different forms of reproduction often exist side by side. From an evolutionary standpoint, reproduction by cloning is the oldest of these. The individual organism carries genetic information which, in theory, is transmitted without variation to the descendants. In reality, as small changes or mutations always occur in the genetic information, these changes are passed on to the next generation and are subject to natural selection. However, evolution on this basis works slowly, operating as it does on individuals which are almost identical. Sexual reproduction arose and was selected as a mechanism for acquiring and transmitting a greater degree of genetic variability. It soon triumphed in a wide range of species, due to the fact that it generated new individuals with characteristics which were at once similar to yet different from those of their parents.

Despite this, cloning continues to play a vital part in all organisms. After the zygote has been created from the joining of two gametes, the rest of the process of creating the new organism results in the first place from cloning the initial genetic information, followed by subsequent cellular differentiation. In addition, we sometimes see the birth of monozygotic or 'identical' twins which, while being genetically identical, are very far from being identical in their characteristics (the phenotype) because, while they may be physically very similar, in every other way they are as different as any other pair of siblings. We can therefore see that cloning is not unnatural, and nor is it a synonym for genetic manipulation: rather, it is an inherent feature of the human species.

So why is society as a whole so concerned by the phenomenon of cloning? Why does the very word 'clone' spark fears of the possible manipulation and control of the human species?

The catalyst was the publication of Aldous Huxley's novel *Brave New World*, and this was followed by numerous books and films, all of which insist on a form of cloning which is not only illogical but also technically impossible: the production by cloning of armies of sub-humans. At the same time, in the 1970s the term 'cloning' began to be applied in the field of genetic engineering to refer to the process of generating constructions of recombinant DNA, while the generalised use of this word both in the scientific press and in the media as a whole has given it connotations of genetic manipulation in the collective unconscious. It is, therefore, hardly surprising that, when Dolly the sheep became the first mammal to be produced by cloning, all these fears once again surfaced, multiplied out of all proportion by the mass media. The result is that the opponents of therapeutic cloning are always keen to ensure that the word 'cloning', with its pejorative overtones, figures in any debate on the issue. Nor has it helped that irresponsible individuals on the flimsiest of scientific bases have exploited the whole issue to gain free publicity by announcing that they have successfully cloned human beings, despite the fact that such claims are patently false.

Although the aim of this document is to focus on our existing knowledge and on the future possibilities offered by research into therapeutic cloning – the use of somatic cell nuclear transfer to obtain cells whose genetic information is identical to that of the donor individual, for use in cell therapy – we should also clarify the differences between this and 'reproductive cloning'. While based on the same techniques, reproductive cloning has a radically different aim: the creation of genetically identical individuals. We will therefore start by explaining and contrasting the techniques, limitations and aims of these two types of cloning.

## DOLLY AND PANDORA'S BOX

Every new scientific advance should be viewed and assessed in context. Therapeutic cloning in humans has its origin in the development of reproductive cloning in mammals, something which arose as the response (albeit a very inefficient one to date) to a very real scientific and pharmacological problem: how to produce substances such as hormones and enzymes when the active biological form of these can only be obtained from a living organism. We are, therefore, talking about a problem with real social implications, not merely the whim of a few scientists working in ivory towers, in isolation from the real world.

The last 30 years have seen the rapid development of new genetic engineering techniques which have made it possible to genetically manipulate some animals in the laboratory. Starting by introducing new genetic material, or recombinant DNA, in *Escherichia coli* bacteria, scientists soon designed strategies for genetically manipulating more complex organisms such as fruit flies (*Drosophila*) and mice. Using these methods, new genetic material can be introduced into the individual's genome. This new genetic information is referred to as a transgene, and organisms which have been modified in this way are called transgenic.

One of the most useful and profitable applications of transgenic animals is in the production of active pharmacological substances, which are either difficult or impossible to produce by chemical synthesis. These substances can only be produced from living cells (a method which is extremely expensive), or by using living organisms as 'machines' to produce the substance in such a way as to be relatively easy to obtain. Milk-producing animals are ideal for such uses, as human genes can be inserted in them and the desired substances then obtained through secretion from the mammary glands of cows, sheep, goats etc.

At the Roslin Institute, in Scotland, researchers had spent years investigating the possibility of producing transgenic animals which would be useful for pharmaceutical purposes. Many laboratories linked to a range of pharmaceutical companies shared the same objective. The main stumbling block they encountered was that, after making huge efforts to obtain a suitable

transgenic animal, which produced enough of the required substance in its milk (and which therefore had to be a female), this capacity usually disappeared once the transgene was transmitted to the animal's offspring through sexual reproduction, the only known form of multiplying the number of carriers of the transgene for higher animals. The descendants of the original animal inherited a new genetic combination, and as a result the expression of their genes, including the transgene, was different from that of the mother.

So how is it possible to maintain the desired characteristics of the initial transgenic organism, which has been produced at such great cost? For horticulturalists and gardeners the solution is simple as there are lots of different ways to clone plants and this makes it possible to obtain multiple identical copies of any new strains with particularly desirable features. Why not emulate nature and adapt this strategy to animals? Researchers developed a new technique which made it possible to obtain new, genetically identical individuals, starting with an adult organism possessing the desired characteristics.

This is how the famous Dolly, the world's first cloned sheep, was produced from a 6-year-old ewe. The cloning process, which until now has not varied, is based on extracting the nuclei (which contain the DNA or genetic information) from somatic or 'body' cells (those cells which are not part of the germline) from various tissues, and inserting them in ova from which the nucleus has been removed. After numerous attempts, almost three-hundred ova with somatic nuclei were produced, but almost all of them either failed at the outset, produced defective fetuses which were spontaneously aborted, or produced stillborn fetuses. Only one of these attempts gave rise to a live and apparently normal sheep. Soon afterwards the same group of researchers achieved what had actually been their initial objective by successfully producing Polly, the first transgenic cloned sheep. However, it was the creation of Dolly which had captured the world's imagination and which has gone down as a milestone in the history of science, despite the fact that many laboratories were already working along the same lines and that sooner or later it was inevitable that cloning would take place. This goes some way towards



explaining the relative success of the many groups which set about testing and replicating the pioneering results of the Scottish research group, achieving similar results with cows, rabbits, mice, etc.

Dolly was eventually put down to save her from the suffering caused by arthritis and other illnesses, but her appearance had already opened the Pandora's Box of the possibility of obtaining the genetically manipulable, identical human clones which had already been prefigured by the human imagination almost a century earlier.

However, while this technique is very simple and straightforward in principle, it suffers from several key weaknesses. The most important of these is the fact that in all species, many attempts have been necessary to successfully produce an apparently viable cloned individual, given that the success rate is disappointingly low – between 1 and 5% in the best cases. Moreover, there are some species for which the technique, at least for the moment, has not worked at all. Why is this? What is the nature of these weaknesses?

### **1: High number of ova and of surrogate mothers.**

Because the process has such a low success rate, several hundred ova are needed to ensure that at least one of the embryos obtained will reach full term successfully, and this is where one of the main problems lies. Mature oocytes are difficult to obtain. Under normal conditions, female mammals only mature a small number of ova at each cycle: from one to a dozen depending on the species. Moreover, the fertilised egg has to be implanted in the uterus of a surrogate mother, but many of the species in which cloning has been attempted have pregnancies with a single embryo at a time, or at most two (sheep, goats, cows, etc.). This means that a large number of surrogate mothers are required, even though only from 1 to 5% of pregnancies will have a successful outcome. In farm animals, the availability of mature oocytes and surrogate mothers is an obstacle which can only be overcome with great difficulty, but in humans it represents an insuperable barrier.

## 2: From the adult nucleus to the embryonic nucleus.

The source and the degree of differentiation of the soma cell nucleus are vital. The less differentiated the donor cell, the greater the chances of success. If a nucleus from an embryo or foetus is used, the success rate can reach 30%.

In principle, a differentiated cell contains all an organism's genetic information, but only that DNA containing the information relevant to the tissue type and function of the donor cell can be accessed. This is because the DNA of a differentiated cell contains a large number of modifications produced during the differentiation process: these are known as epigenetic changes, and they principally affect the expression of the genes. In contrast, in an early embryo's somatic cells all the DNA information is necessary and must be accessible: the cells are multipotential and, depending on the differentiation process they undergo, they can produce any of the organism's cell types. The nucleus of a soma cell which is transferred to a different cellular environment and inserted into an enucleated oocyte receives signals to make it adapt to its new context, and undergoes a nuclear reprogramming process so that all its genetic information can be expressed, thereby undoing the epigenetic changes undergone by its DNA during the differentiation process.

The time lapse during which the nuclear reprogramming must occur to convert the soma cell nucleus into a nucleus which is compatible with or similar to that of a zygote is fixed for each species, as it has to happen within the brief interval between the transfer of the nucleus to the oocyte (equivalent to the fertilisation process) during which the maternal information deposited in the ovum is in control, until the moment when the zygotic genes must express themselves in order to control the development process. We can distinguish between pre-zygotic reprogramming, which occurs during the formation of the germinal cells, and post-zygotic reprogramming, which occurs once the zygote has already formed. Of all these epigenetic modifications, those which cause the highest percentage of failures in cloned embryos are defects in pre-zygotic reprogramming, which affect the expression of the majority of the genes, and in particular of those genes which are crucial to the development of the embryo, while post-zygotic reprogramming usually takes place normally as there is a longer time lapse for this process.

### 3: Very low final success rate.

In fact, the issue we have just been discussing is very closely related to the final success rate. At present, cloning to produce individual organisms is an inefficient, error-ridden process which generally results in failure. Experience gained in species upon which cloning has been practised indicates that between 20% and 30% of embryos do not even reach the blastocyte stage (5 days after fertilisation in humans) and so are not even implanted, while of the remaining 70% to 80%, the majority produce embryos or foetuses with defective development patterns, which die in the uterus or during birth. Only between 1% and 5% reach term, and even though these appear to be normal the patterns to which their genes develop differ from those of normal foetuses, and many of these organisms develop premature illnesses.

A worrying feature of this debate is that the majority of the non-scientists who have expressed opinions either in favour of or against the possible application of cloning are usually unaware of the true scope of this technology – as yet, very inefficient – and of the many technical obstacles it faces. At the same time, the arguments put forward focus far more on the possibility of its being applied for reproductive purposes than in a field which is far more likely and feasible from the scientific and technical viewpoint: that of therapeutic cloning, as we will discuss later.



## CLONING BY SOMATIC CELL NUCLEAR TRANSFER (SCNT)

Researchers no longer use the ambiguous term ‘cloning’ to refer to the method by which a cloned individual can be produced from another individual; instead they use the more specific term ‘somatic cell nuclear transfer’ (SCNT). This technique, as we have seen, has scarcely changed since it was initially developed by the researchers at the Roslin Institute. It always requires the use of a receptor oocyte, stopped at a specific stage in its cycle, from which the nucleus (with 23 chromosomes) containing the genetic material has been removed. Another donor nucleus, with the full complement of chromosomes (46) is then inserted into the cell. This new genetic material – that is, the nucleus which is inserted into the receptor ovule – comes from a soma cell (a non-reproductive cell) from the organism to be cloned. The soma cell which provides the nucleus is subjected to prior treatment to hold it in cellular stasis ( $G_0$  state) in order to improve the final outcome.

This reconstructed egg cell imitates (but is not identical to) a natural zygote, and must be artificially activated (in simulation of the fertilisation process) so that DNA replication and cell division recommence, as occurs in an embryo. If it survives this initial stage of its development and reaches the blastocyte stage, it can be implanted in the uterus of a surrogate mother who will have been treated with hormones to prepare her to receive the blastocyte and allow the implantation of the future clone, or it can be used to provide stem cells.

It is therefore necessary to make a clear distinction between a ‘gametic embryo’ (produced when a sperm cell fertilises an ovum, whether naturally or with the help of fertility treatment) and a ‘somatic embryo’ (which is an artificial construction, produced by human intervention, which may behave like a gametic embryo, but which has a different origin and a different purpose). In brief, a zygote’s genetic identity is different from that of either of its parents, and its biological purpose is to reproduce itself. A somatic embryo obtained through SCNT has the same genetic identity as the individual which donated the nucleus, it can only be obtained as a result of human manipulation, it has no biological equivalent and, therefore, no clearly defined biological purpose.

Finally, while in principle a gametic embryo is alive and viable, and is therefore entitled to a degree of protection according to Spain’s Constitutional Court (212/96), although a somatic embryo is alive it is not viable, and it therefore does not enjoy any right of protection recognised by the Constitutional Court.

## SOMATIC CELL NUCLEAR TRANSFER IN HUMANS: THERAPEUTIC CLONING AND REPRODUCTIVE CLONING

In any discussion of human cloning, it is vital to clarify whether reproductive cloning or therapeutic cloning is being considered. Reproductive cloning aims to produce a human being who is genetically identical to another, while therapeutic cloning aims to produce genetically identical human cells for use in cell therapy, as a therapeutic tool for the replacement of a patient's cells because these are dead, damaged or dysfunctional, thereby circumventing the serious problem of immunological rejection. In the first of these cases, it is necessary to obtain a viable somatic embryo which can reach full term and generate an adult human being without any apparent developmental defects. In the second, at least at present, it is sufficient to obtain a somatic embryo which will never develop beyond the blastocyte stage (day 5 after fertilisation).

There are, of course, clear moral or ethical objections to reproductive cloning in humans, together with the fact that for humans being genetically identical is not the same as being identical in all one's physical, emotional and intellectual characteristics (anyone who doubts this need only look at monozygotic twins). But even if we ignore these for a moment, the experience acquired with SCNT in other mammal species and the extremely high risk of faulty development, perinatal death and increased frequency of post-natal disease means that any attempts at reproductive cloning in humans must be deemed, from a scientific standpoint, to be naïve, pointless, and based on total ignorance of the reality, and, in the worst case, completely irresponsible.

Instead, the majority of scientists advocate studying the possibilities of therapeutic cloning in the human species, in the belief that this presents fewer ethical dilemmas and offers at least the possibility of therapeutic applications in the (albeit distant) future which could change the prognosis and treatment of many human diseases in which there is injury to cells and tissues, such as diabetes, heart attacks or neurodegenerative illnesses. However, there is still a long way to go and much research is necessary if we are to understand why cloning suffers from such a high failure rate and comprehend how the first decisions during the processes of cell differentiation and development are made. Only then will we be able to obtain fully functional cells and tissues.

## THE POTENTIAL OF EMBRYONIC STEM CELLS


Embryonic stem cells (ES cells) are pluripotent cells which can differentiate to become any of the cell types found in an adult individual. These cells are obtained from a specific embryonic stage – the blastocyte just before implantation – which in humans corresponds to day 5 after fertilisation or, alternatively, just after the transfer of a somatic nucleus.

At this stage, the embryo consists of an external layer of cells called the trophoctoderm (which will subsequently become the placenta and other tissues which support the embryo) and an internal mass of dedifferentiated, pluripotent cells, still largely unstructured, some of which will contribute to the formation of fetal membranes, and only a few of which will form the embryo's body. This internal mass of cells can be broken up and the cells cultivated *in vitro*. These cells are then known as embryonic stem cells (ES cells) and they are able to develop into a wide range of different cell types.

Depending on the conditions in the culture medium, the ES cells can be kept in their pluripotent, dedifferentiated state, to be manipulated and then reinserted in an embryo at the same stage, or they can be induced to differentiate into different cell types by adding the appropriate cocktails of hormones and growth factors to the culture medium. Although it is possible to achieve, *in vitro*, differentiation into all the cell types which exist in an adult organism, it is not yet known, with some exceptions, how to obtain controlled homogenous differentiation by only activating those pathways for gene expression which determine a single specific cell type. It is therefore very important to ensure that there are no cells which are not of the required type or any dedifferentiated embryonic cells, as these could give rise to the formation of teratomas. Fortunately, techniques for solving these problems now exist.

What is the main source of human stem cells? Human ES cells are currently obtained from frozen embryos produced as a result of *in vitro* fertilisation. These fall into the following categories:

1. Embryos which have developed abnormally and which can be used in the study of developmental anomalies.

- 
- A decorative graphic consisting of several vertical bars of varying heights and colors (yellow, green, blue) is located on the left side of the page.
2. Abnormal embryos (identified by pre-implantation testing) used for the same purpose.
  3. Normal embryos (identified by pre-implantation testing) but which are not implanted (e.g., male embryos identified by sexing to avoid a sex-linked illness).
  4. Surplus embryos from fertility treatment, which cannot be used because the couple do not wish to have any more children, do not wish to donate them for reproduction, but agree to donate them for research purposes.

The main advantages of using frozen embryos are the fact that these embryos already exist and the ease with which they generate ES cells. Moreover, research into embryonic stem cells provides a wealth of information about the processes of cell and tissue differentiation during development, and this can subsequently be applied in other contexts. However, the use of such embryos for therapeutic purposes also poses ethical dilemmas, as well as presenting some strategic difficulties.

The technical problems are well known. The first of these is that the ES cells are alien to the recipient organism, and this may cause problems of rejection (although there are ways of treating this). The second problem is the low number and poor quality of such foetuses; although a recent survey conducted in Barcelona found that almost 80% of couples with cryopreserved embryos would be willing to donate their surplus embryos for research, in general these embryos are of lower quality as the best embryos are selected for implantation. Indeed, it has been calculated that even if all the frozen embryos in existence in the USA were made available to provide stem cells, this would only create 275 cell lines. Moreover, if the freezing of oocytes is permitted then the number of cryopreserved embryos will fall dramatically, even if techniques to obtain oocytes from stem cells are used (a very risky procedure, given that some centres might be tempted to use these oocytes for reproductive purposes). For this reason it is absolutely vital to use the SCNT technique (often misleadingly called therapeutic cloning) and oocyte donation. Calculations from Great Britain suggest that if 20% of women who share eggs donated them for research this could provide 900 ova per year for nuclear transfer or therapeutic cloning.

## THERAPEUTIC CLONING AS A STRATEGY TO GENERATE HUMAN ES CELLS

In this context, the aim of therapeutic cloning is to generate a somatic embryo by SCNT and allow it to develop to the blastocyte stage (day 5 post-fertilisation) so that the internal cell ball can be broken down and cloned embryonic stem cells obtained for use in transplants. It should be remembered that rejection due to immunological incompatibility, the complication most commonly associated with organ transplants, is treated with immunosuppressant therapy, which has side effects. There is also the possibility that no compatible donor can be found.

ES cells obtained by SCNT (and, as a result, the cells or tissues which come from them) are genetically identically to the patient's cells, and the patient is therefore both donor and recipient, thereby eliminating the risk of rejection and the associated need for immunosuppressant treatment. Moreover, ES cells provide a renewable source of tissue, allowing the therapy to be repeated as many times as is necessary. Therapeutic cloning can be carried out as often as is required, and this means that everyone can receive compatible tissue, eliminating the process of waiting for and selecting a donor. It is even possible that in some serious hereditary diseases (such as sickle-cell anaemia or beta thalassaemia) gene therapy could be applied to the cloned ES cells to correct the defective gene, and the cells then reinserted into the patient.

The possible moral dilemmas in the use of cloned somatic embryos generated by SCNT are far fewer than in the case of embryos discarded after *in vitro* fertilisation, because what is created is not a true zygote but rather an artificial construction. In between 95 and 99% of cases the somatic embryo created by SCNT would develop abnormally due to the lack of appropriate nuclear reprogramming, and this means it would not reach term; more importantly, while a gametic embryo is created for reproduction, a somatic embryo is created for therapeutic purposes. Moreover, because the whole process occurs *in vitro* and relates to pre-implantation stages, it would never be necessary to make use of surrogate uteruses (one of the key strategic and ethical-legal problems faced in reproductive cloning).

The argument of the slippery slope – that therapeutic cloning leads inevitably to reproductive cloning – scarcely deserves to be taken seriously. We have

already compared the difficulties which the two methods entail, but it is in any case sufficient to introduce appropriate legislation for each of these two types of cloning to prevent abuses of this kind.

Finally, it is simply incorrect to state that therapeutic cloning requires an unlimited number of ova. The United Kingdom has already created a stem cell bank in which scientists must deposit a sample of their embryonic cell lines free of charge. This ensures that the fruit of individual efforts is enjoyed by the whole scientific community, and the better the techniques used to derive stem cell lines, the smaller the number of oocytes required will be.

In May 2005 the South Korean research group led by Professor Hwang improved the nuclear transfer technique so that the chances of being able to derive a line of stem cells from a single blastocyte now stand at between 30 and 40%. Before this breakthrough, from 20 to 30 oocyte donors were needed to obtain a cell line in order to treat a single patient; now, the ova obtained from a single donor would suffice, and this donor could be a friend or relative of the patient should the apparently unnecessary requirement of anonymity be lifted.

However, further work is required to make the homogenous differentiation of cultured ES cells possible. If we consider potential treatments for neurodegenerative illnesses (such as, for example, Parkinson's or blindness caused by the progressive loss of photoreceptor neurones) then we can see just how important this problem is, given that there is an enormous range of differentiated neurones, with clearly distinct functions, such as the synthesis and reception of neurotransmitters. There is no way we can properly understand these processes without serious, comparative research using human ES cells.

## ES CELLS FROM CRYOPRESERVED EMBRYOS AND ES CELLS OBTAINED FROM SCNT (THERAPEUTIC CLONING)

Some countries, such as the USA and the United Kingdom, already have some established human ES cell lines. If this is the case, why obtain new ES cell lines from frozen embryos, and why the need for therapeutic cloning?

The main answer to this question lies in the huge human variability in histocompatibility antigens. Our immune system is very sensitive and extremely versatile, capable of distinguishing from millions of protein combinations those which belong to our own bodies and those which do not, and thereby constituting an extremely complex defence mechanism. With the exception of monozygotic twins, no human beings have the same genetic make-up for histocompatibility antigens, although it is possible to group humans together on the basis of greater or lesser compatibility: that is, according to whether they share a given number of antigens. Histocompatibility is so important in cell and organ transplant because the transplantation of incompatible material can produce severe shock which causes the death of the non-compatible recipient within hours.

Even a very extensive ES cell bank could not contain more than a relatively small proportion of all the possible genetic combinations, and the need for immunosuppressant treatment of the recipient would therefore not be resolved, while maintenance and storage costs are also considerable. It is for this reason that the main application of available ES cell lines is to enhance our knowledge of the mechanisms which control the differentiation process, rather than the direct use of the cells themselves.

As discussed, therapeutic cloning offers the advantage that the cells it produces are genetically completely identical. However, there are also some drawbacks which must not be ignored, including the financial cost each time a somatic embryo has to be created, and the time limitations, given that the time required to generate cells for use in a given treatment could be critical in circumstances where cells or tissues are required within a limited timeframe, as is the case with skin grafts for burns victims, or treatments to reinforce the cardiac muscle cells of heart attack patients. It is clear, then, that no therapy offers a panacea for every ill; rather, every disease should be treated with the most appropriate therapy available, and in this context therapeutic cloning may provide treatment for some illnesses which are currently difficult to treat or cure.

## SCIENTIFIC LIMITATIONS OF THERAPEUTIC CLONING

Before it can be used in human beings, there are a number of key questions regarding therapeutic cloning which must be resolved: its viability, its efficacy, and its safety. We already know that faulty reprogramming of the nucleus is the most frequent cause of abnormal development and of abnormal phenotypes in the mammal species in which cloned individuals have successfully been obtained. Is it possible that this faulty reprogramming could hinder the therapeutic use of ES cells obtained from cloning?

The information available to date demonstrates that *in vitro* differentiation of ES cells is not compromised by the fact that these have been generated by SCNT, and rather that, in the majority of cases, there is adequate nuclear reprogramming. We must remember that the aim is not to obtain a fully viable embryo and foetus, in which each of the cells functions properly to allow the organism to develop correctly, but rather that the cells are separated out at a very early stage (blastocyte) and that only those with ES cell characteristics are able to grow properly in the culture medium. So the process of cultivating the cells also selects those cells which grow properly, discarding those in which nuclear reprogramming is defective. This process cannot take place in an embryo or foetus in which correct nuclear reprogramming is vital for normal foetal development. In principle, then, there do not seem to be any limitations to the pluripotentiality of ES cells obtained by SCNT and, therefore, to their capacity for differentiation and viability. However, scientists can rarely offer 100% certainty, only rational reassessments based on statistical data. The only way of providing satisfactory answers to these and other questions regarding the viability and safety of possible cell therapy based on human ES cells is by conducting appropriate research using such cells.



## ADULT STEM CELLS

Recent research has shown that stem cells also exist in adults, and these cells, while limited in number, are distributed across a wide range of tissues and represent a cell replacement reservoir. The results obtained demonstrate that the use of adult stem cells could be a viable alternative or complementary approach to the use of ES cells generated by SCNT. Adult stem cells could be a potential source of autologous cells for transplant or for cell or tissue replacement. They have been isolated from various tissues, including bone marrow, the nervous system, the skin, adipose tissue the endothelium and the muscles, and it appears that they could have greater potential for development than had initially been assumed, in particular bone marrow stem cells.

However, there are some technical problems in identifying and isolating these stem cells which must be explored and resolved before such cells can be used. Firstly, there is the issue of accessibility: while it is relatively easy to access some tissues in order to extract stem cells, such as the bone marrow, adipose tissue, the endothelium, the skin or even the muscles, in other tissues such as the nervous system, neuroblasts are scarce and difficult to access, and extracting them may compromise the performance of the rest of the nervous system. This problem would be resolved were the apparent versatility of bone marrow stem cells to be confirmed. Secondly, there is the issue of quantity: because their biological function is cell replacement, the reserve of ES cells in the adult is finite and subject to depletion, with the result that the number of ES cells diminishes as the individual ages. Thirdly, these cells are difficult to propagate in the culture medium while maintaining them in a dedifferentiated state, probably because we do not yet understand the conditions required, which may in any case be different for each type of stem cell. In any case, any future cell therapy will require significant quantities of differentiated cells. Fourthly, and this is a serious problem for some types of cell therapy, there is the low capacity of adult stem cells for genetic manipulation. This is in contrast with ES cells, in which it is far easier to detect a specific genetic defect and then select the desired cells for use in future treatment. Last but by no means least, the capacity of adult stem cells for differentiation appears to be less than that of ES cells. This is due to the fact that adult stem cells are multipotent but not pluripotent, because during their development they have already undergone

specific programming which pushes them in the direction of certain differentiation pathways and closes off or at least makes it more difficult for them to follow others. Experiments which have been carried out into transdifferentiation (switching from one differentiation pathway to another) suggest that in most cases this appears to be limited, while where it does occur it is not clear whether it is actually the result of cell fusion.

The therapeutic potential of adult stem cells therefore remains unclear. While they appear to be more restricted in their capacity for differentiation and do not display the same versatility in terms of therapeutic potential as ES cells, it should not be forgotten that they offer total genetic compatibility with the donor without the need to resort to SCNT techniques. Moreover, it is possible that in the future it will be possible to work with pluripotent adult stem cells, and it is obvious from a scientific perspective that we should always use the cell type best suited to the patient, regardless of whether this has come from a gametic embryo, a somatic embryo or an adult. The use of ES cells obtained from therapeutic cloning and the use of adult stem cells should therefore be viewed as complementary rather than competing strategies, given that the choice to use one therapeutic approach or the other will be decided by the illness and the affected cells.

Indeed, it may well be that the information obtained from research into ES cells and adult stem cells regarding the processes of differentiation and dedifferentiation will be completely complementary at some point in the future and that, if research into both types of cell is successful, scientists may be able to completely dedifferentiate multipotent adult stem cells, using the appropriate nuclear reprogramming, to obtain pluripotent cells which are similar to ES cells, without the need to have recourse either to donated oocytes (which is always a potential problem) or to therapeutic cloning using SCNT. In order to do this we first require a better understanding of the processes of differentiation and dedifferentiation in cells, so that we can use a patient's somatic stem cells firstly to obtain pluripotent cells and then differentiate these into the specific cell types required for cell or tissue therapy. So, for example, embryonic stem cell transcription factor Oct-4 is required to regulate and

maintain the pluripotent state during development. Understanding how this transcription factor and its target genes are regulated might very well allow us to manipulate this gene in somatic cells in order to dedifferentiate them and reprogramme them to a pluripotent state similar to that of the embryo.



## ETHICAL ASPECTS

From an ethical perspective, the scientific or therapeutic use of human embryos raises a major concern: the legitimacy or otherwise of using embryos for a purpose other than that for which these embryos were originally destined – reproduction. This concern or problem goes hand in hand with another apparently more far-reaching question, that of the humanity or dignity of the embryo. Given that some sectors of society view the embryo as a potential person, using it for purposes other than to produce a human being is tantamount to usurping powers which are not ours to exercise. From this viewpoint, research is seen as a way of perverting the very nature of the embryo and, even worse, as the destruction of something which should be viewed as a human being in its own right.

The problem here is not scientific or even ethical, but rather religious. Philosophers have always debated at what point a human being comes into existence: that is, at what point, between the production of an embryo and the birth of a child, we can say that an individual person exists. Given that there is no empirical answer to this question, we must turn to religion or metaphysics for a response. In other words, the answer is doctrinal, drawn more from religious or ideological beliefs than from a strictly rational argument. The embryo is without doubt a potential human being, but only a potential one, as is the foetus during the first weeks of development. Only unanimous agreement across the whole of society as to the human dignity of the embryo could prevent us from accepting embryo research, and such agreement does not currently exist. The holders of the viewpoint that an embryo is fully human base their position on religious doctrine, but religious beliefs are not universal and it is not legitimate to impose such beliefs on the population as a whole.


The position which is most radically opposed to the ethical legitimacy of embryo research is based on dogmatic conviction and opposes such research irrespective of whether the embryos are the product of *in vitro* fertilisation, abortions or cloning techniques. In all of these scenarios the embryo's development as a biological unit is interrupted, thereby halting what is viewed as a 'natural' process. The pro-life groups who defend this position start from the assumption that human beings exist from the moment of fertilisation, that

humanity and dignity are as inherent to the embryo as they are to the fully developed person, and that using embryos as a means to an end and not as an end in itself is as much of a sin as committing murder.

A more tolerant position, and one which is more favourably disposed towards research using embryos produced from *in vitro* fertilisation, is the gradualist approach which distinguishes between different stages in the embryo's development, specifically before and after fourteen days following fertilisation. Before the fourteen-day mark what exists is a mass of dedifferentiated cells. After fourteen days, however, the first traces of what will become the embryo's nervous system start to appear, together with the formation of the primitive cell line and the beginning of neurone development, as a result of which the embryo's individuality is considered to be determined. This perspective does not deny that the human embryo deserves respect and protection, but argues that the level of respect and protection depend on the stage which the embryo has reached. It is for this reason that many scientific, ethical, legal and political forums have agreed that the manipulation of embryos after fourteen days is not legitimate, but that it should be allowed prior to this date. What is envisaged is a gradual protection, which increases in line with the growing viability of the embryo as a future individual. As many early embryos are lost naturally, what the technique does is not so different from what already occurs without any external intervention. Moreover, we have already seen that the surplus gametic embryos (produced by fertilising an ovum with a sperm cell) which are used for research do not have a reproductive purpose as they no longer form part of a reproductive project, whether *de facto* or *de jure*. Their only possible fates are indefinite cryopreservation, destruction or use for research. The gradual increase in rights, which in this case depends on the age of the embryo, is common both in moral theory and in health law.

The view that the embryo passes through a series of developmental stages is not one which is shared by Darwinian biologists, who do not believe that human life starts at a specific moment, and do not therefore accept that all the moral argument should focus on this point in time as the instant when human life begins. However, the theory is well established and is a response to the





pragmatic requirement to identify a starting point for human life, as if the morality or immorality of manipulating embryos depended on the definition itself. Aristotle, who never so much as dreamed of the possibility of cloning, asked at what precise moment human life began to be rational rather than purely vegetative (as in plants) or sensitive (as in animals). This question was echoed by medieval philosophers, and by St Thomas of Aquinas in particular, who asked when the soul entered the body and thus initiated human life in the true sense. This question has never received a unanimous or totally convincing answer, and this is why we find ourselves addressing the same problem today, albeit using different terminology.

What has been said up to this point only applies to research on existing embryos, and not to SCNT cloning, which adds new dimensions to the problem of whether such activities are ethically legitimate or not.

Ethical judgements with regard to embryo cloning need to distinguish between two fundamentally different areas of activity: cloning for purely therapeutic purposes, and cloning for reproductive purposes. In the case of reproductive cloning, ethical legitimacy is far more doubtful than in the preceding cases. The somatic embryo is a product of human ingenuity, as the SCNT technique on which it is based is a human invention which has no biological equivalent. The somatic embryo is produced for reproductive purposes, but the technique has never been applied to human beings and probably never will be. There are a number of reasons for this: the practice itself is an unnecessary anachronism; the number of women required to produce a single clone is extremely high; even if the process were possible it would still be uneconomical and, in any case, only feasible within the context of an absolute dictatorship with no place for ethical principles; and finally, there is a widespread consensus which condemns the practice.

While therapeutic cloning, based as it is on the SCNT technique, is also a product of human ingenuity, it has a very different aim from reproductive cloning. In this context, the technique is used to produce somatic embryos not for reproduction but simply so that they can be cultivated until they reach the blastocyte stage so that stem cell lines can be derived from them for therapeutic

or research purposes. This possibility is not unanimously rejected by society. Rather, there are two responses to it which are similar to the attitudes to research on existing embryos. The first of these is based on Catholic orthodoxy and, as in the case of research on existing embryos, absolutely refuses to accept the morality of this technique, on the basis of the doctrine that the embryo cannot be used or produced for any purpose other than for reproduction. What is rejected is not so much the technique itself as human intervention in a natural process.

The second position displays a willingness to accept cloning for therapeutic purposes so long as this is justified for one of the following two reasons: 1) that the embryos obtained from IVF are insufficient; 2) that cloning makes it possible to obtain autogenous tissues which have greater therapeutic use than those obtained from existing embryos. There is also a fundamental argument underlying these two: solidarity. This argues that if we have techniques which could be developed in order to cure formerly incurable illnesses then there is no reason not to use these techniques, subject to all the necessary controls and precautions, in order to improve some people's existence or even to prevent disease from manifesting where such techniques make this possible. What are referred to as the 'third generation human rights' stress our obligations with regard to future generations. The use of existing embryos or the cloning of embryos for the good of these generations cannot be seen as reprehensible by rational or lay ethics. Instead it is seen as offering a contribution to achieving the aims of medicine and offering a possible replacement therapy for treatments which are unsatisfactory or not generally applicable.

Fear of the undesirable effects or uses of any innovative procedure is one of the key reasons for delays in developing such procedures and accepting them within the legal framework. This is the fear of the 'slippery slope' which leads to every conceivable abuse. If we legalise cloning for therapeutic purposes, the argument goes, the technique will eventually also be used for reproductive purposes. Or if we allow research with surplus embryos from IVF treatment, the tendency will be to produce more embryos than is necessary. These fears are not completely groundless, given that human nature is scarcely angelic and

the wish to innovate, experiment or satisfy a range of needs clearly has to be subject to limitations. But this same fear has been expressed whenever something new has emerged, even when these innovations have brought progress to humanity. A rational or lay ethics does not oppose innovation or change, but instead demands that such changes are introduced responsibly, respecting our fundamental rights and values.

It does not therefore follow that once we allow embryo research or therapeutic cloning everything will be permitted. Legislation would have to provide the limits and controls necessary to ensure that the both the ends pursued and the means used to reach them are consistent with our fundamental rights. One example of this, already covered by existing legislation, is the need for the consent of couples who are potential embryo donors and of women who donate ova. The many uncertainties which normally accompany scientific and technical advances mean that it is vital to achieve as much consensus as possible regarding the issues which need to be legislated for, and that we also need to rigorously monitor and regulate any research activity.

There are two more issues with clear ethical implications. The rigorous monitoring of stem cell research for use in regenerative medicine, whether these are adult stem cells or ES cells derived from SCNT embryos or from surplus embryos from IVF treatment, needs to include an exhaustive analysis both of the potential risks and of the probable benefits of any treatments derived from this type of research for possible patients. Only informed, unbiased observers can provide a balanced assessment of the possible applicability of research which combines the study of human biology with specific clinical applications. Great care must also be taken to ensure that all the information which is released to the general public is accurate and has been carefully checked, so as not to arouse unfounded expectations with regard to the possible therapeutic application in the near future of techniques which are still at the research stage.

We also need to consider the issue of how the advances in regenerative medicine which derive from such research are distributed and how accessible they are. Here we should recall that in a welfare state there is a universal, public



health system with the duty to promote health among all sectors of society. For this reason it seems both logical and advisable that research in these areas should not be left exclusively in the hands of private companies or institutions, given that this could, in the future, lead to treatments being provided solely by the private sector for financial gain, rather than to improve the quality of life of large numbers of patients. Alongside the creation of a satisfactory legal framework, we should consider the need to invest public money in research whose results could benefit society as a whole, independently of the purchasing power of any potential patients. It would be ethically regrettable if, as a result of the inaction or apathy of government, only patients of certain income levels were able to access this type of treatment because the research had been sponsored solely by private companies.



## LEGAL ASPECTS

The legislation governing SCNT is currently almost non-existent, in part because until 2004 the procedure had not delivered any results, and also because the majority of countries prohibited SCNT wholesale, together with reproductive cloning. In this section we analyse the situation at the beginning of 2005, but the reader should bear in mind that the situation may well have changed by the time this has been published.

On the 18th of February, 2005 the United Nations passed a non-binding recommendation, proposed by Honduras, and supported by Costa Rica and the United States, prohibiting any type of cloning, whether reproductive or therapeutic, which it deemed to be an attack on human dignity. All the Islamic countries abstained from voting, while some countries, such as the United Kingdom and Belgium, immediately announced that they would ignore the proposal and continue with their research into therapeutic cloning.

In the USA, the use of federal funds in stem cell research is forbidden, but each state can legislate independently on the issue. In November 2004, California approved stem cell research in a referendum.

In eastern Asia, South Korea authorises therapeutic cloning, while Singapore is considering banning it.

In Europe, SCNT has been legal in the United Kingdom since 2001, and in Belgium since 2004. In Sweden it has been legal since the 1st of April, 2005, and it is also permitted in Finland, although no projects have been submitted for approval to date. It should be noted that, although Sweden and Finland signed the Oviedo Convention on Biomedicine, they did not ratify it.

In Finland, the Medical Research Law of 1999 permits research with embryos until 14 days, but it prohibits the creation of embryos for the purposes of research. However, it defines the creation of embryos as the fusion of gametes and therefore allows SCNT.

Spain signed and ratified the Oviedo Convention, and is therefore unable to legalise therapeutic cloning for the purposes of research or experimentation. However, it can authorise therapeutic cloning to treat specific patients and also for clinical trials: in other words, Spain can apply the results of research which

has been conducted elsewhere, a position which not only implies a degree of hypocrisy but which also results in significant financial losses. The Constitutional Court defends the rights of the embryo, so long as it is alive and viable. A gametic embryo discarded after IVF or a somatic embryo generated by SCNT are not, in principle, viable, as we have already seen, and it may therefore be possible to use them to conduct research in the future.

As a result:

1. The Spanish government should use every means at its disposal to authorise therapeutic cloning as widely as possible within the legal context of the European Union, and to finance research using SCNT stem cells.
2. Each project should be evaluated on an individual basis and approved, where appropriate, by the competent body.
3. The donation of oocytes should be permitted within the specified legal context, and the signed informed consent of donors should cover this eventuality. Financial compensation should be the same as for the donation of oocytes for reproduction, and the anonymity of the donor should be guaranteed.

In the same way, the donation of somatic cells so that their nucleus can be extracted and used in SCNT should be permitted for use in cell therapy. The signed informed consent of the donors should cover this eventuality.

4. The guidelines that regulate research with embryos should be applied to donated embryos, with the words 'father' and 'mother' being replaced by the terms 'oocyte donor' and 'nucleus donor'.
5. The implantation in the uterus of the products of SCNT should be banned.
6. Reproductive cloning should be prohibited.

## WHERE DO WE STAND NOW? WHAT DOES THE FUTURE HOLD?

Despite the therapeutic potential offered by adult stem cells and ES cells (whether or not these are obtained by SCNT) it is clear that our knowledge of its potential and versatility is still at the very early stages, and the results of research remain preliminary. There is a need for a significant body of consistent, rigorous research, both cognitive and experimental, encompassing a range of perspectives including both the scientific and the social, in order to identify realistic prospects for the application of these new techniques which are, in any case, unlikely to be available in the immediate future.

However, it is not unreasonable to assume that if research into ES cells and therapeutic cloning continues then it will be possible in the future to provide a versatile, renewable source of tissue and cells for replacement therapy in a range of illnesses for which, in most cases, the only palliative treatment which currently exists is transplant from a compatible donor.

## GLOSSARY:

**Gametic embryo:** Embryo which develops from a zygote (diploid) obtained by fertilising an oocyte (haploid) with a sperm cell (haploid) and whose biological purpose is reproduction. This embryo can be created *in vivo* or *in vitro*. If the embryo is implanted, it has a high viability rate.

**Germinal cells:** Cells in the gonads which create the gametes, thereby passing their genetic material on to the individual's offspring. The formation of the gametes involves a number of processes affecting the reordering and expression of the genetic material: these include meiosis, to generate haploid gametes (n) and nuclear reprogramming so that all the nuclear genetic information is available to be expressed in the embryo.

**Nuclear reprogramming:** General name for a series of processes which aim to make all the cell's genetic information accessible, eliminating the epigenetic modifications which have been superimposed on the genetic material during embryonic development and cellular differentiation.

**Reproductive cloning:** Process by which a somatic embryo is created with the aim of creating an individual which is genetically identical to another.

**SCNT:** Abbreviation of Somatic Cell Nuclear Transfer, in which the nucleus extracted from a somatic cell (one which is not involved in the reproductive process) is inserted in an enucleated oocyte (one from which the nucleus has been removed) to create a somatic embryo which is genetically identical to the individual donor. This somatic embryo can be used in therapeutic or reproductive cloning.

**Somatic cells:** Cells which form part of an individual but which do not participate in the formation of gametes. Their genetic material is not passed on to the offspring. These are mostly differentiated cells which perform a specific function, and only part of their DNA is expressed.

**Somatic embryo:** Embryo which develops from the transfer of the nucleus of a somatic cell (diploid) to an enucleated oocyte (an oocyte from which the nucleus has been extracted). It is generated entirely *in vitro* and is not the product of any reproductive or fertilisation process, and therefore does not have any biological counterpart and can only be generated as the result of



human intervention. Its purpose in therapeutic cloning is the production of stem cells so that these can then be differentiated. Both its origin and its purpose mean that it is not equivalent to an embryo generated by fertilisation. Even with the most advanced modern techniques in the most successful animal models, only between 1 and 5% of somatic embryos generated from reproductive cloning come to term, and even these present several defects with regard to the expression of their genetic material.

**Stem cells:** Cells which have the capacity to reproduce themselves, producing either identical daughter cells or daughter cells which follow specific differentiation pathways. These are known either as multipotent cells (**adult stem cells**) or pluripotent cells (**embryonic stem cells** from the blastocyte) when they are able to differentiate into a range of different cell types, or totipotent cells (cells from the initial embryo as it divides) if they can generate all the cell types found in the individual. If they come from an embryo they are called **embryonic stem cells** (or **ES cells** for short). If they come from an adult, they are called **adult stem cells**, and they generally have less potential for differentiation.

**Therapeutic cloning:** Process by which a somatic embryo is created which will never be implanted but will instead be broken down *in vitro* so that embryonic stem cells genetically identical to the cells of the individual who donated the nucleus can be obtained.

**Zygote:** Initial embryo obtained by fertilising an ovum (n, haploid) with a sperm (n, haploid). First diploid cell (2n) from which a new individual will develop.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the following for their help with the writing of this document:

- **Dr. Jordi Alberch**, Lecturer in the Department of Cellular Biology and Pathological Anatomy of the University of Barcelona.
- **Dr. Margarita Boladeras**, Professor of Moral Philosophy at the University of Barcelona.
- **Dr. María Casado**, Director of the Observatory for Bioethics and the Law of the Barcelona Science Park.
- **Dr. Carme Nogués**, Senior Lecturer in Cellular Biology at the Autonomous University of Barcelona.
- **Dr. Encarna Roca**, Professor of Civil Law of the University of Barcelona.
- **Dr. Carlos Romeo Casabona**, Chair of Criminal Law at the University of the Basque Country.
- **Dr. Carlos Simón**, Scientific Director of the Valencian Institute for Infertility.
- **Dr. Verena Stolcke**, Professor in the Department of Social Anthropology of the Autonomous University of Barcelona.















F U N D A C I Ó

VÍCTOR  
GRÍFOLS  
i LUCAS

**Fundació Víctor Grífols i Lucas**

c/ Jesús i Maria, 6 08022 BARCELONA SPAIN

Tel. +34 935 710 410 Fax +34 935 710 535

e-mail: [fundacio.grifols@grifols.com](mailto:fundacio.grifols@grifols.com)

[www.fundaciogrifols.org](http://www.fundaciogrifols.org)