

Consideracions sobre
la transferència nuclear

Consideraciones sobre
la transferencia nuclear

General considerations
regarding nuclear transfer

Comitè Consultiu de Bioètica de Catalunya

© 2006 Generalitat de Catalunya
Departament de la Salut

Tiratge: ? exemplars

Producció editorial: Prous Science, S.A.

Queda rigorosament prohibida, sense l'autorització per escrit del titular del Copyright, sota les sancions establertes a les lleis, la reproducció parcial o total d'aquesta obra per qualsevol mitjà o procediment, incloent-hi la reprografia i el tractament informàtic, així com la distribució d'exemplars mitjançant lloguer o préstec públic.

Dipòsit legal: B-?????-06
ISBN:



**Consideracions sobre
la transferència nuclear**

**Consideraciones sobre
la transferencia nuclear**

**General considerations
regarding nuclear transfer**



PRESENTACIÓ

Els nous descobriments en medicina i biologia comporten un increment notable de les controvèrsies ètiques, que fan necessària una reflexió racional i metòdica sobre les decisions que es poden prendre. Aquestes reflexions han de tenir en compte, els criteris científicotècnics, els límits econòmics, el marc legal i els aspectes que poden comprometre els drets humans dels malalts i usuaris dels serveis sanitaris, així com determinats valors socials o personals.

El Comitè Consultiu de Bioètica de Catalunya, conscient de la importància d'aquesta reflexió i de la seva complexitat, va creure convenient impulsar la creació d'un grup de treball estable per a l'estudi i la reflexió sobre la recerca biomèdica, amb l'objectiu d'analitzar els problemes ètics que es plantegen i, en darrera instància, oferir una qualitat assistencial òptima amb criteris de justícia i equitat.

Un dels objectius principals d'aquest grup de treball és informar sobre les noves tecnologies i prestacions en el marc de la sanitat catalana abans que es posin en pràctica, per a la qual cosa ha de:

- Identificar i definir les controvèrsies ètiques que apareixen amb els nous avenços en el camp mèdic i de la biologia, per tal de poder respondre i anticipar-se a les repercussions que puguin tenir en la ciutadania.
- Elaborar i aportar raons que permetin la reflexió, promoure el debat i facilitar la comprensió i discussió pública, i quan sigui necessari formular guies de recomanació o propostes de regulació normativa.

- D'acord amb la transcendència dels seus informes, editar i fer públiques les seves recomanacions i representar al Comitè Consultiu de Bioètica de Catalunya quan sigui convenient.

Creiem que aquest primer document, *Consideracions sobre la transferència nuclear*, s'emmarca en la consecució dels objectius assenyalats i, per tant, que serà d'utilitat no només per als professionals implicats sinó també per al conjunt de la societat.

Barcelona, abril de 2006

Victòria Camps Cervera

Presidenta del Comitè Consultiu
de Bioètica de Catalunya

Rafael Manzanera López

Coordinador del Comitè Consultiu
de Bioètica de Catalunya

**Formen part del Grup per a l'Estudi i Reflexió
sobre la Recerca Biomèdica que ha elaborat aquest document:**

Anna Veiga

Directora

Directora Científica del Servei de Medicina de la Reproducció,
Institut Universitari Dexeus, Barcelona.
Directora del Banc de Línies Cel·lulars,
Centre de Medicina Regenerativa, Barcelona.

Lina Badimon

Directora de l'Institut Català
de Ciències Cardiovasculars CSIC, Barcelona.

Marc A. Broggi

Cap de Servei de Cirurgia,
Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona.

Joaquim Calaf

Director del Servei d'Obstetrícia i Ginecologia,
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

Jordi Camí

Director del Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona.
Catedràtic de Farmacologia, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona.

Maria Casado

Directora de l'Observatori de Bioètica i Dret.
Professora Titular de Filosofia del Dret, Moral i Política,
Universitat de Barcelona.

José J. Navas

Direcció General d'Estratègia i Coordinació,
Departament de Salut, Generalitat de Catalunya, Barcelona.

Teresa Pàmpol

Directora de l'Institut de Bioquímica Clínica,
Corporació Sanitària Clínic, Barcelona.

Joan M. Pons

Director de l'Agència d'Avaluació de Tecnologia i Recerca Mèdica.

Josep Santaló

Professor Titular de Biologia Cel·lular,
Universitat Autònoma de Barcelona.

Josep M. Busquets

Secretari

Responsable de Bioètica, Departament de Salut,
Generalitat de Catalunya, Barcelona.

ÍNDEX

1. CONSIDERACIONS PRÈVIES.....	7
2. ANTECEDENTS.....	8
3. PROCEDIMENT.....	9
4. QUÈ ENTENEM PER PSEUDOEMBRIONS?.....	10
5. UTILITAT	11
6. PROBLEMES TÈCNICS DE LA TRANSFERÈNCIA NUCLEAR.....	12
7. CONSIDERACIONS ÈTIQUES.....	14
8. CONSIDERACIONS JURÍDIQUES	17
9. CONCLUSIONS.....	18
10. GLOSSARI.....	19
11. BIBLIOGRAFIA	21

1. CONSIDERACIONS PRÈVIES

L'informe *Consideracions sobre la transferència nuclear* es va aprovar per la majoria dels membres del Comitè Consultiu de Bioètica de Catalunya a la sessió plenària del dia 20 de desembre de 2005, amb el vot particular del Sr. Joan Vidal.

Encara que en aquella data ja existien sospites sobre la possibilitat que les investigacions del Dr. Hwang fossin falses, no va ésser fins a principis de l'any 2006 quan el científic coreà va reconèixer obertament aquest frau. El grup de treball que ha elaborat el document *Consideracions sobre la transferència nuclear* considera que el debat no ha de tractar únicament sobre què passa actualment sinó que ha de tenir una perspectiva de futur. El frau del Dr. Hwang no invalida aquesta línia d'investigació sobre transferència nuclear. Els arguments que defensen la necessitat d'impulsar aquesta investigació segueixen essent vàlids encara que s'eliminin les dues referències als treballs d'aquest científic que es troben en la versió aprovada pel comitè.

El primer article que el Dr. Hwang va publicar a la revista *Science*, el febrer de 2004, descrivia la metodologia que havia seguit per obtenir dues línies de cèl·lules mare embrionàries procedents d'un embrió clonat. El segon article, també publicat a *Science*, el maig de 2005, descrivia la creació d'onze línies de cèl·lules mare embrionàries obtingudes a partir de cèl·lules de persones afectades de diferents malalties. Entre els dos articles es va publicar a la revista *Nature* el naixement de Snuppy, el primer gos clonat.

El maig de 2005, un programa de la televisió MBC (*Munhwa Broadcasting Corporation*) va assenyalar que algunes de les donants d'òvuls eren estudiants o becàries de l'equip de Hwang, o que havien estat compensades econòmicament –ambdues pràctiques èticament reprovades, ja que no s'inclouen en els protocols aprovats per la Comissió d'Ètica de la Universitat Nacional de Seül (SNU) (Institució del Dr. Hwang)– i que les

imatges publicades a *Science* havien estat manipulades. La revista *Science* va iniciar una investigació exhaustiva del material publicat i la SNU va crear un comitè d'investigació. Aquest comitè va concloure a principis de l'any 2006 que tant l'article de l'any 2004 com el del 2005 eren falsos. S'havien clonat les imatges i les proves, però no les cèl·lules, i mai no havien existit cèl·lules mare a partir d'embrions clonats, ni de persones sanes ni de pacients. Només és cert el clonatje del gos.

Des del punt de vista científic ens trobem novament en la situació de l'any 2004, quan no es sabia si era possible obtenir cèl·lules mare embrionàries a partir d'embrions clonats de l'espècie humana. D'altra banda, s'ha reobert el debat sobre l'adequació del mètode de revisió dels articles científics per part de les revistes que els publiquen, que sembla ser que presenta carències importants. Ens hem de preguntar quantes de les persones que signaven el treball coneixien el frau i quines pressions van patir per part del Dr. Hwang. Els dos articles han estat eliminats de les revistes que els van publicar.

2. ANTECEDENTS

La primera referència d'un procediment de transferència nuclear que hagi portat al naixement d'un mamífer amb èxit és la de Wilmut i cols., l'any 1997, a la revista *Nature*. S'informava del naixement de l'ovella Dolly. D'aleshores ençà, la transferència nuclear s'ha dut a terme amb èxit en un nombre reduït d'espècies, com ara ratolins, vaques, cabres, macacos, porcs, conills i gossos.

La possibilitat d'aplicar aquestes tècniques a la reproducció d'éssers humans ha suposat un rebuig generalitzat de la comunitat internacional, tant en l'àmbit científic com en el de la política i el dret. Aquesta petició de prohibició inclou el mal anomenat clonatje terapèutic, que utilitza

aquesta mateixa tècnica per clonar embrions i a partir d'ells establir línies cel·lulars totipotents que permetin desenvolupar línies cel·lulars i teràpies específiques, sense pretendre en cap moment utilitzar-les amb finalitats reproductives.

3. PROCEDIMENT

Hi ha diferents mètodes per realitzar una transferència nuclear, en funció de l'espècie de què es tracti. Sembla que no hi ha una metodologia estàndard vàlida per a totes les espècies, de manera que cada vegada cal posar la tècnica a punt per adaptar-la a les característiques pròpies de l'espècie.

En essència, cal introduir el material genètic de la cèl·lula que s'ha de clonar a un oòcit de la mateixa espècie prèviament enucleat (sense el seu propi material genètic). Es considera que l'oòcit té la capacitat de reprogramar el programa d'expressió gènica cel·lular, reinicialitzant-lo d'alguna manera, de forma que la cèl·lula nova resultant serà capaç de donar qualsevol altre tipus cel·lular (esdevindrà totipotent).

Conceptualment, la transferència nuclear consta de tres fases:

1. Enucleació de l'oòcit: en primer lloc cal eliminar el material genètic de l'oòcit receptor. Es pot fer mitjançant micromanipulació o mitjançant mètodes químics.
2. Transferència del nucli: generalment es fa per fusió del cariosoma (nucli cel·lular envoltat d'una petita porció de citoplasma) amb el citoplasma de l'oòcit, ja sigui per electrofusió o bé mitjançant algun agent fusogènic (virus Sendai). Com a alternativa es pot fer per microinjecció, com si es tractés d'un procediment d'injecció intracitoplasmàtica d'esperma.

3. Activació de l'òocit: atès que, a diferència de l'espermatozoide, les cèl·lules embrionàries o adultes no són capaces d'activar l'òocit, cal induir aquesta activació un cop realitzada la transferència del nucli per tal que l'òocit reprogrami el genoma introduït i iniciï el programa de desenvolupament embrionari. Habitualment es fa mitjançant un pols elèctric o algun estímul químic (etanol o estronci), o bé mitjançant una combinació d'ambdós.

4. QUÈ ENTENEM PER PSEUDOEMBRIONS?

En termes generals es considera un embrió al producte de la concepció. Així, segons el *Diccionario de la Real Academia Española*, un embrió és un “ser vivo en las primeras etapas de su desarrollo, desde la fecundación hasta que el organismo adquiere las características morfológicas de la especie. –En la especie humana, producto de la concepción hasta fines del tercer mes de embarazo.–...”, i segons l'Institut d'Estudis Catalans és un “organisme viu des de l'estat d'òvul fecundat, o bé activat, durant un període determinat arbitràriament, fins que el nou ésser ja manifesta la seva estructura adulta o és capaç de portar una vida independent, ni que sigui sota l'aspecte d'una larva.–...” Per aquesta raó, i en virtut del procediment pel qual s'obtenen, no considerem el producte de la transferència nuclear com un embrió sinó més aviat com un pseudoembrió (en té l'aspecte, però no ho és). Sovint es fa referència a aquests pseudoembrions com a pseudoembrions somàtics o embrions per transferència nuclear (en anglès *NT embryos*), termes que poden considerar-se sinònims.

Els pseudoembrions obtinguts són només parcialment clònics de la cèl·lula originària, ja que el DNA mitocondrial que contenen no es correspon amb el d'ella perquè deriva de l'òocit receptor. Per tant, es consideren només un clon nuclear.

5. UTILITAT

La transferència nuclear s'ha considerat d'utilitat en diferents aspectes de la biologia de la reproducció i l'embriologia, la biotecnologia i també la medicina, tant regenerativa com en els seus aspectes més bàsics.

En el camp de la biologia de la reproducció, la utilitat proposada més coneguda és l'anomenat clonatge reproductiu, amb el qual es postula la possibilitat d'emprar la transferència nuclear amb finalitats reproductives aplicades a l'espècie humana (ja que en espècies animals no té sentit amb finalitats merament reproductives). S'ha proposat per a aquells casos en què ambdós membres de la parella fossin estèrils, per oferir la possibilitat d'engendrar un individu clònic d'algun dels dos membres de la parella. Aquesta no és, però, l'única aplicació possible, ja que també s'ha suggerit en tècniques de reconstrucció oocitària, aplicable a dones sense oòcits. Aquesta tècnica s'ha provat amb cert èxit en ratolins.

En l'àmbit de la biotecnologia, per la qual es va desenvolupar inicialment, s'ha proposat com un mètode eficaç de producció d'animals transgènics.

De totes les possibles aplicacions, la que actualment suscita més expectatives és la relacionada amb la medicina regenerativa. La utilitat de la transferència nuclear en medicina regenerativa prové de les possibilitats tant en la recerca bàsica com en les aplicacions terapèutiques futures que ofereixen les cèl·lules mare embrionàries obtingudes a partir de pseudoembrions de transferència nuclear. Cal aclarir que les cèl·lules mare embrionàries s'obtenen de la massa cel·lular interna de l'embrió preimplantacional, i per aquesta raó cal obtenir un pseudoembrió per transferència nuclear i derivar-ne després l'estirp de les cèl·lules mare embrionàries.

S'ha proposat d'utilitzar la transferència nuclear en els casos en què calgués desenvolupar cèl·lules mare embrionàries per obtenir cèl·lules específiques i diferenciades per substituir cèl·lules danyades del pacient sense

que es produeixin processos de rebuig, ja que serien clòniques (excepte el DNA mitocondrial) de l'individu receptor.

Finalment s'ha proposat emprar les cèl·lules mare embrionàries derivades per transferència nuclear de pacients amb malalties genètiques com a models per estudiar els mecanismes productors d'aquesta malaltia i poder desenvolupar teràpies útils.

Molt recentment (Cowan i cols., 2005) s'ha publicat la possibilitat d'utilitzar les pròpies cèl·lules mare embrionàries humanes per reprogramar cèl·lules somàtiques amb èxit i derivar-ne després diferents tipus cel·lulars. Aquest fet sembla indicar que la capacitat de reprogramació no ha d'estar exclusivament en l'òocit, sinó que es pot trobar en algunes cèl·lules indiferenciades. També s'ha suggerit la possibilitat d'emprar pseudoembrions partenogenètics per derivar-ne cèl·lules mare embrionàries. Aquests pseudoembrions no serien viables, però sí que se'n podrien derivar cèl·lules mare embrionàries.

Aquestes tècniques, un cop perfeccionades, podrien representar una alternativa a la transferència nuclear per a la producció de cèl·lules mare embrionàries. Cal remarcar que encara queden per resoldre problemes tècnics importants i que caldrà aprofundir en aquest àmbit de recerca per avaluar-ne la utilitat real.

6. PROBLEMES TÈCNICS DE LA TRANSFERÈNCIA NUCLEAR

Els primers problemes que van sorgir amb la transferència nuclear estaven relacionats amb l'activitat de les telomerasas, ja que es va observar que els telòmers (extrems dels cromosomes, marcadors de l'edat de la cèl·lula) de la primera ovella clonada, Dolly, eren més curts del que és

normal. Aquest problema es va associar amb possibles problemes d'envelliment prematur, i tot i que la mort de Dolly no es va poder lligar directament a aquest fet, es va produir per una malaltia respiratòria típica d'animals de certa edat. Malgrat tot, aquestes problemes no s'han detectat en altres animals clònics i, de fet, vedells clonats en sèrie en repetides vegades presentaven telòmers més llargs del que és normal. Per tant, segueix oberta la controvèrsia sobre el problema de la llargada dels telòmers, i consegüentment de l'envelliment prematur.

Malgrat això, sembla ser que efectivament hi ha problemes en la transferència nuclear que semblen provenir de defectes en la reprogramació del material genètic introduït en l'òocit. Aquests errors de reprogramació es tradueixen en problemes que apareixen durant el desenvolupament embrionari, i que provoquen una eficàcia del clonatge baixa pel que fa a la taxa de naixements d'individus clònics en les espècies en què s'ha aconseguit. En termes generals aquesta eficàcia no supera el 3%, i s'observen avortaments espontanis (75% en un estudi en bovins) provocats, fonamentalment, per problemes en el desenvolupament de les membranes accessòries (placenta i corioalantoides). Durant el desenvolupament embrionari també s'ha descrit la "síndrome del fetus gran", que pot ser la causa d'una part d'aquests avortaments espontanis.

D'altra banda, s'ha descrit una taxa elevada de mort perinatal, que s'estén fins a diversos mesos després del part, i també problemes immunitaris i una incidència superior d'obesitat en la vida adulta (almenys entre els ratolins, anomalia que recorda els problemes de desenvolupament descrits anteriorment en altres espècies).

Tots aquests problemes en la reprogramació gènica suggereixen que potser afectin l'expressió de les línies de les cèl·lules mare embrionàries derivades dels pseudoembrions somàtics, la qual cosa podria comprometre llur viabilitat o llur capacitat de diferenciació. Pel que fa a la capacitat de desenvolupament, les dades de què es disposa semblen indicar que no es veu afectada, ja que hi ha línies de cèl·lules mare embrionàries derivades

de pseudoembrions somàtics que, al cap de un bon temps de cultiu i amb nombrosos subcultius, no han vist afectada la seva estabilitat cromosòmica ni la seva capacitat de desenvolupament. La segona conseqüència, la capacitat de diferenciació, s'ha demostrat en estudis amb teratomes induïts per la transferència de cèl·lules mare embrionàries en animals d'experimentació i per marcadors de diferenciació *in vitro*.

L'altre problema és la taxa, relativament baixa, d'obtenció de cèl·lules mare embrionàries derivades a partir dels pseudoembrions somàtics. La taxa global de tot el procediment és del 5,9% de línies de cèl·lules mare embrionàries per oòcit. Aquest fet implica la necessitat de disposar d'un nombre d'oòcits elevat a partir dels quals poder realitzar una transferència nuclear per derivar-ne les cèl·lules mare embrionàries. L'alternativa que s'ha proposat és la possibilitat d'obtenir oòcits a partir de les pròpies cèl·lules mare embrionàries, com apunten alguns resultats d'experiments duts a terme amb animals de laboratori.

7. CONSIDERACIONS ÈTIQUES

En primer lloc convé fer explícit que aquest grup de treball assumeix que existeixen raons sòlides per oposar-se al clonatge reproductiu d'éssers humans. Tanmateix, aquestes raons no són extrapolables a la utilització de la transferència nuclear en medicina regenerativa. Exposar les causes d'aquest raonament constitueix l'objectiu d'aquest informe.

La prohibició del clonatge reproductiu és raonable encara que només fos per una valoració de riscos. Com s'ha fet constar anteriorment, cal tenir en compte l'elevat índex de fracassos en la tècnica, els efectes no previstos, així com el risc del consumisme i la mercantilització que podria implicar. Tots aquests factors han de ser ponderats juntament amb els interessos del futur nen i de la societat en el seu conjunt, enfront dels interessos

reproductius dels possibles pares, tenint en compte que aquests no actuen sols, en ús de la seva pròpia intimitat –*privacy*– sinó que requereixen de la intervenció de tercers, o de l'Estat.

Queda fora de l'objectiu d'aquest document la consideració eticojurídica dels embrions, ja que, com s'ha argumentat anteriorment, en aquest cas s'obtenen pseudoembrions.

Per tant, es tracta d'analitzar si és jurídicament acceptable i moralment correcte obtenir pseudoembrions somàtics, per transferència nuclear, per a la investigació i la seva possible utilització terapèutica mitjançant la producció de cèl·lules mare embrionàries per a la seva posterior diferenciació en diferents tipus cel·lulars.

Aquí no debatim el clonatge reproductiu, rebutjat explícitament en el nostre ordenament jurídic, i sobre el qual la societat s'ha manifestat en contra.

Des del nostre parer, produir pseudoembrions per transferència nuclear per a la investigació i teràpia està justificat èticament, si es compleixen uns requisits que cal establir acuradament.

Considerem que la transferència nuclear està justificada perquè amb ella podran obtenir-se avantatges per als éssers humans ja nascuts, que són persones en tots els sentits del terme. Naturalment, acceptar aquesta possibilitat no significa que no hi hagi límits, sinó que cal determinar mitjançant una norma en quins casos i amb quins requisits serà acceptable: el consentiment dels donants del material biològic, un protocol científic adequat, una finalitat socialment acceptable, la impossibilitat d'obtenir resultats equivalents amb altres mètodes, l'avaluació pel Comitè de Garanties per a la investigació amb cèl·lules i teixits d'origen embrionari humà, etc.

Tenint en compte els elevats costos d'aquests processos, té una importància crucial que l'establiment de prioritats en l'assignació dels recursos es realitzi de manera transparent i democràtica, i que es respecti escrupolosament l'exigència d'equitat en l'accés als beneficis i per assumir els ris-

cos. No ignorem la dificultat de ponderar el risc/benefici i el cost/benefici. Aquesta qüestió és especialment rellevant en un sistema de cobertura sanitària universal i gratuïta, ja que la medicina genètica i individualitzada serà cara, i considerem que cal assegurar l'equitat en l'accés a les noves prestacions que es puguin derivar de les noves investigacions que proposem que s'autoritzin.

També és important no generar en la població falses expectatives per teràpies inaccessibles a curt termini, i aportar la informació necessària perquè la societat es posi respecte d'aquesta tècnica.

Evidentment, en la valoració del problema persisteixen les consideracions ontològiques, ètiques i jurídiques d'aquesta nova realitat que la tecnologia posa al nostre abast amb els processos de transferència nuclear. És necessari posar-se d'acord en alguna cosa que va més enllà d'una simple "qüestió terminològica": la definició del que és un embrió. Aquest és un punt previ –i menys tractat– a la ja clàssica discussió bioètica de si els embrions són o no persones. Les dues disputes no es resolen en termes de veritat empírica, ja que les expressions que s'utilitzen no són merament descriptives d'una realitat sinó que tenen una càrrega emotiva i ideològica important.

Com ja s'ha comentat, el que es deriva de la transferència nuclear, en què no s'utilitzen espermatozoides, no són pròpiament embrions. S'argumenta que les cèl·lules que s'obtenen per transferència nuclear, en què no hi ha fecundació, no s'ajusten a la definició d'embrió. No es pretén canviar el nom a una realitat. El que passa és que hi ha una diferència de fons que no s'ha ressaltat, precisament pel fet de continuar utilitzant-se una denominació incorrecta d'"embrió", per a una realitat nova i diferent. Mantenir aquesta caracterització tan poc rigorosa i amb tanta càrrega ideològica perjudica el coneixement i confon el debat social. El nostre dictamen-informe vol contribuir a crear pautes, que intentin trobar un consens social fonamentat en el coneixement dels avenços científics i en el respecte a uns mínims ètics comuns que han de permetre establir una normativa.

8. CONSIDERACIONS JURÍDIQUES

Com ja s'ha dit, el terme “clonació” comporta una càrrega emotiva desfavorable que contamina la discussió i dificulta l'acord ètic, i també el jurídic. És rellevant constatar que la visceralitat i la falta de diferenciació entre els diversos supòsits i arguments ha arribat, fins i tot, al debat que va tenir lloc a les Nacions Unides amb motiu de l'elaboració d'un conveni que pretenia homogeneïtzar la normativa internacional referent a això, i que va deixar la iniciativa en una mera declaració, del febrer de 2005, que declina en els Estats l'establiment d'una legislació interna sobre la matèria i que poc aporta a la declaració sobre el genoma humà i els drets humans ja promulgada l'any 1998.

Es pot veure una recopilació de la regulació actualment vigent en els diferents països que s'han ocupat de la qüestió a les webs de la Universitat de Minnessota,¹ de la Universitat de Montreal (Wertz i cols., 2003)² i a la Divisió d'Ètica en Ciències i Tecnologia de la Unesco (UNESCO 2004).³ Val a dir, però, que en molts països aquestes normatives es troben en procés de revisió. Les lleis nacionals són variables i en alguns casos s'estableix un marc on poden obtenir-se embrions *in vitro*, mentre que l'article 18.2 de la Convenció de Drets Humans i Biomedicina del Consell d'Europa es prohibeix la creació d'embrions si l'únic objectiu és la investigació.

Actualment, Espanya es troba en ple procés d'elaboració d'un projecte de Llei d'investigació en biomedicina per permetre obtenir embrions per a la

1 Universitat de Minnessota Medical School <http://mbbnet.umn.edu/scmap.html> (visitat el 9 de maig de 2005).

2 Stem Cells in a Pluralistic Society: Consequences of Proposed Canadian Legislation Dorothy C Wertz, Marie-Hélène Régner and Bartha Maria Knoppers. Genetics & Society Project, CRDP, Université de Montréal. Gen Edit 2003, Vol. I, N° 1. <http://www.humgen.umontreal.ca/int/GE/en/2003-1.pdf>

3 UNESCO. *Division of the ethics of Science and Technology. National Legislation concerning human reproductive and therapeutic cloning.* July 2004. <http://portal.unesco.org/shs/en/ev.php>

investigació en determinats casos, sempre que es justifiqui, que una comissió *ad hoc* aprovi el protocol i que es compti amb el requisit, necessari sempre, però no suficient, de disposar de la conformitat dels donants dels gàmetes.

9. CONCLUSIONS

Amb tot el que acabem d'exposar, considerem que la transferència nuclear amb finalitats relacionades amb la medicina regenerativa a partir de pseudoembrions per transferència nuclear no és rebutjable sempre que es porti a terme complint requisits clarament establerts.

L'autorització de la utilització de les tècniques de transferència nuclear haurà de realitzar-se mitjançant una normativa que estableixi els requisits que s'han de respectar. Serà imprescindible comptar amb l'autorització dels donants del material biològic utilitzat. A més, caldrà comptar amb l'aprovació d'una Comissió *ad hoc* que valori la idoneïtat del protocol, la qualificació dels investigadors, la necessitat d'ús d'aquests materials i de les tècniques, així com el compromís de confidencialitat de les dades, i les implicacions econòmiques, tenint en compte criteris de proporcionalitat entre mitjans i finalitats. Aquests comitès hauran de ser plurals i multidisciplinaris, conformatos per persones amb capacitat per buscar fórmules de consens real, i no simplement meres juxtaposicions de posicions diverses.

Els judicis ètics i les decisions politicojurídiques que calgui prendre sobre les noves tecnologies han d'estar basats en una anàlisi seriosa i responsable que ponderi i jerarquitzï els béns, valors i drets concurrents en cada cas, i tingui en compte que poden ser divergents i fins i tot contraposats. A més, col·laborant en aquesta tasca reguladora, poden entrar en joc ordres normatius diversos, amb els seus corresponents sistemes de sanció:

entre els jurídics, des de les administratives a les civils i penals; però també les deontològiques i les de la bona pràctica professional, amb les quals cal comptar perquè entrin a formar part del conjunt de mesures de control.

10. GLOSSARI

Blastocist: Estadi particular de l'embrió dels mamífers caracteritzat per la seva pluricel·lularitat, en el qual encara no s'ha produït la diferenciació de teixits ni esbossos d'òrgans. La disgregació de les cèl·lules en aquest estadi permet, sota certes condicions experimentals de cultiu en el laboratori, l'obtenció de cèl·lules mare embrionàries (CME), que poden diferenciar-se en diferents tipus cel·lulars, però són incapaces de formar per si soles un organisme complet.

Cèl·lula mare: És una cèl·lula indiferenciada que té com a característiques principals la seva capacitat de renovació indefinida i la seva potencialitat de diferenciar-se en diversos tipus cel·lulars. Poden ser multipotents, pluripotents o totipotents en funció dels tipus cel·lulars als quals poden donar lloc.

Cèl·lula mare embrionària (CME): En termes amplis, una cèl·lula mare derivada d'un embrió.

Cèl·lula somàtica: Qualsevol cèl·lula del cos d'un organisme en la que el nucli conté dos jocs complets de cromosomes (diploide).

Cèl·lula totipotent: Del llatí *totus* (tot). Cèl·lula amb capacitat de poder donar origen a qualsevol tipus de cèl·lula d'un teixit, òrgan humà i fins i tot embrions.

Clonatge: Acció de produir un clon, és a dir, un conjunt de cèl·lules derivades d'una única cèl·lula original i, en conseqüència, genèticament idèntiques a aquesta última. En un sentit general, el clonatge es refereix a la

producció de còpies genètiques d'organismes individuals o cèl·lules, sense intervenció de la reproducció sexual.

Injecció intracitoplasmàtica d'esperma: Un procés de fecundació d'un òvul mitjançant injecció d'esperma.

Oòcit: Cèl·lula germinal femenina dels mamífers. Equivalent a òvul.

Partenogenètic: Individu generat exclusivament a partir del gàmeta femení, sense la participació de l'espermatozoide. És una forma de reproducció habitual en determinats gèneres d'insectes.

Reprogramació cel·lular: Mecanisme complex els fonaments moleculars del qual són pràcticament desconeguts. Es sap que la composició macromolecular del citoplasma de l'oòcit és crítica en el procés de reprogramació del nucli, que entra llavors en una fase de divisió cel·lular i formació de l'embrió.

Telòmer: La secció final d'un cromosoma que impedeix que aquest es "desgasti". Cada vegada que un cromosoma es divideix, perd part dels telòmers, per la qual cosa les cèl·lules dels individus vells tenen telòmers més curts que les dels joves. La telomerasa és l'enzim que s'encarrega de sintetitzar-los i mantenir la seva mida adequada.

Transferència del nucli d'una cèl·lula somàtica a un òvul o zigot enucleat (TNCS): Es genera *in vitro* un zigot per microinjecció d'un nucli diploide, que prové d'una cèl·lula somàtica, del mateix individu o d'un altre, en un òvul al qual se li va eliminar el seu propi nucli haploide (enucleat). Aquest zigot donarà origen a un embrió *in vitro*. De la mateixa manera que en la fecundació assistida, és imprescindible la transferència a l'úter d'una dona per a la generació d'un individu clonat.

Transgènesi: És la introducció d'un DNA estrany en un genoma, de manera que es mantingui estable de manera hereditària i afecti a totes les cèl·lules.

Zigot: L'embrió unicel·lular format per la fusió d'un espermatozoide i un òvul, o bé per tècniques de clonatge (transferència d'un nucli diploide en un òvul enucleat).

11. BIBLIOGRAFIA

Cowan CA i cols. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science* 2005; 309: 1369-1373.

Wilmot I i cols. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385: 810-813.

UNESCO. Division of the Ethics of Science and Technology. National legislation concerning human reproductive and therapeutic cloning. Juliol de 2004. <http://portal.unesco.org/shs/en/ev.php>

UN Ad Hoc Committee on an International Convention against the Reproductive Cloning of Human Beings. <http://www.un.org/law/cloning> (visitat l'11 d'abril de 2005).

Missed opportunity to ban reproductive cloning (editorial). *Nature Cell Biology* 2005; 7(4).

Knowles LP. A regulatory patchwork – human ES cell research oversight. *Nature Biotechnology* 2004; 22(2): 157-163.

University of Minnesota Medical School. <http://mbbnet.umn.edu/scmap.html> (visitat el 9 de maig de 2005).

Declaració universal sobre el genoma humà i els drets humans aprovada a la 29 Conferència general de la Unesco de l'11 de novembre de 1997.

“Conveni per a la protecció dels drets humans i la dignitat de l'ésser humà en relació amb les aplicacions de la biologia i la medicina” –conveni euro-

peu sobre drets humans i biomedicina –aprovat pel Comitè de Ministres del Consell d'Europa el 19 de novembre de 1996. Obert a la signatura dels Estats a Oviedo, el dia 4 d'abril de 1997 i ratificat per les Corts Generals espanyoles el 5 d'octubre de 1999 (BOE de 20 d'octubre de 1999, número 251).

Stem Cells in a Pluralistic Society: Consequences of Proposed Canadian Legislation Dorothy C Wertz, Marie-Hélène Régner and Bartha Maria Knoppers. Genetics & Society Project, CRDP, Université de Montréal. Gen Edit 2003, Vol. I, N° 1. <http://www.humgen.umontreal.ca/int/GE/en/2003-1.pdf>

Aquest informe va ésser aprovat, a la 54ena Reunió Plenària del Comitè Consultiu de Bioètica de Catalunya que va tenir lloc el dia 20 de desembre de 2005, per la majoria dels seus membres i amb el vot particular del Sr. Joan Vidal Bota.

Són membres del *Comitè Consultiu de Bioètica de Catalunya*:

Sra. Victoria Camps i Cervera, presidenta; Sr. Marc Antoni Broggi i Trias, vicepresident primer, Sr. Rogeli Armengol i Millans, vicepresident segon; Sr. Rafael Manzanera Lopez, coordinador, Sr. Ernest Maragall i Mira, Sr. Josep Ramon Arisa i Clusella, Sr. José Luís Ausin i Herbella, Sr. Marius Morlans i Molina, Sr. Joan Maria Pons i Rafols, Sra. Maria Luisa de la Puente Martorell, Sr. Lluís Torralba i Novella, Sra. Montserrat Artigas i Lage, Sr. Tomàs Pujol i Castells, Sra. Rosa Securún Fuster, Sr. Xavier Muñoz i Puiggròs, Sra. Marta Aymerich i Martínez, Sr. Alfons Vilarrasa i Cagigós, Sra. Maria Comellas i Doñate, Sr. Eduardo Mendoza Garriga, Sra. Montserrat Busquets i Surribas, Sra. Maria Teresa Bassons i Boncompte, Sr. Joan Viñas i Salas, Sr. Francesc Abel i Fabre, Sra. Margarita Boladeras i Cucurella, Sra. Maria Casado González, Sr. Francesc Borrell i Carrió, Sr. Albert Jovell Fernandez, Sra. Milagros Pérez Oliva, Sr. Octavi Quintana i Trias, Sr. Jordi Varela i Pedregosa, Sr. Joan Vidal-Bota, Sr. Javier Hernández Garcia, Sr. Francesc Jose Maria Sánchez, Sr. Pablo Hernando i Robles, Sr. Xavier Carné Cladellas, Sra. Virtudes Pacheco Galvan, Sra. M. Josep Borràs i Pascual, Sra. Montserrat Boada i Pala, Sra. Ana Veiga i Lluch, vocals; i Sr. Josep M. Busquets i Font, secretari.

Vot particular al document **"Consideracions sobre la transferència nuclear"**

La pretensió de l'investigador sud-coreà Hwang-Woo-suk d'haver obtingut per primera vegada mitjançant transferència nuclear cèl·lules mare específiques per al pacient ha resultat un frau, que ha fet palesa la insuficiència actual d'aquesta tecnologia, a més de produir en l'opinió pública una notable desconfiança de les seves possibilitats. Al meu entendre resulta injust invertir recursos en una tecnologia d'aquestes característiques, deixant per això d'invertir-los en la recerca amb cèl·lules mare adultes, particularment les de cordó umbilical.

Sense adduir raons científiques provinents de l'embriologia, sinó aferrant-se a una interpretació merament literal basada en diccionaris de la llengua, el document nega al producte de la transferència nuclear la condició d'embrió humà, assignant-li una imaginària i devaluadora condició de "pseudoembrió", evitant així haver de discutir l'estatut de l'embrió. No em sembla un raonament legítim, i deixa oberta una qüestió essencial.

La gran quantitat d'òvuls que precisa la transferència nuclear afavoreix l'explotació de dones joves amb pocs recursos, i això no és ètic.

Joan Vidal-Bota

President de l'Associació Catalana d'Estudis Bioètics (ACEB)

PRESENTACIÓN

Los nuevos descubrimientos en medicina y biología comportan un incremento notable de las controversias éticas, que requieren una reflexión racional y metódica sobre las decisiones que se puedan tomar. Estas reflexiones deben tener en cuenta los criterios científico-técnicos, los límites económicos, el marco legal y los aspectos que pueden comprometer los derechos humanos de los enfermos y usuarios de los servicios sanitarios, así como determinados valores sociales o personales.

El Comité Consultivo de Bioética de Cataluña, consciente de la importancia de esta reflexión y de su complejidad, creyó conveniente impulsar la creación de un grupo de trabajo estable para el estudio y la reflexión sobre la investigación biomédica, con el objetivo de analizar los problemas éticos que se plantean y, en última instancia, ofrecer una calidad asistencial óptima con criterios de justicia y equidad.

Uno de los objetivos más importantes de este grupo de trabajo es informar sobre las nuevas tecnologías y prestaciones en el marco de la sanidad catalana antes de su puesta en práctica, para lo cual debe:

- Identificar y definir las controversias éticas que aparecen con los nuevos avances en el campo de la medicina y la biología, para poder responder y anticiparse a las repercusiones que puedan tener en la ciudadanía.
- Elaborar y aportar razones que permitan reflexionar, promover el debate y facilitar la comprensión y discusión pública, y cuando sea necesario formular guías de recomendaciones o propuestas de regulación normativa.

- De acuerdo con la trascendencia de sus informes, editar y hacer públicas sus recomendaciones, y representar al Comité Consultivo de Bioética de Cataluña cuando sea conveniente.

Creemos que este primer documento, *Consideraciones sobre la transferencia nuclear*, se orienta hacia la consecución de los objetivos señalados y, por lo tanto, que será de utilidad no sólo para los profesionales que puedan verse implicados sino también para el conjunto de la sociedad.

Barcelona, abril de 2006

Victoria Camps Cervera

Presidenta del Comité Consultivo
de Bioética de Cataluña

Rafael Manzanera López

Coordinador del Comité Consultivo
de Bioética de Cataluña

**Forman parte del Grupo para el Estudio y Reflexión
sobre la Investigación Biomédica que ha elaborado este documento:**

Anna Veiga

Directora

Directora Científica del Servicio de Medicina de la Reproducción,
Instituto Universitario Dexeus, Barcelona.

Directora del Banco de Líneas Celulares,
Centro de Medicina Regenerativa, Barcelona.

Lina Badimon

Directora del Instituto Catalán
de Ciencias Cardiovasculares CSIC, Barcelona.

Marc A. Broggi

Jefe del Servicio de Cirugía,
Hospital Universitario Germans Trias i Pujol, Badalona.

Joaquim Calaf

Director del Servicio de Obstetricia y Ginecología,
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

Jordi Camí

Director del Parque de Investigación Biomédica de Barcelona.
Catedrático de Farmacología, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona.

Maria Casado

Directora del Observatorio de Bioética y Derecho.
Profesora Titular de Filosofía del Derecho, Moral y Política,
Universidad de Barcelona.

José J. Navas

Dirección General de Estrategia y Coordinación,
Departament de Salut, Generalitat de Catalunya, Barcelona.

Teresa Pàmpol

Directora del Instituto de Bioquímica Clínica,
Corporació Sanitaria Clínic, Barcelona.

Joan M. Pons

Director de la Agencia de Evaluación de Tecnología
e Investigación Médica.

Josep Santaló

Profesor Titular de Biología Celular, Universitat Autònoma de Barcelona.

Josep M Busquets

Secretario

Responsable de Bioética, Departament de Salut,
Generalitat de Catalunya, Barcelona.

ÍNDICE

1. CONSIDERACIONES PREVIAS.....	31
2. ANTECEDENTES.....	32
3. PROCEDIMIENTO.....	33
4. ¿QUÉ ENTENDEMOS POR PSEUDOEMBRIONES?.....	34
5. UTILIDAD.....	35
6. PROBLEMAS TÉCNICOS DE LA TRANSFERENCIA NUCLEAR.....	36
7. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	38
8. CONSIDERACIONES JURÍDICAS.....	41
9. CONCLUSIONES.....	42
10. GLOSARIO.....	43
11. BIBLIOGRAFÍA.....	45

1. CONSIDERACIONES PREVIAS

El informe *Consideraciones sobre la transferencia nuclear* se aprobó por mayoría de los miembros del Comité Consultivo de Bioética de Cataluña en la sesión plenaria del día 20 de diciembre de 2005, con el voto particular del Sr. Joan Vidal.

Aunque en aquella fecha ya se sospechaba que las investigaciones del Dr. Hwang podían ser falsas, no fue hasta principios de 2006 cuando el científico coreano reconoció abiertamente su fraude. El grupo de trabajo que ha elaborado el documento *Consideraciones sobre la transferencia nuclear* considera que el debate no debe tratar exclusivamente de lo que ocurra en el momento actual, sino que debe tener una perspectiva de futuro. El fraude del Dr. Hwang no invalida la línea de investigación sobre la transferencia nuclear. Los argumentos que defienden la necesidad de impulsar esta investigación siguen siendo válidos aunque se eliminen las dos referencias a los trabajos de este científico que se encuentran en la versión aprobada por el comité.

El primer artículo publicado por el Dr. Hwang en la revista *Science*, en febrero de 2004, describía la metodología seguida para obtener dos líneas de células madre embrionarias procedentes de un embrión clonado. El segundo artículo, publicado también en *Science*, en mayo de 2005, describía la creación de once líneas de células madre embrionarias obtenidas a partir de células de personas afectadas de diversas enfermedades. Entre ambos artículos se publicó en la revista *Nature* el nacimiento de Snuppy, el primer perro clonado.

En mayo de 2005, un programa de la cadena de televisión MBC (*Munhwa Broadcasting Corporation*) señaló que algunas de las donantes de óvulos eran estudiantes o becarias del equipo de Hwang, o que fueron compensadas económicamente –ambas prácticas éticamente reprobables, ya que no se incluían en los protocolos aprobados por la Comisión Ética de la

Universidad Nacional de Seúl (SNU) (Institución del Dr. Hwang)– y que las imágenes publicadas por *Science* habían sido manipuladas. La revista *Science* inició una investigación exhaustiva del material publicado y SNU creó un comité de investigación. Este comité concluyó a principios del año 2006 que tanto el artículo de 2004 como el de 2005 eran falsos. Se habían clonado las imágenes y las pruebas, pero no las células, y no han existido jamás células madre a partir de embriones clonados, ni de personas sanas ni de pacientes. Sólo es cierto que se clonó el perro.

Desde el punto de vista científico nos encontramos nuevamente en la situación del año 2004, cuando se desconocía si era posible obtener células madre embrionarias a partir de embriones clonados de la especie humana. Por otro lado, se ha reabierto el debate sobre la idoneidad de los métodos de revisión de los artículos científicos por parte de las revistas que los publican. Parece ser que presentan carencias importantes. Debemos preguntarnos cuántas de las personas que firmaban el trabajo conocían el fraude y qué presiones sufrieron por parte del Dr. Hwang. Los dos artículos han sido eliminados de las revistas que los publicaron.

2. ANTECEDENTES

La primera referencia de un procedimiento de transferencia nuclear que haya permitido el nacimiento de un mamífero con éxito es la de Wilmut y cols., en 1997, en la revista *Nature*. Se informaba del nacimiento de la oveja Dolly. Desde entonces, la transferencia nuclear se ha llevado a cabo en un número reducido de especies, como ratones, vacas, cabras, macacos, cerdos, conejos y perros.

La posibilidad de aplicar estas técnicas a la reproducción de seres humanos ha provocado un rechazo generalizado de la comunidad internacional, tanto en el ámbito científico como en el de la política y el derecho.

Esta petición de prohibición incluye la mal llamada clonación terapéutica, que utiliza esta técnica para clonar embriones y a partir de ellos establecer líneas celulares totipotentes que permitan desarrollar líneas celulares y terapias específicas, sin la pretensión, en ningún momento, de utilizarlas con fines reproductivos.

3. PROCEDIMIENTO

Hay diversos métodos para realizar una transferencia nuclear, en función de la especie de que se trate. Parece ser que no hay una metodología estándar válida para todas las especies, de modo que en cada ocasión debe ponerse a punto la técnica, adaptándola a las características propias de la especie.

En esencia, debe introducirse el material genético de la célula a clonar en un oocito de la misma especie previamente enucleado (sin su propio material genético). Se considera que el oocito tiene la capacidad de reprogramar el programa de expresión génica celular, reiniciándolo de alguna manera, de forma que la célula nueva resultante será capaz de dar lugar a cualquier otro tipo celular (se convertirá en totipotente).

Conceptualmente, la transferencia nuclear consta de tres fases:

1. Enucleación del oocito: en primer lugar debe eliminarse el material genético del oocito receptor. Puede realizarse mediante micromanipulación o por métodos químicos.
2. Transferencia del núcleo: generalmente se realiza mediante fusión del cariosoma (núcleo celular envuelto por una pequeña porción de citoplasma) con el citoplasma del oocito, por electrofusión o con algún agente fusogénico (virus Sendai). Como alternativa se puede realizar por microinyección, como si se tratase de un procedimiento de inyección intracitoplasmática de esperma.

3. Activación del oocito: puesto que, a diferencia del espermatozoide, las células embrionarias o adultas no son capaces de activar el oocito, debe inducirse la activación una vez realizada la transferencia del núcleo para que el oocito re programe el genoma introducido y empiece el programa de desarrollo embrionario. Se realiza, habitualmente, mediante un pulso eléctrico o algún estímulo químico (etanol o estroncio), o bien combinando ambos.

4. ¿QUÉ ENTENDEMOS POR PSEUDOEMBRIONES?

En términos generales se considera embrión al producto de la concepción. Así, según el *Diccionario de la Real Academia Española*, un embrión es un “ser vivo en las primeras etapas de su desarrollo, desde la fecundación hasta que el organismo adquiere las características morfológicas de la especie.– En la especie humana, producto de la concepción hasta fines del tercer mes de embarazo.–...”, y según el Institut d’Estudis Catalans es un “organisme viu des de l’estat d’òvul fecundat, o bé activat, durant un període determinat arbitràriament, fins que el nou ésser ja manifesta la seva estructura adulta o és capaç de portar una vida independent, ni que sigui sota l’aspecte d’una larva.–...” Por ello, y en virtud del procedimiento por el cual se obtiene, no consideramos embrión al producto de la transferencia nuclear, sino un pseudoembrión (tiene su aspecto, pero no lo es). A menudo se hace referencia a estos pseudoembriones como pseudoembriones somáticos o embriones por transferencia nuclear (en inglés *NT embryos*), términos que pueden considerarse sinónimos.

Los pseudoembriones obtenidos son sólo parcialmente clónicos de la célula originaria, ya que el DNA mitocondrial que contienen no se corresponde con el de ella porque deriva del oocito receptor. Por lo tanto, sólo se consideran un clon nuclear.

5. UTILIDAD

La transferencia nuclear se ha considerado de utilidad en distintos aspectos de la biología de la reproducción y la embriología, de la biotecnología y también de la medicina, tanto regenerativa como en sus vertientes más básicas.

En el campo de la biología de la reproducción, el uso propuesto más conocido es la llamada clonación reproductiva, con lo que se postula la posibilidad de utilizar la transferencia nuclear con fines reproductivos aplicados a la especie humana (ya que en especies animales no tiene sentido con fines meramente reproductivos). Se ha propuesto para aquellos casos en que ambos miembros de la pareja sean estériles, ofreciendo la posibilidad de engendrar un individuo clónico de alguno de los dos miembros de la pareja. No es ésta, sin embargo, la única aplicación posible, ya que se ha sugerido también para la reconstrucción oocitaria, aplicable a mujeres sin oocitos. Esta técnica se ha probado con cierto éxito en ratones.

En el ámbito de la biotecnología, para el cual se desarrolló inicialmente, se ha propuesto como un método eficaz para producir animales transgénicos.

De todas sus aplicaciones posibles, la que actualmente suscita mayores expectativas es la relacionada con la medicina regenerativa. La utilidad de la transferencia nuclear en la medicina regenerativa se deriva de sus posibilidades tanto en la investigación básica como en las aplicaciones terapéuticas futuras que ofrecen las células madre embrionarias obtenidas a partir de pseudoembriones de transferencia nuclear. Debe aclararse que las células madre embrionarias se obtienen de la masa celular interna del embrión preimplantacional, y por ello debe obtenerse un pseudoembrión por transferencia nuclear y derivar de él, posteriormente, la estirpe de las células madre embrionarias.

Se ha propuesto el uso de la transferencia nuclear cuando deban desarrollarse células madre embrionarias para obtener células específicas y dife-

renciadas para sustituir células dañadas sin que se produzcan procesos de rechazo, ya que serían clónicas (excepto el DNA mitocondrial) del individuo receptor.

Finalmente, se ha propuesto el uso de las células madre embrionarias derivadas por transferencia nuclear de pacientes con enfermedades genéticas como modelos para estudiar los mecanismos productores de esa enfermedad, y poder desarrollar terapias útiles.

Muy recientemente (Cowan y cols., 2005) se ha publicado el posible uso de las células madre embrionarias humanas para reprogramar células somáticas con éxito y luego derivar de ellas diversos tipos celulares. Este hecho parece indicar que la capacidad de reprogramación no se encuentra exclusivamente en el oocito, sino que se puede hallar en algunas células indiferenciadas. También se ha sugerido la posibilidad de utilizar pseudoembriones partenogénéticos para derivar de ellos células madre embrionarias. Estos pseudoembriones no serían viables, pero de ellos se podrían derivar células madre embrionarias.

Estas técnicas, una vez perfeccionadas, podrían ser una alternativa a la transferencia nuclear para la producción de células madre embrionarias. Hay que señalar que aún quedan por resolver problemas técnicos importantes y que deberá profundizarse en este ámbito de investigación antes de evaluar su utilidad real.

6. PROBLEMAS TÉCNICOS DE LA TRANSFERENCIA NUCLEAR

Los primeros problemas que surgieron con la transferencia nuclear estaban relacionados con la actividad de las telomerasas, pues se observó que los telómeros (extremos de los cromosomas, marcadores de la edad de la

célula) de la primera oveja clonada, Dolly, eran más cortos de lo normal. Este problema se relacionó con posibles problemas de envejecimiento prematuro, y aunque la muerte de Dolly no pudo relacionarse directamente con este hecho, se produjo por una enfermedad respiratoria típica de animales con una cierta edad. A pesar de ello, estos problemas no se han detectado en otros animales clónicos y, de hecho, terneros clonados en serie en repetidas ocasiones presentaban telómeros más largos de lo normal. Por lo tanto, sigue abierta la controversia sobre el problema de la longitud de los telómeros, y en consecuencia del envejecimiento precoz.

Sin embargo, parece ser que efectivamente hay problemas en la transferencia nuclear que parecen derivarse de defectos en la reprogramación del material genético introducido en el oocito. Estos errores de reprogramación se traducen en problemas que aparecen durante el desarrollo embrionario, y que dan lugar a una baja eficacia de la clonación en cuanto a tasa de nacimientos de individuos clónicos en las especies en que se ha conseguido. En términos generales esta eficacia no supera el 3%, y se observan abortos espontáneos (75% en un estudio en bovinos) provocados, fundamentalmente, por problemas en el desarrollo de las membranas accesorias (placenta y corioalantoides). Se ha descrito también el “síndrome del feto grande”, que puede ser la causa de parte de los abortos espontáneos.

Por otro lado, se ha observado una tasa elevada de muerte perinatal, que se extiende hasta varios meses después del parto, y también problemas inmunitarios y una mayor incidencia de obesidad en la vida adulta (al menos entre los ratones, anomalía que recuerda los problemas de desarrollo descritos anteriormente en otras especies).

Todos estos problemas de la reprogramación génica sugieren que quizás afecten la expresión de las líneas de células madre embrionarias derivadas de los pseudoembriones somáticos, lo que podría comprometer su viabilidad o su capacidad de diferenciación. En lo concerniente a su capacidad de desarrollo, los datos disponibles parecen indicar que no se ve afectada,

ya que hay líneas de células madre embrionarias derivadas de pseudoembriones somáticos que, tras largo tiempo de cultivo y con numerosos subcultivos, no han visto afectada hasta ahora su estabilidad cromosómica ni su capacidad de desarrollo. La segunda consecuencia, su capacidad de diferenciación, se ha demostrado en estudios con teratomas inducidos por la transferencia de células madre embrionarias en animales de experimentación y por marcadores de diferenciación *in vitro*.

Otro problema es la tasa, relativamente baja, de obtención de células madre embrionarias derivadas de pseudoembriones somáticos. La tasa global de todo el procedimiento es del 5,9% de líneas de células madre embrionarias por oocito. Ello implica la necesidad de disponer de un número elevado de oocitos para realizar una transferencia nuclear de la cual derivar las células madre embrionarias. La alternativa propuesta es obtener oocitos a partir de las propias células madre embrionarias, como apuntan algunos resultados de experimentos llevados a cabo con animales de laboratorio.

7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

En primer lugar conviene explicitar que este grupo de trabajo asume que existen razones sólidas para oponerse a la clonación reproductiva de seres humanos. Sin embargo, estas razones no se pueden extrapolar al uso de la transferencia nuclear en medicina regenerativa. Exponer las causas de este razonamiento constituye el objetivo de este informe.

La prohibición de la clonación reproductiva es razonable aunque sólo sea por la valoración de los riesgos. Como se ha hecho constar anteriormente, debe tenerse en cuenta el elevado índice de fracasos de la técnica, los efectos no previstos, así como el riesgo del consumismo y la mercantilización que podría implicar. Todos estos factores deben ponderarse junto con

los intereses del futuro niño y de la sociedad en su conjunto, frente a los intereses reproductivos de los posibles padres, teniendo en cuenta que no actúan solos, en su ámbito íntimo *–privacy–*, sino que requieren la intervención de terceros o del Estado.

Queda fuera del objetivo de este documento la consideración ético-jurídica de los embriones, ya que, como se ha argumentado anteriormente, en este caso se obtienen pseudoembriones.

Por lo tanto, se trata de analizar si es jurídicamente aceptable y moralmente correcto obtener pseudoembriones somáticos, por transferencia nuclear, para la investigación y su posible uso terapéutico mediante la producción de células madre embrionarias para su posterior diferenciación en diversos tipos celulares.

No debatimos aquí la clonación reproductiva, rechazada explícitamente en nuestro ordenamiento jurídico, y a cuyo respecto la sociedad se ha manifestado en contra.

A nuestro parecer, producir pseudoembriones por transferencia nuclear para la investigación y la terapéutica está éticamente justificado, si se cumplen una serie de requisitos que deben fijarse cuidadosamente.

Consideramos que la transferencia nuclear está justificada porque con ella podrán obtenerse ventajas para los seres humanos ya nacidos, que son personas en todos los sentidos de la palabra. Naturalmente, aceptar esta posibilidad no significa que no haya límites, sino que debe determinarse mediante una normativa en qué casos y con qué requisitos será aceptable: el consentimiento de los donantes del material biológico, un protocolo científico adecuado, un fin aceptable socialmente, la imposibilidad de obtener resultados equivalentes con otros métodos, la evaluación del Comité de Garantías para la investigación con células y tejidos de origen embrionario humano, etc.

Teniendo en cuenta los elevados costes de estos procesos, es de una importancia crucial que el establecimiento de prioridades en la asignación

de los recursos se realice de manera transparente y democrática, y que se respete escrupulosamente la exigencia de equidad para el acceso a los beneficios y para asumir los riesgos. No ignoramos la dificultad de ponderar el riesgo/beneficio y el coste/beneficio. Este punto tiene una relevancia especial en un sistema de cobertura sanitaria universal y gratuita, ya que la medicina genética e individualizada será cara, y consideramos que hay que asegurar la equidad para acceder a nuevas prestaciones que se puedan derivar de las nuevas investigaciones que proponemos que se autoricen.

Es importante, también, no generar en la población falsas expectativas por terapias inaccesibles a corto plazo, y aportar la información necesaria para que la sociedad se posicione respecto a esta técnica.

Evidentemente, en la valoración del problema persisten las consideraciones ontológicas, éticas y jurídicas de esta nueva realidad que la tecnología pone a nuestro alcance con los procesos de transferencia nuclear. Es necesario ponerse de acuerdo en algo que va más allá de una simple “cuestión terminológica”: la definición de “embrión”. Es éste un punto previo, y menos tratado, a la discusión bioética clásica de si los embriones son personas o no. Ambas disputas no se resuelven en términos de verdad empírica, pues las expresiones utilizadas no son meramente descriptivas de una realidad sino que tienen una carga emotiva e ideológica importante.

Como ya se ha comentado, lo que se deriva de la transferencia nuclear, en la cual no se utilizan espermatozoides, no son propiamente embriones. Se argumenta que las células obtenidas por transferencia nuclear, sin fecundación, no se ajustan a la definición de embrión. No pretendemos cambiar el nombre a una realidad. Lo que realmente ocurre es que hay una diferencia de fondo que no ha sido señalada, precisamente por el hecho de mantener el uso de la denominación incorrecta de “embrión” para una realidad nueva y diferente. Mantener esta caracterización tan poco rigurosa y con tanta carga ideológica perjudica el conocimiento y confunde el debate social. Nuestro dictamen-informe

quiere contribuir a crear pautas que intenten hallar un consenso social fundamentado en el conocimiento de los avances científicos y en el respeto a unos mínimos éticos comunes que deben permitir que se establezca una normativa.

8. CONSIDERACIONES JURÍDICAS

Como ya se ha dicho, el término “clonación” conlleva una carga emotiva desfavorable que contamina la discusión y dificulta el acuerdo ético, y también el jurídico. Es de relevancia constatar que la visceralidad y la falta de diferenciación entre los diversos supuestos y argumentos ha impregnado, incluso, el debate mantenido en las Naciones Unidas con motivo de la elaboración de un convenio que pretendía homogeneizar la normativa internacional al respecto, y que dejó la iniciativa en una mera declaración, de febrero de 2005, que delega en los Estados el establecimiento de una legislación interna sobre la materia, y que aporta poco a la declaración, ya promulgada en 1998, sobre el genoma humano y los derechos humanos.

Puede verse una recopilación de la regulación vigente actualmente en los distintos países que se han ocupado de la cuestión en las *web* de la Universidad de Minnesota,¹ de la Universidad de Montreal (Wertz y cols., 2003)² y de la División de Ética en las Ciencias y en la Tecnología de la UNESCO (UNESCO, 2004).³ Sin embargo, debe indicarse que en muchos

1 University of Minnesota Medical School, <http://mbbnet.umn.edu/scmap.html> (visitado el 9 de mayo de 2005).

2 Stem Cells in a Pluralistic Society: Consequences of Proposed Canadian Legislation. Dorothy C Wertz, Marie-Hélène Régner and Bartha Maria Knoppers. Genetics & Society Project, CRDP, Université de Montréal. Gen Edit 2003, Vol. I, Nº 1. <http://www.humgen.umontreal.ca/int/GE/en/2003-1.pdf>

3 UNESCO. *Division of the Ethics of Science and Technology. National Legislation concerning human reproductive and therapeutic cloning*. July 2004. <http://portal.unesco.org/shs/en/ev.php>

países estas normativas se encuentran en proceso de revisión. Las leyes nacionales son variables y en algunos casos se establece un marco para obtener embriones *in vitro*, aunque el artículo 18.2 de la Convención de Derechos Humanos y Biomedicina del Consejo de Europa prohíbe la creación de embriones con el objetivo exclusivo de la investigación.

Actualmente, España se encuentra en pleno proceso de elaboración de un proyecto de ley de investigación en biomedicina para permitir la obtención de embriones para la investigación en determinados casos, siempre que se justifique, que una comisión *ad hoc* apruebe el protocolo y que se cuente con el requisito, necesario siempre pero no suficiente, de disponer de la conformidad de los donantes de los gametos.

9. CONCLUSIONES

Visto lo expuesto anteriormente, consideramos que la transferencia nuclear con fines relacionados con la medicina regenerativa a partir de pseudoembriones por transferencia nuclear no se puede rechazar si se lleva a cabo cumpliendo algunos requisitos establecidos con claridad.

La autorización del uso de las técnicas de transferencia nuclear deberá realizarse mediante una normativa que establezca los requisitos que deban respetarse. Será imprescindible contar con la autorización de los donantes del material biológico utilizado. Además, deberá contarse con la aprobación de una comisión *ad hoc* que valore la idoneidad del protocolo, la calificación de los investigadores, la necesidad de usar estos materiales y técnicas, así como el compromiso de confidencialidad de los datos, y las implicaciones económicas, teniendo en cuenta criterios de proporcionalidad entre los medios y los fines. Estos comités tendrán que ser plurales y multidisciplinarios, formados por personas con capacidad para buscar fórmulas de consenso real y no meras yuxtaposiciones de

criterios diversos.

Los juicios éticos y las decisiones político-jurídicas que deban tomarse sobre las nuevas tecnologías tienen que basarse en un análisis serio y responsable, que pondere y jerarquice los bienes, valores y derechos concurrentes en cada caso, y tenga en cuenta que pueden ser divergentes e incluso contrapuestos. Además, colaborando en esta tarea reguladora pueden participar órdenes normativos diversos, con sus correspondientes sistemas de sanción: entre los jurídicos, desde los administrativos hasta los civiles y penales, pero también los deontológicos y de buenas prácticas profesionales, con los que debe contarse para formar parte del conjunto de medidas de control.

10. GLOSARIO

Blastocito: Estadio particular del embrión de los mamíferos, caracterizado por su pluricelularidad, y en el cual no se ha producido todavía la diferenciación de tejidos ni se han esbozado órganos. La disgregación de las células en este estadio permite, bajo condiciones experimentales de cultivo en el laboratorio, la obtención de células madre embrionarias (CME), que pueden diferenciarse en distintos tipos celulares, pero son incapaces de formar por sí solas un organismo completo.

Célula madre: Es una célula indiferenciada que tiene como características principales su capacidad de renovación indefinida y su potencialidad de diferenciarse en diversos tipos celulares. Pueden ser multipotentes, pluripotentes o totipotentes en función de los tipos celulares a que puedan dar lugar.

Célula madre embrionaria (CME): En sentido amplio, una célula madre derivada de un embrión.

Célula somática: Cualquier célula del cuerpo de un organismo cuyo núcleo contiene dos juegos completos de cromosomas (diploide).

Célula totipotente: Del latín *totus* (todo). Célula con la capacidad de originar cualquier tipo de célula de un tejido, órgano humano e incluso embriones.

Cigoto: El embrión unicelular formado por la fusión de un espermatozoide y de un óvulo, o bien mediante técnicas de clonación (transferencia de un núcleo diploide a un óvulo enucleado).

Clonación: Acción de producir un clon, es decir, un conjunto de células derivadas de una única célula original y, en consecuencia, genéticamente idénticas a esta última. En un sentido amplio, la clonación se refiere a la producción de copias genéticas de organismos individuales o células, sin intervención de la reproducción sexual.

Inyección intracitoplasmática de esperma: Proceso de fecundación de un óvulo mediante una inyección de esperma.

Oocito: Célula germinal femenina de los mamíferos. Equivalente a óvulo.

Partenogenético: Individuo generado exclusivamente a partir del gameto femenino, sin la participación del espermatozoide. Es una forma de reproducción habitual en determinados géneros de insectos.

Reprogramación celular: Mecanismo complejo cuyos fundamentos moleculares son prácticamente desconocidos. Se sabe que la composición macromolecular del citoplasma del oocito es crítica en el proceso de reprogramación del núcleo, que inicia entonces una fase de división celular y de formación del embrión.

Telómero: La sección final de un cromosoma que impide su “desgaste”. Cada vez que un cromosoma se divide pierde parte de los telómeros. Por ello, las células de los individuos viejos tienen los telómeros más cortos que las de los jóvenes. La telomerasa es la enzima que se encarga de sintetizarlos y mantener su medida adecuada.

Transferencia del núcleo de una célula somática a un óvulo o un cigoto enucleado (TNCS): Se genera *in vitro* un cigoto por microinyección de un núcleo diploide, que proviene de una célula somática del mismo individuo o de otro, en un óvulo cuyo núcleo haploide (enucleado) ha sido eliminado. Este cigoto da origen a un embrión *in vitro*. De la misma forma que en la fecundación asistida, es imprescindible la transferencia al útero de una mujer para la generación de un individuo clonado.

Transgénesis: Es la introducción de un DNA extraño en un genoma, de tal forma que hereditariamente se mantenga estable y afecte a todas las células.

11. BIBLIOGRAFÍA

Cowan CA y cols. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science* 2005; 309: 1369-1373.

Wilmot I y cols. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385: 810-813.

UNESCO. Division of the ethics of Science and Technology. National legislation concerning human reproductive and therapeutic cloning. Julio de 2004. <http://portal.unesco.org/shs/en/ev.php>

UN Ad Hoc Committee on an International Convention against the Reproductive Cloning of Human Beings. <http://www.un.org/law/cloning> (visitado el 11 de abril de 2005).

Missed opportunity to ban reproductive cloning (editorial). *Nature Cell Biology* 2005; 7(4).

Knowles LP. A regulatory patchwork – human ES cell research oversight. *Nature Biotechnology* 2004; 22(2): 157-163.

University of Minnesota Medical School. <http://mbbnet.umn.edu/scmap.html> (visitado el 9 de mayo de 2005).

Declaración universal sobre el genoma humano y los derechos humanos, aprobada en la 29 Conferencia general de la Unesco del 11 de noviembre de 1997.

“Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano en relación con las aplicaciones de la biología y de la medicina” –convenio europeo sobre los derechos humanos y la biomedicina– aprobado por el Comité de Ministros del Consejo de Europa el día 19 de noviembre de 1996. Abierto para la firma de los Estados en Oviedo, el día 4 de abril de 1997, y ratificado por las Cortes Generales españolas el día 5 de octubre de 1999 (BOE de 20 de octubre de 1999, número 251).

Stem Cells in a Pluralistic Society: Consequences of Proposed Canadian Legislation. Dorothy C Wertz, Marie-Hélène Régner and Bartha Maria Knoppers. Genetics & Society Project, CRDP, Université de Montréal. Gen Edit 2003, Vol. I, N° 1. <http://www.humgen.umontreal.ca/int/GE/en/2003-1.pdf>

Este informe fue aprobado en la 54ª Reunión Plenaria del Comité Consultivo de Bioética de Cataluña, que tuvo lugar el día 20 de diciembre de 2005, por mayoría de sus miembros y con el voto particular del Sr. Joan Vidal-Bota.

Son miembros del *Comitè Consultiu de Bioètica de Catalunya*:

Sra. Victoria Camps Cervera, presidenta; Sr. Marc Antoni Broggi Trias, vicepresidente primero; Sr. Rogeli Armengol Millans, vicepresidente segundo; Sr. Rafael Manzanera López, coordinador; Sr. Ernest Maragall Mira, Sr. Josep Ramon Arisa Clusella, Sr. José Luis Ausin Herbella, Sr. Marius Morlans Molina, Sr. Joan Maria Pons Rafols, Sra. María Luisa de la Puente Martorell, Sr. Lluís Torralba Novella, Sra. Montserrat Artigas Lage, Sr. Tomàs Pujol Castells, Sra. Rosa Securún Fuster, Sr. Xavier Muñoz Puiggròs, Sra. Marta Aymerich Martínez, Sr. Alfons Vilarrasa Cagigós, Sra. Maria Comellas Doñate, Sr. Eduardo Mendoza Garriga, Sra. Montserrat Busquets Surribas, Sra. Maria Teresa Bassons Boncompte, Sr. Joan Viñas Salas, Sr. Francesc Abel Fabre, Sra. Margarita Boladeras Cucurella, Sra. Maria Casado González, Sr. Francesc Borrell Carrió, Sr. Albert Jovell Fernandez, Sra. Milagros Pérez Oliva, Sr. Octavi Quintana Trias, Sr. Jordi Varela Pedregosa, Sr. Joan Vidal-Bota, Sr. Javier Hernández García, Sr. Francesc Josep Maria Sánchez, Sr. Pablo Hernando Robles, Sr. Xavier Carné Cladellas, Sra. Virtudes Pacheco Galván, Sra. M. Josep Borràs Pascual, Sra. Montserrat Boada Pala, Sra. Ana Veiga Lluch, vocales; y Sr. Josep M. Busquets Font, secretario.

Voto particular al documento

"Consideraciones sobre la transferencia nuclear"

La pretensión del investigador surcoreano Hwang-Woo-suk de haber obtenido por primera vez mediante transferencia nuclear células madre específicas para el paciente ha resultado un fraude, y ha hecho evidente la insuficiencia actual de esta tecnología, además de producir en la opinión pública una notable desconfianza en sus posibilidades. A mi entender es injusto invertir recursos en una tecnología de estas características, ya que ello significa dejarlos de invertir en la investigación con células madre adultas, sobre todo las de cordón umbilical.

Sin dar razones científicas que provengan de la embriología, sino aferrándonos a una interpretación meramente literal, basada en diccionarios de la lengua, el documento niega al producto de la transferencia nuclear la condición de embrión humano, y le asigna una imaginaria y devaluadora categoría de "pseudoembrión", lo cual evita tener que discutir el estatuto del embrión. No me parece un razonamiento legítimo, lo que deja abierta una cuestión esencial.

Joan Vidal-Bota

Presidente de la *Associació Catalana d'Estudis Bioètics* (ACEB)

INTRODUCTION

New findings in medicine and biology have led to a growing number of ethical issues which require rational and methodical decision-making. This should take into account technical and scientific criteria, financial limitations, the legal framework, issues that may compromise the patients' and health care users' human rights, and certain social and personal values.

Aware of the importance and the complexity of these issues, the Catalan Bioethics Advisory Committee considered it necessary to create a permanent working group devoted to the study of and reflection on biomedical research, in order to assess the ethical issues involved and, ultimately, to optimize health care while applying principles of justice and equality.

One of the working group's main goals is to report on new technologies and services before they become available in the Catalan health system. This is done by:

- Identifying and defining ethical issues that arise with new advances in the medical and biological fields so that the impact they may have on the community can be anticipated and addressed.
- Devising and providing arguments that facilitate reflection, stimulate debate and enhance public understanding and discussion, and when necessary, developing guidelines, recommendations or proposals for regulation.

- According to the relevance of the reports, publishing and disseminating these recommendations and representing the Catalan Bioethics Advisory Committee as appropriate.

This first document, *General Considerations Regarding Nuclear Transfer*, falls under the goals mentioned above and, therefore, we feel that it will be useful not only for potentially concerned professionals but also for the community at large.

Barcelona, April 2006

Victoria Camps Cervera
President of the Catalan
Bioethics Advisory Committee

Rafael Manzanera López
Coordinator of the Catalan
Bioethics Advisory Committee

The following people are members of the study and reflection group on biomedical research and have contributed to this document:

Anna Veiga

Director

Scientific director of the Department of Reproductive Medicine,
Institut Universitari Dexeus, Barcelona

Director of the Cell Line Bank,

Centre de Medicina Regenerativa, Barcelona

Lina Badimon

Director of the Institut Català de Ciències Cardiovasculars CSIC,
Barcelona

Marc A. Broggi

Head of the Department of Surgery,

Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona

Joaquim Calaf

Head of the Department of Obstetrics and Gynecology,

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

Jordi Camí

Head of the Barcelona Biomedical Research Park

Professor of Pharmacology, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona

Maria Casado

Head of the Bioethics and Law Observatory

Lecturer in the Philosophy of Law, Morals and Politics,

Universitat de Barcelona

José J. Navas

Direcció General d'Estratègia i Coordinació, Department of Health,
Generalitat de Catalunya, Barcelona

Teresa Pàmols

Head of the Clinical Biochemistry Institute,
Corporació Sanitària Clínic, Barcelona

Joan M. Pons

Director of the Medical Technology and Research Evaluation Agency

Josep Santaló

Lecturer in Cell Biology, Universitat Autònoma de Barcelona

Josep M. Busquets

Secretary

In charge of Bioethics, Department of Health,
Generalitat de Catalunya, Barcelona

CONTENTS

1. PRELIMINARY CONSIDERATIONS.....	55
2. BACKGROUND	56
3. THE PROCEDURE.....	57
4. WHAT ARE PSEUDOEMBRYOS?	58
5. APPLICABILITY.....	58
6. TECHNICAL ISSUES RELATED TO NUCLEAR TRANSFER	60
7. ETHICAL CONSIDERATIONS.....	62
8. LEGAL ASPECTS	64
9. CONCLUSIONS.....	65
10. GLOSSARY	66
11. REFERENCES	68

1. PRELIMINARY CONSIDERATIONS

The report *General Considerations Regarding Nuclear Transfer* was approved by a majority of the Catalan Bioethics Advisory Committee members at the December 20, 2005 session, with the individual vote of Mr. Joan Vidal.

Although at the time it was already suspected that Dr Hwang's research outcomes could be false, it was not until early 2006 that the Korean scientist publicly admitted to fraud. The working group responsible for *General Considerations Regarding Nuclear Transfer* believes that the debate should not focus exclusively on current events but should also look to the future. Dr Hwang's fraudulent results do not invalidate the line of research on nuclear transfer. Although the two references to this scientist's work have been eliminated from the version approved by the committee, the arguments for defending this research line remain valid.

In his first paper, published in *Science* in February 2004, Dr Hwang described the methodology employed to obtain two lines of embryonic stem cells from a cloned embryo. The second article, also published in *Science*, in May 2005, described the development of 11 embryonic stem cell lines obtained from patients suffering from various diseases. Between the dates of these publications, *Nature* featured the birth of Snuppy, the first cloned dog.

In May 2005, a Munhwa Broadcasting Corporation (MBC) television program reported that some of the egg donors were either members or interns of Dr Hwang's team or that they had received financial compensation – two ethical violations, since these were not contemplated in the protocols approved by the Seoul National University (SNU) Ethics Committee (where Dr Hwang worked); in addition, it was revealed that some of the images which appeared in *Science* had been digitally altered. *Science* conducted a thorough investigation of the material published and

SNU set up an investigation committee. In early 2006, this committee concluded that both the 2004 and the 2005 articles were fraudulent. Images and evidence had been cloned, not cells, and there had never been stem cells derived from cloned embryos, nor from healthy individuals or patients. Only the cloning of the dog was true.

From a scientific point of view, we now find ourselves in the same situation as in 2004, when it was not known whether embryonic stem cells could be derived from cloned human embryos. On the other hand, this has renewed the debate on the suitability of the methods scientific publications use to review the papers they publish. It would seem that these methods are far from perfect. We wonder how many of the people who co-authored the works were aware of the falsifications, and whether they were under pressure from Dr Hwang. Both papers have been removed from the journals that published them.

2. BACKGROUND

The first reference to a nuclear transfer procedure that resulted in the successful birth of a mammal was from Wilmut et al. and was published in *Nature* in 1997. The article reported the birth of the sheep Dolly. Since then, nuclear transfer has been carried out in a small number of species, such as mice, cows, goats, macaca, pigs, rabbits and dogs.

The possibility of applying these techniques to human reproduction has caused widespread rejection in the international community, both in the scientific sphere and in political and legal circles. This request for a ban includes so-called therapeutic cloning, which makes use of these techniques to clone embryos in order to derive totipotent cell lines that allow for the development of new cell lines and specific therapies. At no time are these intended for reproductive use.

3. THE PROCEDURE

Several methods can be used to perform a nuclear transfer, depending on the species selected. As there seems to be no valid standard methodology for all species alike, the technique needs to be tailored to the characteristics of each species.

In basic terms, in order to clone a cell, genetic material is introduced into a previously enucleated oocyte of the same species (*i.e.*, one lacking its own genetic material). It is believed that the oocyte carries the ability to reprogram cellular genetic expression, restarting it somehow, so that the resulting new cell will give rise to any other cellular type (in other words, it will become totipotent).

Conceptually, nuclear transfer consists of three phases:

1. Oocyte enucleation. First, the genetic material has to be eliminated from the oocyte receptor. This can be achieved via micromanipulation or chemical methods.
2. Transfer of the nucleus. This is usually achieved by fusing the karyosome (cell nucleus covered by a small fraction of cytoplasm) with the cytoplasm of the oocyte through electrofusion or by using a fusogenic agent (Sendai virus). Alternatively, this can be done via microinjections, as in intracytoplasmic sperm injection procedures.
3. Oocyte activation. Since unlike sperm, embryonic or adult cells are not capable of activating the oocyte, activation must be induced after nuclear transfer so that the oocyte reprograms the inserted genome and initiates the embryonic development program. This is usually induced using an electrical pulse or by chemical stimulus (ethanol or strontium) or through a combination of both.

4. WHAT ARE PSEUDOEMBRYOS?

In general terms, an embryo is the product of conception. According to the Dictionary of the Royal Spanish Academy, an embryo is a “living being in its first stages of development, from fertilization until the organism acquires the morphological characteristics of its species. In the human species, the period extends from conception to the third month of pregnancy.” At the Institut d’Estudis Catalans (Institute of Catalan Studies), an embryo is considered to be a “living organism from its state as a fertilized or activated egg, during an arbitrarily determined period of time, until the new being manifests its adult structure or is able to live an independent life, even if it had the features of a larva.” Therefore, and considering how embryos are created, the product of nuclear transfer is not seen as an embryo but as a pseudoembryo (it looks like an embryo but it is not). Pseudoembryos are often referred to as somatic pseudoembryos or nuclear transfer (NT) embryos, which can be taken as synonyms.

The resulting pseudoembryos are only partially cloned from the original cell, since the mitochondrial DNA they contain does not correlate with that of the original cell, as it is derived from the oocyte receptor. Therefore, these are nuclear clones.

5. APPLICABILITY

The applicability of nuclear transfer has been linked to different aspects of reproductive biology and embryology, biotechnology and also medicine, both in regenerative terms and in its more basic modalities.

In the field of reproductive biology, the most widespread use proposed is in reproductive cloning, which postulates that nuclear transfer could be

used for human reproduction (since a purely reproductive goal in animal species is unwarranted). It has been suggested for cases in which both members of a couple are infertile, thus creating the possibility of conceiving a cloned individual from one of the parents. This is not, however, the only potential use of nuclear transfer, as it has also been proposed for oocyte reconstruction techniques in women with no oocytes. This technique has been relatively successful in mice.

As for biotechnology, which is its original application, it has been suggested that nuclear transfer is an effective method of producing transgenic animals.

Of all its potential uses, the one that currently draws the most attention is that of regenerative medicine. Nuclear transfer may be useful in regenerative medicine due to its potential in both basic research and in future therapeutic applications using embryonic stem cells obtained from nuclear transfer pseudoembryos. It should be noted that embryonic stem cells are derived from preimplantation embryo inner cell mass; therefore, a nuclear transfer pseudoembryo should be produced first in order to then derive the stem cell line from it.

Nuclear transfer has been suggested for use in developing embryonic stem cells in order to obtain specific and differentiated cells to replace damaged cells. This would prevent the possibility of rejection, as the cells used for replacement would be cloned from the recipient (except for the mitochondrial DNA).

Finally, nuclear transfer-derived embryonic stem cells from patients with genetic diseases have been proposed for use as a model to study disease mechanisms and develop effective therapies.

A recent report (Cowan et al., 2005) has suggested that embryonic stem cells may be used to successfully reprogram somatic cells which can then produce different cell types. This seems to indicate that the reprogramming ability is not restricted to the oocyte alone, but that it is also possi-

ble in some undifferentiated cells. It has also been proposed that parthenogenetic pseudoembryos could be used to produce embryonic stem cells. Although not viable, these pseudoembryos could be utilized to produce embryonic stem cells.

Once improved, these techniques could prove to be an alternative to nuclear transfer for producing embryonic stem cells. It should be noted that significant technical issues remain unresolved, and further research is required before their actual usefulness can be assessed.

6. TECHNICAL ISSUES RELATED TO NUCLEAR TRANSFER

The first problems reported for nuclear transfer were associated with telomerase activity. These were described when it was found that the telomeres (chromosome ends, cell age markers) were shorter than usual in the first cloned sheep, Dolly. The anomaly was related to potential early aging problems, and even though Dolly's death could not be directly linked to this, it was caused by a respiratory disease more common in older animals. Nonetheless, these problems have not been observed in other cloned animals and, in fact, in calves cloned in series, telomeres were often longer than usual. Therefore, the controversy surrounding telomere length and the consequent early aging remains unresolved.

Nonetheless, nuclear transfer does seem to be associated with some problems that may arise due to a defect in the reprogramming of the genetic material introduced in the oocyte. These reprogramming errors lead to problems that become apparent during embryonic development. They reduce the efficacy of cloning in terms of the birth rates of cloned individuals in species in which cloning has been successful. In general terms, effi-

cacy is below 3% and there are miscarriages (75% rate in bovine studies) caused mostly by accessory membrane alterations (placenta and chorioallantois). “Large-fetus syndrome” has also been described as a potential cause of many miscarriages.

On the other hand, a high perinatal death rate has been documented, extending for several months after delivery. There have also been immunological problems and a higher incidence of obesity in adult life has been shown in mice, a condition that resembles development disorders previously described in other species.

All these problems relating to genetic reprogramming suggest that they may affect the expression of embryonic stem cell lines derived from somatic pseudoembryos, which in turn may compromise their viability or ability to differentiate. With respect to their development capacity, available data seem to indicate that it is uncompromised, since there are lines of embryonic stem cells derived from somatic pseudoembryos whose chromosomal stability or development capacity was not affected following prolonged cultivation time and many subcultures. The second consequence – differentiation capacity – has been demonstrated in studies with teratomas induced by embryonic stem cell transfer in experimental animals, and by *in vitro* differentiation markers.

Another concern is the relatively low rate of embryonic stem cells derived from somatic pseudoembryos. The total rate for the whole process is 5.9% embryonic stem cell lines per oocyte. This implies that a high number of oocytes are needed to perform a nuclear transfer to produce embryonic stem cells. Alternatively, it has been suggested that oocytes may be obtained from the embryonic stem cells themselves, as shown by the outcomes of some laboratory animal studies.

7. ETHICAL CONSIDERATIONS

Firstly, it is important to state clearly that this working group is in agreement that there are solid reasons to oppose human reproductive cloning. However, these reasons cannot be extrapolated to the use of nuclear transfer in regenerative medicine. The aim of this report is to present the differences in these arguments.

The banning of human reproductive cloning is reasonable based on the potential risks alone. As mentioned above, the high rates of technical failure and unforeseen effects should be taken into account as well as the risk of banalization and commercialization that human reproductive cloning could imply. All these factors, as well as the future child's interest and society's interest at large, should be weighed against the future parents' reproductive interests, bearing in mind that they are not the only ones involved, but that, in fact, they require third party or state assistance.

The ethical and legal consideration of embryos is beyond the scope of this document given that, as has been previously mentioned, we are addressing the subject of pseudoembryos.

Therefore, our aim is to determine whether it is legally and morally acceptable to obtain somatic pseudoembryos by means of nuclear transfer (NT pseudoembryos) for research and potential therapeutic uses by producing embryonic stem cells to be further differentiated into several cell types. Reproductive cloning is not discussed here, as it has been categorically rejected by our legal system, with society having clearly shown its disapproval.

We believe that producing nuclear transfer pseudoembryos for research and therapeutic ends is ethically justified if a number of carefully established criteria are fulfilled.

We consider nuclear transfer to be justified since it will lead to benefits for already-existing human beings, who are people in the greatest meaning

of the word. Naturally, accepting this possibility does not imply that there are no limitations, but that this use should be regulated to determine what cases and what criteria are acceptable, taking into account the following: the biological material donors' consent, an appropriate scientific protocol, a socially acceptable objective, the fact that similar outcomes cannot be produced by other methods, monitoring by an advisory committee for human embryonic cell and tissue research, etc.

Considering the high cost of these procedures, it is vital to establish priorities for the fair and democratic allocation of resources and for equal access to benefits and shared responsibility to be fiercely upheld. We are aware that it is very difficult to weigh risk–benefits and cost–benefits. This point is particularly relevant within a system of universal and free health care, since personalized genetic medicine will be extremely costly, and we must ensure equal access to the new services that may be derived from the kind of research we advocate.

It is also important not to give the public false expectations regarding therapies that will not be available in the short term and to provide all necessary information so that society can form an opinion about this technique.

Obviously, when assessing this issue there are still ontological, ethical and legal considerations with regard to the new realities that nuclear transfer can make available to us. We must reach a consensus on something that goes beyond a mere “problem of terminology,” such as the definition of “embryo.” This is discussed less and precedes the classical bioethics discussion on whether or not a human embryo is a person. Neither issue can be empirically proven, since the expressions used are not merely describing a reality but are also emotionally and ideologically charged.

As mentioned above, the product of nuclear transfer, which does not use sperm, is not an embryo *per se*. It has therefore been postulated that cells obtained via nuclear transfer, and which are thus unfertilized, do not fit into the definition of embryo. We do not aim to change definitions. The point is that there is an underlying difference that has not been sufficient-

ly stressed, as the term “embryo” continues to be incorrectly applied to a new and different reality. To maintain this unrigorous and clearly ideologically charged characterization is detrimental to knowledge and mars social debate. This report seeks to contribute to the creation of certain guidelines that may help to reach a social consensus based on the knowledge of scientific development and respect for a common ethics and which in turn should allow for the establishment of regulations.

8. LEGAL ASPECTS

As previously mentioned, the term “cloning” is associated with negative emotional connotations that have tainted the discussion and complicated an ethical as well as a legal agreement. Such emotional reactions and the failure to differentiate between various proposals and arguments even affected the debate at the United Nations held to establish a convention to standardize international regulations. In the end, the initiative resulted in a mere declaration, issued in February 2005, delegating to each member state the establishment of domestic regulations; moreover, it adds little to the 1998 declaration on the human genome and human rights.

A review of current rules and regulations in countries where this issue has been discussed can be accessed on websites of the University of Minnesota,¹ the University of Montreal (Wertz DC et al. 2003)² and

1 University of Minnesota Medical School <http://mbbnet.umn.edu/scmap.html> (accessed on May 9, 2005).

2 Stem Cells in a Pluralistic Society: Consequences of Proposed Canadian Legislation. Dorothy C. Wertz, Marie-Hélène Régner and Bartha Maria Knoppers. Genetics & Society Project, CRDP, Université de Montréal. Gen Edit 2003 Vol. I, N°1 <http://www.humgen.umontreal.ca/int/GE/en/2003-1.pdf>

UNESCO's Division of Ethics of Science and Technology (UNESCO 2004),³ although it should be noted that in most countries, these regulations are being reviewed. National legislation varies from country to country and in some cases, a legal framework has been established to obtain *in vitro* embryos, although Article 18.2 of the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine bans the creation of human embryos for research purposes.

Spain is currently creating a bill on biomedical research that will allow the creation of human embryos for certain research projects, provided that it is warranted, that an *ad hoc* committee approves the protocol and that it has met the prerequisite – necessary in all cases, but not sufficient – of the gamete donors' consent.

9. CONCLUSIONS

Given all of the above, we believe that the practice of nuclear transfer in regenerative medicine using nuclear transfer pseudoembryos cannot be refused if it is conducted in compliance with clearly established criteria.

Authorization to use nuclear transfer techniques should be based on regulations that define the criteria to be met. It is essential that the donors of biological material consent to this use. Moreover, an *ad hoc* committee should assess and approve the appropriateness of protocol, researchers' qualifications, the need to use these materials and techniques, and the confidentiality agreement on the data, as well as the economic impact, taking into account the cost–benefit criteria. These

³ UNESCO. *Division of the ethics of science and technology. National Legislation concerning human reproductive and therapeutic cloning*. July 2004. <http://portal.unesco.org/shs/en/ev.php>

committees should be pluralistic and multidisciplinary, and their members should strive to attain a real consensus and not merely a juxtaposition of various stances.

Ethical judgments as well as political and legal decisions on these new technologies should be based on thorough and responsible analysis, taking into account and prioritizing the assets, values and rights involved in each case, while keeping in mind that these can be conflicting or even contrary. Moreover, different regulatory bodies can contribute to this task with their corresponding sanction systems, including those within the legal system, from administrative to civil and criminal law, as well as also deontological and good practice bodies, which should be actively involved in the creation of control measures.

10. GLOSSARY

Blastocyte: A particular stage of mammalian embryos, characterized by multiple, undifferentiated cells with no tissue differentiation or organ development. At this stage, cellular disaggregation allows, under experimental conditions in lab cultures, for the obtaining of embryonic stem cells that can then be differentiated into various cell types but which are unable to form a whole organism on their own.

Cellular reprogramming: Complex mechanism whose molecular foundations are virtually unknown. It is known that the macromolecular composition of the oocyte cytoplasm plays a critical role in the nucleus reprogramming process, which then initiates a cellular division and embryo formation phase.

Cloning: Production of a clone, that is, a set of cells derived from a single original cell and, therefore, genetically identical to this cell. In a broad

sense, cloning refers to the production of genetic copies of individual cells or organisms, without sexual reproduction.

Embryonic stem cell: In a broad sense, a stem cell derived from an embryo.

Intracytoplasmic sperm injection: Egg fertilization using sperm injection.

Oocyte: Mammalian female germ cell. Synonymous with “egg.”

Parthenogenetic: Individual created exclusively out of a female gamete, without sperm. It is a common means of reproduction in certain insects.

Somatic cell: Any cell from an organism whose nucleus contains two complete sets of chromosomes (diploid).

Somatic cell nuclear transfer to an enucleated egg or zygote: A zygote is generated *in vitro* via diploid nucleus microinjection, which comes from a somatic cell from the same individual or other person, into an egg whose haploid nucleus has been eliminated (enucleated). This zygote produces an *in vitro* embryo. As in assisted fertilization, it is essential to transfer the zygote into a female uterus to generate a cloned individual.

Stem cell: An undifferentiated cell whose main characteristics are its ability to regenerate indefinitely and its potential to differentiate into diverse cell types. They can be multi-, pluri- or totipotent, depending on the cell type they can produce.

Totipotent cell: From the Latin *totus* (all). A cell capable of developing into any cell type in tissues, human organs or even embryos.

Telomere: The natural end of a chromosome that protects it from “wear.” Each time a chromosome divides, it loses part of its telomeres. This is why in older individuals, cell telomeres are shorter than in younger individuals. Telomerase is the enzyme that synthesizes and keeps telomeres at an appropriate length.

Transgenesis: The introduction of foreign DNA into a genome so that it remains stable through generations and affects all cells.

Zygote: The unicellular embryo formed either by the union of a spermatozoid and an egg or by cloning techniques (diploid nucleus transfer into an enucleated egg).

11. REFERENCES

Cowan CA et al. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science* 2005; 309: 1369-1373.

Wilmut I et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385: 810-813.

UNESCO. Division of the Ethics of Science and Technology. National legislation concerning human reproductive and therapeutic cloning. July 2004. <http://portal.unesco.org/shs/en/ev.php>

UN Ad Hoc Committee on an International Convention against the Reproductive Cloning of Human Beings. <http://www.un.org/law/cloning> (accessed on April 11, 2005).

Missed opportunity to ban reproductive cloning (editorial). *Nature Cell Biology* 2005; 7(4).

Knowles LP. A regulatory patchwork – human ES cell research oversight. *Nature Biotechnology* 2004; 22(2): 157-163.

University of Minnesota Medical School. <http://mbbnet.umn.edu/scmap.html> (accessed on May 9, 2005).

Universal Declaration on Human Genome and Human Rights, approved at the 29th UNESCO General Conference on November 11, 1997.

“Convention for the Protection of Human Rights and Human Dignity with Regard to the Application of Biology and Medicine: Convention on Human Rights and Biomedicine – adopted by the Committee of Ministers of the European Council on November 19, 1996. Opened for state signature in Oviedo, on April 4, 1997, and ratified by the Spanish General Courts on October 5, 1999 (BOE. October 20, 1999, number 251).

Stem Cells in a Pluralistic Society: Consequences of Proposed Canadian Legislation. Dorothy C Wertz, Marie-Hélène Régner and Bartha Maria Knoppers. Genetics & Society Project, CRDP, Université de Montréal. Gen Edit 2003, Vol. I, N° 1. <http://www.humgen.umontreal.ca/int/GE/en/2003-1.pdf>

This report was approved at the 54th meeting of the Catalan Bioethics Advisory Committee, held on December 20, 2005, by the majority of its members and with the individual vote of Joan Vidal-Bota.

**The following people are members
of the Catalan Bioethics Advisory Committee:**

Ms Victoria Camps Cervera, president; Mr Marc Antoni Broggi Trias, first vice-president; Mr Rogeli Armengol Millans, second vice-president; Mr Rafael Manzanera López, coordinador; Mr Ernest Maragall Mira, Mr Josep Ramon Arisa Clusella, Mr José Luis Ausin Herbella, Mr Marius Morlans Molina, Mr Joan Maria Pons Rafols, Ms María Luisa de la Puente Martorell, Mr Lluís Torralba Novella, Ms Montserrat Artigas Lage, Mr Tomàs Pujol Castells, Ms Rosa Securún Fuster, Mr Xavier Muñoz Puiggròs, Ms Marta Aymerich Martinez, Mr Alfons Vilarrasa Cagigós, Ms Maria Comellas Doñate, Mr Eduardo Mendoza Garriga, Ms Montserrat Busquets Surribas, Ms Maria Teresa Bassons Boncompte, Mr Joan Viñas Salas, Mr Francesc Abel Fabre, Ms Margarita Boladeras Cucurella, Ms Maria Casado González, Mr Francesc Borrell Carrió, Mr Albert Jovell Fernandez, Ms Milagros Pérez Oliva, Mr Octavi Quintana Trias, Mr Jordi Varela Pedregosa, Mr Joan Vidal-Bota, Mr Javier Hernández García, Mr Francesc Josep Maria Sánchez, Mr Pablo Hernando Robles, Mr Xavier Carné Cladellas, Ms Virtudes Pacheco Galván, Ms M. Josep Borràs Pascual, Ms Montserrat Boada Pala, Ms Ana Veiga Lluch, members; and Mr Josep M. Busquets Font, secretary.

Individual vote for the document

"General Considerations Regarding Nuclear Transfer"

South Korean researcher Hwang Woo Suk's claims of having for the first time produced patient-specific stem cells via nuclear transfer have been proven fraudulent, exposing the current weaknesses in this technology as well as raising significant mistrust among the public with regard to its potential uses. I believe that investing resources in technology with these characteristics is unwarranted, since it implies that such resources will not be used for adult stem cell research, particularly that in umbilical stem cells.

Rather than providing scientific reasons from the field of embryology, and basing, instead, the decision on a purely literal interpretation taken from linguistic dictionaries, this document denies that the product of nuclear transfer has the status of a human embryo and assigns it an imaginary and belittled status of "pseudoembryo," thereby avoiding discussion of the status of an embryo. I do not find this to be a legitimate argument; it leaves an vital question unanswered.

The large quantity of eggs needed for nuclear transfer may lead to the exploitation of young women with limited resources and this is not ethical.

Joan Vidal-Bota

President of the Catalan Association of Bioethical Studies (ACEB)