

FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA

**Comité Asesor de Ética en la Investigación Científica y
Tecnológica**

INFORME

LA INVESTIGACIÓN SOBRE CÉLULAS TRONCALES

INFORME

LA INVESTIGACIÓN SOBRE CÉLULAS TRONCALES

Comité Asesor de Ética en la Investigación Científica y Tecnológica

PRESIDENTE

César Nombela Cano

Catedrático de Microbiología, Universidad Complutense de Madrid

VOCALES

Carlos Alonso Bedate

Profesor de Investigación, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa Universidad Autónoma de Madrid-CSIC

Luis Balairón Ruiz

Meteorólogo del Estado, Instituto Nacional de Meteorología

Francisco Belil Creixell

Presidente de la Federación Empresarial de la Industria Química Española

Adela Cortina Orts

Catedrática de Filosofía del Derecho, Moral y Política, Universitat de Valencia

Manuel Elices Calafat

Catedrático de Ciencia y Tecnología de Materiales, Universidad Politécnica de Madrid

Antonio Fernández-Rañada Menéndez de Luarca

Catedrático de Electromagnetismo, Universidad Complutense de Madrid

Mónica López Barahona

Decana de CC. Biosanitarias, Universidad Francisco de Vitoria

Daniel Ramón Vidal

Catedrático de Tecnología de Alimentos, Universitat de Valencia

Joan Rodés Teixidor

Director de Investigación, Hospital Clinic de Barcelona

Carlos M. Romeo Casabona

Catedrático de Derecho Penal, Universidad del País Vasco

Mateo Valero Cortés

Catedrático de Arquitectura de Computadores, Universitat Politècnica de Catalunya

INDICE

	Pág.
Índice	2
I. Presentación del informe	3
II. Recomendaciones para la investigación sobre células troncales	5
III. Aspectos científicos de la investigación sobre células troncales	8
III.1. Las células troncales.....	8
III.2. Avances recientes en la investigación sobre células troncales.....	10
III.3. Células troncales embrionarias	12
III.3.1. Fuentes de obtención de células troncales embrionarias.....	13
III.3.2. Diferenciación de las células troncales embrionarias.....	15
III.3.3. Empleo terapéutico de las células troncales embrionarias.....	17
III.4. Células troncales adultas	18
III.4.1. Desdiferenciación y transdiferenciación celular	20
III.4.2. Fuentes de obtención de las células troncales adultas	22
III.4.3. Localización y diferenciación de las células troncales adultas	25
III.5. El futuro de la investigación sobre células troncales	33
IV. Aspectos éticos de la investigación sobre células troncales.....	36
IV.1. La ética del Comité de ética.....	37
IV.2. Reflexiones acerca de la investigación sobre células troncales adultas.....	42
IV.3. Reflexiones acerca de la investigación sobre células troncales embrionarias	42
IV.4. El problema del estatuto del embrión humano.....	44
IV.5. Puntos de discrepancia en torno a la investigación sobre células troncales embrionarias	48
V. Aspectos jurídicos de la investigación sobre células troncales	51
V.1. Reflexiones sobre la obtención de células troncales de adultos.....	52
V.2. Reflexiones sobre la obtención de células troncales de cordones umbilicales, embriones y fetos abortados	53
V.3. Reflexiones sobre la obtención de células troncales de embriones humanos <i>in vitro</i> ..	54
V.3.1. El marco jurídico de protección del embrión	55
V.3.2. Embriones creados para la obtención de células troncales	60
V.3.3. La obtención de células troncales a partir de embriones sobrantes de las técnicas de fecundación <i>in vitro</i>	63
V.3.4. La obtención de líneas de células troncales embrionarias.....	68
V.4. La realización de investigaciones o de ensayos clínicos con los productos obtenidos a partir de células troncales.....	68
V.4.1. Las investigaciones y experimentaciones preclínicas.....	69
V.4.2. Los ensayos clínicos con células troncales.....	71
Voto particular.....	77
ANEXO 1. Fuentes bibliográficas	81
1. Aspectos científicos	81
2. Aspectos éticos.....	93
3. Aspectos jurídicos.....	94
ANEXO 2. Listado de expertos externos.....	98
Agradecimientos.....	99

I. PRESENTACIÓN DEL INFORME

Por parte del Ministerio de Ciencia y Tecnología, a través de la Secretaría de Estado de Política Científica y Tecnológica, se ha requerido a este Comité para que emita un informe acerca de la investigación sobre células troncales (“células madre”). Ello implica analizar con detalle cuestiones de investigación de enorme actualidad cuyo avance puede suponer un notable progreso, tanto en el conocimiento fundamental como en sus aplicaciones médicas. El Comité afronta su elaboración con el convencimiento de que el avance científico, como actividad genuinamente humana, representa un valor fundamental para la sociedad. Asimismo, las cuestiones científicas implicadas han sido analizadas desde el punto de vista ético y en el marco jurídico vigente, cuya relevancia por los valores que están en juego es indudable.

La elaboración del informe ha supuesto un análisis profundo de cuestiones científicas en plena evolución, así como una indagación en territorios del conocimiento que se amplían de forma continua, pero en los que quedan numerosos aspectos por descubrir. Los fundamentos biológicos de las cuestiones en juego sólo en parte están claramente establecidos, lo que hace necesaria una actitud abierta ante la significación de los nuevos hallazgos. El impacto social de las cuestiones en juego es indudable, lo que justifica el interés y el debate en torno a la investigación sobre células troncales. Por todo ello, el Comité realiza el esfuerzo de ofrecer una reflexión y unas recomendaciones, en la confianza de que puedan servir para el progreso científico también impulsado por principios éticos fundamentales.

El objetivo de este informe es resumir con claridad la situación actual de las investigaciones sobre células troncales, las estrategias experimentales con las que se abordan, los hechos y conceptos establecidos y las hipótesis en las que se basan los planteamientos futuros (apartado III de este informe). A partir de una consideración rigurosa de este marco científico, el Comité expresa su opinión acerca de los aspectos éticos (apartado IV) y jurídicos (apartado V) que deben inspirar la regulación de estas investigaciones por parte de las administraciones públicas.

El Comité es responsable del contenido de este informe. Para su elaboración, llevada a cabo según los procedimientos previstos en sus normas de funcionamiento, ha tenido en cuenta y debatido la información existente sobre el tema (anexo 1), las opiniones expresadas por sus integrantes y las aportadas por un conjunto de expertos externos que fueron consultados (anexo 2). Para dicha consulta, el Comité se ha dirigido a expertos de nuestro país, presumiblemente representativos de las diversas opiniones que habitualmente se formulan en la sociedad española.

Como se ha indicado, todos los contenidos técnicos y los considerandos de este informe están recogidos en los apartados siguientes. A modo de resumen y como conclusión de todos ellos este Comité emite las recomendaciones que se plantean a continuación.

II. RECOMENDACIONES PARA LA INVESTIGACIÓN SOBRE CÉLULAS TRONCALES

- 1) Las investigaciones con células troncales animales deberán ser priorizadas cuando sus resultados sean directamente extrapolables a los que se puedan obtener con células humanas.
- 2) La investigación con células troncales adultas humanas no genera una problemática ética específica, dado que se obtienen a partir de tejidos adultos. Una situación similar se produce en el caso de la obtención de dichas células a partir de cordón umbilical o de fetos abortados. Considerando el gran potencial plástico de estas células este Comité recomienda que se intensifique la investigación en estos tipos celulares.
- 3) La investigación que utilice líneas establecidas de células troncales no presenta problemática ética específica.
- 4) La investigación con células troncales embrionarias humanas sí genera problemas éticos, ya que deben obtenerse a partir de embriones tempranos. Este Comité conoce dicha problemática, y estima que el embrión temprano tiene un valor y merece especial respeto, pero que este valor es ponderable con respecto a otros valores.
- 5) En nuestro país existen miles de embriones humanos sobrantes de procesos de fecundación *in vitro*. Considerando el presunto efecto negativo sobre los mismos de la congelación prolongada, así como su posible destrucción una vez superado el plazo establecido por la ley, este Comité recomienda que, frente a la alternativa de la destrucción de los embriones sobrantes, éstos puedan ser empleados para obtener células troncales embrionarias, ya que las investigaciones con estas

células pueden generar resultados potencialmente aplicables a la prevención y/o tratamiento de enfermedades graves.

- 6)** La utilización de embriones sobrantes para la derivación de células troncales será aceptable siempre y cuando se atenga a las siguientes condiciones: i) que se disponga del consentimiento informado de los progenitores implicados o, si esto no es posible, de la autorización del centro de reproducción asistida responsable de su custodia de acuerdo con la legislación vigente, ii) la investigación debe estar dirigida a aliviar el sufrimiento humano y no responder a meros intereses económicos, iii) debe llevarse a cabo exclusivamente en grupos de investigación que demuestren su experiencia en dicha temática de investigación, y iv) el protocolo de investigación debe ser previamente evaluado por los comités de ética pertinentes y estar sometido a un seguimiento exhaustivo por parte de los mismos. En este sentido se recomienda que un comité nacional controle y supervise estas investigaciones.
- 7)** Es recomendable evitar la acumulación de embriones humanos sobrantes en los centros de reproducción asistida, por lo que habría que reducir al mínimo posible, compatible con las técnicas de fecundación *in vitro*, su generación y poner mayor énfasis en su catalogación y control. Además es deseable promover la donación de dichos embriones a las parejas que los precisen con fines de reproducción.
- 8)** La legislación vigente deberá ser modificada a fin de establecer un marco jurídico adecuado en lo referente a la investigación con células troncales procedentes de embriones humanos sobrantes.
- 9)** No se recomienda la creación específica de embriones humanos con el fin directo de generar células troncales para la investigación.

10) La experimentación de cualquier tipo de célula troncal sobre seres humanos debe venir precedida de estudios exhaustivos en modelos animales y llevarse a cabo de acuerdo con la normativa vigente sobre ensayos clínicos y, en general, sobre investigación clínica. Esta normativa deberá ser revisada al efecto de contener disposiciones específicas sobre estas técnicas.

11) Dado que las células troncales adultas y las embrionarias tienen características específicas, este Comité estima que no existe competencia entre ambas investigaciones y recomienda que se realice investigación con ambos tipos celulares.

III. ASPECTOS CIENTÍFICOS DE LA INVESTIGACIÓN SOBRE CÉLULAS TRONCALES

III.1. Las células troncales

La capacidad de multiplicarse es inherente a toda célula viva. Sin embargo, en organismos complejos como los mamíferos, integrados por una gran variedad de células, esta capacidad se manifiesta de muy diversas formas y con grados distintos. En este sentido, las llamadas células troncales se definen por ser capaces de dividirse generando nuevas células troncales y, además, poder diferenciarse, en el curso de su multiplicación, lo que da lugar a distintos tipos celulares. Así ocurre con las células troncales más conocidas, las de la médula ósea, que son las encargadas de originar diariamente, en el organismo, tipos celulares tan dispares como los glóbulos rojos, los leucocitos o las plaquetas mediante el proceso biológico conocido como hematopoyesis. No obstante, existen otras muchas células troncales, tanto en los tejidos del organismo adulto como, especialmente, en el embrión a lo largo de las diferentes etapas de su desarrollo.

La facultad de multiplicación y diferenciación de las células troncales, independientemente del grado en que la posean, se puede materializar no sólo en el organismo adulto o embrionario, sino también en cultivos en condiciones de laboratorio. Por ello es razonable plantear la posibilidad de cultivar células troncales de manera controlada, para inducir su diferenciación al objeto de generar tipos celulares distintos, que pudieran servir para la regeneración de tejidos u órganos dañados por procesos patológicos. Al menos en teoría, son muchas las enfermedades cuyo tratamiento podría beneficiarse del empleo de esta “terapia celular”, si bien conviene aclarar que nos encontramos en los primeros estadios de este tipo de investigaciones y que aún queda mucho por conocer. No obstante, los primeros resultados permiten calibrar esta posibilidad y justifican la necesidad de seguir acumulando información sobre este tipo de posibles tratamientos de futuro. Por todo ello se hace necesaria la investigación sobre células troncales.

Está bien establecido que no todas las células troncales tienen el mismo potencial de generación de tipos celulares distintos, lo que permite diferenciar entre células troncales totipotentes, pluripotentes y multipotentes. Existe una relación entre las diferentes células troncales y el estadio de desarrollo del organismo del que provienen. Así, las células troncales totipotentes se dan sólo en fases muy tempranas del desarrollo embrionario y son capaces de generar cualquier tipo celular. Es más, también son capaces de generar las membranas y tejidos, como la placenta, que soportan el desarrollo del feto, por lo que serían capaces de originar un organismo completo, y de ahí que se les otorgue la propiedad de la totipotencia. En la especie humana se cree que sólo son totipotentes las células contenidas en un embrión que haya llegado hasta la fase de mórula de dieciséis células.

En fases posteriores del desarrollo embrionario las células del embrión pierden el carácter totipotente y solamente pueden producir células troncales de tipo pluripotente, capaces de originar cualquier tipo de células del organismo adulto, pero no de generar un organismo completo. En particular, las células de la masa interna del blastocisto no tienen capacidad de generar las membranas y tejidos de soporte para el crecimiento del feto. Al ser incapaces, en condiciones normales de crecimiento, de dar lugar a un individuo completo, estas células tan sólo poseen pluripotencia. Las células con capacidad de formar células troncales pluripotentes están presentes en el embrión humano hasta el día decimocuarto después de la fertilización. Más tarde el embrión se diferencia en tres capas celulares cada una de las cuales está programada para generar tejidos u órganos concretos con la consiguiente pérdida de pluripotencia de sus células constituyentes. Ahora bien, existe un caso muy especial de células troncales pluripotenciales provenientes de estadios tardíos del desarrollo embrionario. Son las llamadas células troncales germinales y se pueden obtener a partir de las células primitivas de las crestas germinales de fetos abortados, que en la especie humana deben tener una edad entre cinco y nueve semanas de gestación.

Finalmente, células troncales se pueden encontrar en algunas localizaciones en el organismo adulto siendo capaces, en determinadas condiciones, de generar algunos tipos celulares. Su plasticidad es menor por lo que poseen una cierta multipotencia.

De acuerdo con lo anterior, conviene resaltar que las células troncales pueden proceder del embrión o del organismo adulto, de ahí que se hable de células troncales embrionarias o células troncales adultas. Las primeras están presentes en el embrión y son las responsables de generar los más de doscientos tipos celulares distintos presentes en el organismo adulto. A lo largo del desarrollo embrionario existe una gradación en cuanto a la posible potencialidad de generación de tipos celulares por parte de las mismas, que va de la totipotencia a la pluripotencia en diverso grado. Por el contrario, las segundas están presentes en los tejidos adultos y cumplen una función biológica determinante al ser las responsables del recambio de las células dañadas en el mismo y, por lo tanto, de la preservación de la integridad y la función del tejido en que se encuentran.

III. 2. Avances recientes en la investigación sobre células troncales

El desarrollo de cualquier tipo de célula troncal, según su potencialidad, no está completamente predeterminado. Las células troncales alcanzan un determinado estadio de desarrollo, pero sus posibilidades no se limitan a generar sólo los linajes y tipos celulares propios del órgano o tejido en el que se incluyen.

Esta afirmación viene avalada por evidencias científicas recientes de enorme interés que documentan la posibilidad de reprogramar, en diversos grados, el desarrollo y diferenciación de muchos tipos de células. Por un lado, el experimento que dio lugar a la generación de la oveja clónica Dolly establece la posibilidad de que la transferencia de un núcleo de una célula adulta a un óvulo

enucleado, origine una célula totipotente capaz de dar lugar a un organismo completo. El núcleo de las células diferenciadas de los mamíferos conserva, por tanto, esencialmente todas las posibilidades de dirigir el desarrollo.

Por otro lado, y como se comentará más detalladamente en páginas posteriores de este informe, distintos experimentos llevados a cabo en ratón y otros animales han logrado generar células de diversos tipos a partir de células troncales adultas, procedentes de órganos o tejidos muy distintos del tipo celular que generan. Así, a partir de células de la médula ósea se han originado células neuronales, cardíacas o hepáticas y, por otro lado, se ha logrado la transformación de células troncales adultas de origen neuronal o muscular en células mieloides o incluso linfoides. Todos estos resultados plantean la posible existencia de células troncales pluripotentes en tejidos adultos o el efecto de un fenómeno de transdiferenciación que convertiría una célula troncal adulta de un tejido determinado en célula troncal de otro.

En cuanto a las células troncales embrionarias, en los últimos años se han refinado las técnicas para su cultivo *in vitro*, de forma que ha sido posible aislarlas desde blastómeros y generar en el laboratorio tipos celulares concretos. En función de los distintos factores de crecimiento presentes en el medio, o de las condiciones y parámetros de dicho cultivo se pueden producir poblaciones celulares integradas mayoritariamente por neuronas, hepatocitos o astrocitos, entre otros tipos celulares.

Todo este cuerpo de información científica, desarrollado durante los últimos años, acrecienta el interés del conocimiento de las células troncales, así como las expectativas de su posible uso para la generación de distintos tipos celulares utilizables para el tratamiento de enfermedades.

A efectos de la investigación sobre células troncales, resulta evidente que la fuente biológica para la obtención de las mismas, dependiendo de su clase, deberán ser embriones o tejidos adultos. Una buena parte de la investigación, desarrollada y por desarrollar, sobre células troncales, se apoya en modelos de animales de experimentación. El ratón destaca entre estos modelos

experimentales de manera muy relevante, pero hay otros muchos que llegan incluso a los primates no humanos. Asimismo, la investigación sobre células troncales se basa cada vez más en el empleo de materiales de origen humano. De ahí se derivan las repercusiones éticas y jurídicas de la investigación, especialmente cuando se trata de embriones humanos.

Con el objeto de poder emitir un informe y para situar las cuestiones científicas en su dimensión adecuada, describiremos a continuación la situación de la investigación sobre células troncales embrionarias y adultas, respectivamente.

III. 3. Células troncales embrionarias

Las células troncales embrionarias se caracterizan por su capacidad de multiplicación indefinida, que les permite además generar una progenie de células especializadas de muy distintos tipos. No están diferenciadas a término, sino que, tras completar un proceso de división y dependiendo del ambiente en que se produce su multiplicación, las células hijas pueden permanecer como células troncales o iniciar un proceso de diferenciación que es *a priori* irreversible. Como antes se indicó, sólo en estadios muy iniciales del embrión existen células totipotentes que muestran capacidad de diferenciarse en tejidos propios del organismo y en las membranas extraembrionarias. Al avanzar el desarrollo embrionario se forma el blastocisto. De las células de la masa interna del blastocisto se generan las células troncales de tipo embrionario que son, sobre todo, células pluripotentes, con capacidad de autorrenovarse y dar lugar a todo tipo de células propias del feto y del organismo completo. La posibilidad de conocer los procesos que gobiernan la diferenciación celular, para generar tal variedad de fenotipos celulares, es la base del interés científico de los estudios con células troncales embrionarias. Sólo a partir de ese conocimiento cabe pensar en dirigir estos procesos para originar cultivos celulares, o cultivos de tejidos *in vitro*, que pudieran sustituir *in situ* a los tejidos dañados por procesos patológicos, desarrollando las correspondientes aplicaciones médicas de estas investigaciones. Para el estudio de estas

cuestiones, se está desarrollando en todo el mundo un ambicioso conjunto de investigaciones, tanto con células de animales de experimentación como con células humanas, basado en la utilización de células troncales embrionarias de diversos orígenes.

III.3.1. Fuentes de obtención de células troncales embrionarias

Hay varias fuentes de obtención de células troncales embrionarias pluripotentes. La primera de ellas son los teratocarcinomas o carcinomas embrionarios que, si bien no tienen un origen estrictamente embrionario, presentan características definidas que aconsejan su inclusión en este apartado. Se trata de tumores gonadales que contienen una amplia variedad celular, representativa de las células derivadas de las tres capas celulares que forman un embrión. Incluyen células características del cartílago, epitelio, neuroectodermo primitivo, estructuras ganglionares, músculo, hueso y epitelio glandular. Todas ellas se forman a partir de unas células troncales pluripotentes que derivan a su vez de células primordiales germinales del embrión post-implantatorio. Son componentes principales de los tumores testiculares humanos, de los que se aíslan y cultivan, habiéndose comprobado también que a partir de ellas pueden obtenerse ciertos tipos de tejidos.

La segunda fuente de obtención son los embriones generados por fecundación de un óvulo con un espermatozoide. Normalmente, las células troncales embrionarias derivan de la capa interna celular del embrión preimplantatorio en su estado de blastocisto. A partir de ellas se obtienen todos los tipos celulares de los tejidos que conforman el organismo adulto. Se han cultivado células troncales embrionarias procedentes de blastocistos de ratón y de blastocistos humanos. Las células así cultivadas parecen tener la capacidad de poder mantenerse en cultivo indefinidamente. También es posible obtener células pluripotentes a partir de tejidos de fetos abortados. Se han obtenido así las células germinales embrionarias, que derivan de células germinales primordiales del embrión post-implantatorio. Estas células troncales, en cultivo

y en presencia de suero y ciertos factores, son morfológicamente indistinguibles de las células derivadas de teratocarcinomas o embriones.

La última fuente son los embriones de origen agámico, en los que no hay un proceso de fecundación de un óvulo intacto por un espermatozoide, siendo posible su obtención por reemplazamiento nuclear o por partenogénesis. La clonación por transferencia nuclear comienza eliminando el núcleo de un óvulo, pero no su información genética mitocondrial. Este óvulo enucleado se fecunda y posteriormente se le microinyecta un núcleo diploide que puede provenir de una célula somática o embrionaria. Se han generado así embriones clónicos de diversas especies. También se ha practicado la técnica con óvulos humanos aunque los resultados distan de ser completos. La realización de este tipo de experimentos con animales ha demostrado que el cigoto generado es una célula diploide totipotente, cuyo desarrollo e implatación uterina conduce a un organismo completo. Por lo tanto, el núcleo diploide transferido dirige el desarrollo embrionario en la misma medida en que lo dirige el material genético resultante de la combinación de las dotaciones genéticas femenina y masculina. Conviene resaltar que se ha intentado la generación de clones híbridos, hombre-animal, mediante transferencia de un núcleo somático humano a óvulos enucleados de animales como la vaca o el cerdo. Aunque el sistema se plantea para obtener células troncales, los interrogantes científicos y éticos no resueltos en esta experimentación son muchos. Entre ellos cabe destacar la coexistencia de genomas distintos (un núcleo humano y un ADN mitocondrial del animal) y la carencia de datos en cuanto a su posible viabilidad.

La partenogénesis supone la estimulación por métodos físicos o químicos del óvulo, cuando su contenido es aún diploide, con el fin de inducir en él la capacidad de programar su genoma para que dirija posteriores divisiones celulares propias del desarrollo embrionario. De nuevo, el cigoto generado por partenogénesis de un óvulo responde a la definición clásica de esta célula en cuanto a su dotación genética y totipotencia. Empleando estímulos, que simulan los efectos de la fertilización del óvulo por el espermatozoide, se ha dirigido artificialmente la partenogénesis de óvulos de diferentes mamíferos

como ratones y conejos. Sin embargo, el embrión así generado no ha llegado a desarrollarse más allá de las primeras etapas del estado fetal. Recientemente se ha anunciado la inducción partenogénica de óvulos humanos, sin que el producto resultante alcanzara la estructura de blastocisto con sus masas celulares diferenciadas.

III.3.2. Diferenciación de las células troncales embrionarias

A partir de blastocistos de ratón y de otros mamíferos se han obtenido células troncales pluripotentes, tanto embrionarias como germinales. La pluripotencialidad de las células presentes en la masa interna del blastocisto se pone de manifiesto cuando se extraen de esta zona del embrión y se cultivan en el medio adecuado. De hecho su multiplicación en cultivo es intensa pudiendo dar lugar a masas de varios tipos de células (cuerpos embrioides) o a líneas de células de diversos tipos cuando se estimula su diferenciación en una determinada dirección. Sus características de proliferación celular indefinida son la consecuencia de su procedencia biológica a partir de unos estadios iniciales del desarrollo en los que las células están destinadas fundamentalmente a multiplicarse. Su capacidad de diferenciación controlada, cuando se les estimula en el laboratorio, aporta una opción muy clara de obtener clones de células especializadas con una dotación cromosómica estable que son susceptibles de modificación genética por técnicas de ingeniería genética.

Conviene recordar que la experimentación con las células pluripotentes de ratón ha dado lugar a una notable cantidad de información científica acerca de los elementos genéticos y los procesos que regulan la diferenciación en el embrión murino. Muchos de ellos están conservados a lo largo de la escala evolutiva de los mamíferos, pero se han observado algunas diferencias entre los mecanismos de diferenciación embrionaria en primates y humanos. Por ello, la publicación sobre la obtención de células troncales embrionarias a partir de blastocistos humanos procedentes de embriones que habían sido generados para reproducción asistida por fertilización *in vitro* constituyó todo un

impacto, al acercar más el campo a las posibilidades de aplicación en la medicina humana.

Desde entonces se han llevado a cabo investigaciones relacionadas con el comportamiento de las células troncales embrionarias en cultivo y sus respuestas a la estimulación por determinados agentes. Por ejemplo, utilizando ácido retinóico se ha inducido diferenciación de células troncales embrionarias de ratón a células neuronales. Asimismo se han generado neuronas dopaminérgicas y oligodendrocitos, a partir de células troncales embrionarias de esta misma especie. Igualmente se ha empleado ácido retinóico para lograr la diferenciación neuronal de células troncales embrionarias humanas de las que se han obtenido precursores neuronales. También se ha logrado la diferenciación de células troncales embrionarias a cardiomiocitos, tanto en ratón como en la especie humana. Igualmente se han conseguido seleccionar células troncales embrionarias humanas, mediante el empleo de la molécula de adhesión endotelial de plaquetas, para su posterior diferenciación hacia células endoteliales capaces de formar estructuras similares a vasos. Finalmente, hay que destacar los resultados que documentan la diferenciación de células troncales embrionarias de ratón a células secretoras de insulina, progenitores hematopoyéticos y miocitos esqueléticos, células musculares, adipocitos, condriocitos, células endoteliales, melanocitos y hepatocitos.

La actividad de investigación en este campo no está exenta de ciertas controversias, cuando nuevos hallazgos parecen contradecir cuestiones bien establecidas, como ha ocurrido recientemente con la aparente demostración de que no se había producido la pretendida diferenciación de células troncales embrionarias de ratón a células productoras de insulina, sino que más bien las supuestas células diferenciadas acumulaban esta hormona presente en el medio.

III.3.3. Empleo terapéutico de las células troncales embrionarias

Se ha abordado la posibilidad de emplear células troncales embrionarias para llevar a cabo tratamientos de enfermedades en animales de experimentación. En esta línea se han logrado reparar en ratones deficiencias genéticas en la función de la glía mediante trasplante de células troncales de glía procedentes de líneas celulares embrionarias. Igualmente, utilizando un modelo animal, se ha puesto de manifiesto cómo las neuronas dopaminérgicas, derivadas de células troncales embrionarias, pueden funcionar adecuadamente en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. También se ha descrito la corrección de la diabetes en ratones con diabetes experimental con células productoras de insulina derivadas de cultivos de células troncales embrionarias. Conviene destacar que todos estos experimentos se consideran preliminares, requieren la inmunodepresión de los ratones para evitar los problemas de rechazo inmunitario y, como se ha señalado, son objeto de controversia.

Sin perder de vista que la utilización terapéutica de células troncales embrionarias es, en estos momentos, sólo una hipótesis de investigación, cabe mencionar varias dificultades. En primer lugar, es necesario citar que la obtención de las células es ya de por sí problemática pues o bien hay que generar un embrión específicamente con este fin o bien hay que emplear un embrión generado originalmente para fines reproductivos y destinarlo a fines de investigación. En ambas ocasiones el embrión, como unidad biológica, se destruye en el proceso. Otras fuentes de obtención de células troncales embrionarias son los teratomas, si bien estas células presentan un ritmo de crecimiento alterado y, consecuentemente, no deberían ser empleadas para dirigir su diferenciación con fines terapéuticos; y las células germinales embrionarias con las dificultades técnicas de obtención que esta fuente conlleva.

Otra dificultad la plantea la intensa capacidad de crecimiento que presentan estas células troncales, capacidad que se mantiene indefinida como consecuencia del mantenimiento de la telomerasa. Por ello es complicado poder inducir su diferenciación a término y existen riesgos de generación de

tumores si son implantadas directamente en un animal. Una publicación reciente documenta cómo el mantenimiento en cultivo de células troncales embrionarias da lugar a pérdidas o reduplicaciones de un gen que codifica una enzima que afecta a la expresión de ciertos genes supresores de tumores. De hecho, líneas celulares obtenidas a partir de embriones tempranos retienen la capacidad de generar teratomas *in vivo*.

Finalmente, y como se indicó con anterioridad, existen problemas relacionados con el rechazo inmunitario debido a la posible incompatibilidad inmunológica entre el embrión del que derivan las células y el organismo receptor. Como en los casos de trasplante de órganos, implicaría la necesidad permanente de tratamientos inmunosupresores en el paciente. Con el fin de solventar este problema se está trabajando en la manipulación o reemplazo de los antígenos del complejo principal de histocompatibilidad de las células troncales embrionarias, que controla la naturaleza de los antígenos relevantes en el rechazo inmunitario. Evidentemente, la técnica previamente descrita de desarrollo de embriones mediante reemplazamiento nuclear podría solventar, al menos en teoría, este problema.

III.4. Células troncales adultas

El desarrollo embrionario hasta el adulto supone una reducción de la potencialidad de diferenciación de las células, desde la totipotencialidad del cigoto, hasta los últimos estadios de diferenciación. Pero, como antes se indicó, en el organismo adulto y a lo largo de toda su vida, tienen lugar procesos de reparación y de reemplazamiento de las células de determinados tejidos, por ejemplo, después de sufrir daños. Hay por tanto una generación de células en el adulto con una cierta plasticidad en cuanto a su fenotipo, refiriéndose dicho término no sólo a las características externas observables de un organismo o célula, sino a las propiedades que definen las interacciones con otras células y productos extracelulares, a las proteínas de superficie y al proceder funcional del conjunto.

Podemos por ello concluir que la reparación y el reemplazamiento de células y tejidos del organismo adulto, implica la existencia de células que no están en estado de diferenciación terminal, o que si lo están, deben poder revertir a un estado no especializado o diferenciado de forma irreversible terminal. Son éstas las células somáticas que merecen el nombre de células troncales adultas.

Las células troncales adultas dan lugar a células especializadas mediante la generación de otras con especialización intermedia llamadas progenitoras. Las células progenitoras están determinadas para originar un tipo celular concreto, en función de la situación en la que se encuentran en relación con células vecinas. Por ejemplo, las células progenitoras del intestino están situadas en la base de las criptas intestinales. Estas células se dividen con gran frecuencia pero permanecen como un grupo de reserva para dar lugar a células del intestino. Por tanto, las células troncales adultas no poseen el grado de indefinición funcional de las células troncales embrionarias debido al ambiente celular vecino. De hecho, para algunos autores las células troncales adultas son parte de conjuntos celulares fetales sin diferenciación y su función sería la de mantener la homeostasis cuando se produce la muerte de algunas células por cualquier daño tisular.

Para que una célula, embrionaria o adulta, se pueda considerar como troncal debe ser capaz de generar células con un fenotipo maduro, que puedan quedar integradas en el tejido correspondiente, además de ejercer las funciones especializadas del mismo. La organogénesis y diferenciación de las células requiere señales bioquímicas a las que responder, expresando los genes de forma diferencial y adquiriendo estructuras citoplasmáticas especializadas. Estas ideas han incitado la búsqueda de los factores que regulan la expresión diferencial de los genes, sin descuidar otros factores de carácter epigenético, ya que el nicho donde una célula se encuentra determina su estado final. Algunas señales moleculares que actúan reprogramando células precursoras en una localización adecuada, parecen ser factores fundamentales, por

ejemplo, en la neurogénesis. Una lógica similar a la de la neurogénesis parece que puede aplicarse a la formación de cualquier otro órgano.

III.4.1. Desdiferenciación y transdiferenciación celular

En relación con las células troncales cobra especial interés la idea de la desdiferenciación y transdiferenciación, que significa que algunas células adultas pueden revertir a un estadio anterior, o dar lugar a otro estado de linaje diferente, puesto que su información genética no está fijada irreversiblemente en el estado en que están.

La realidad de estos fenómenos se fundamenta en diversas observaciones sobre la reprogramación del desarrollo de las células. Como ya se mencionó anteriormente, la clonación de la oveja Dolly establece que el material genético del núcleo mantiene su integridad informativa, a lo largo de todo el proceso de diferenciación que conforma los fenotipos, proceso controlado por dicha información junto con la información que aporta la arquitectura citoplasmática. El material genético de la célula diferenciada permanece sustancialmente intacto durante el desarrollo, por lo que se puede reprogramar al introducirse en un ambiente especial, como es el citoplasma de un óvulo. Ciertamente es que el núcleo de la célula diferenciada puede haber acumulado mutaciones a lo largo de su vida somática, pero el estado de diferenciación del ADN nuclear no parece ser irreversible.

Sin embargo la clonación mediante transferencia nuclear es una posibilidad poco eficiente, con un alto índice de fracasos. Tal vez el número y calidad de las mutaciones acumuladas puede ser la explicación de este fracaso, al impedir con frecuencia que el núcleo pueda soportar un proceso de desdiferenciación con el correspondiente desarrollo ontogénico. De hecho, podría ocurrir que la desdiferenciación no sea un proceso tan general como se pensaba. Lo esencial, en cualquier caso, es que la información del citoplasma del óvulo en el que se introduce el núcleo de la célula ya diferenciada, determina qué información se debe extraer del ADN. Este concepto es esencial para entender

el proceso de derivación de células troncales y su posterior especialización, tanto si se trata de células embrionarias como de células adultas.

La desdiferenciación, como concepto y como posibilidad experimental, está bien establecida. Sin embargo, la complejidad de los sistemas de señales y circuitos regulatorios que la gobiernan dista mucho de conocerse. Se acuñaron los términos desdiferenciación y transdiferenciación para describir la capacidad de una célula embrionaria, aparentemente diferenciada, de llegar a ser una célula de otro tejido en respuesta a su extirpación quirúrgica y traslado a un tejido adyacente o a un cultivo *in vitro*. En la actualidad se pueden aplicar igualmente a determinadas células de tejidos posnatales.

Por eso, podemos concluir que en el adulto existen células troncales, al igual que existen en el embrión, aunque sus propiedades no sean idénticas. Como tales células troncales no han alcanzado el estadio de diferenciación terminal y son capaces de autorregenerarse indefinidamente, dando lugar a los diferentes tipos celulares especializados que componen un organismo. Esa plasticidad de determinadas células del organismo maduro ha anulado un dogma clásico de la embriología, que establecía que el destino de una célula estaba ya fijado de forma irreversible y cerrado cuando entraba a formar parte de una de las tres capas germinales del embrión. Así, de una capa no se podía acceder a otra. Además, la plasticidad de especialización atribuida a las células troncales adultas se limitaba a originar los tipos celulares existentes dentro del tejido originario en que se encuentra. De hecho, se pensaba que las células troncales neurales, por ejemplo, darían lugar única y exclusivamente, a tipos celulares neurales.

Sin embargo, evidencias obtenidas tanto *in vivo* como *in vitro* muestran que las células troncales del adulto, originadas en un tejido determinado, son capaces de producir células con una expresión genética característica de otros tejidos, cuando se transfieren al ambiente de otro tejido diferente. De una forma muy particular se ha prestado atención a la capacidad de las células de la médula ósea, de producir células con las propiedades de hepatocitos, neuronas y cardiomiocitos, dada la facilidad con la que las células de la médula ósea se

pueden extraer de donadores y ser utilizadas en la práctica clínica. Ya hace algún tiempo que se llevan a cabo terapias celulares, mediante trasplante de células troncales hematopoyéticas de la médula ósea, por ejemplo, para restablecer funciones inmunológicas en pacientes.

Tampoco se ignoraba la presencia de células troncales en otros tejidos que también presentan gran tasa de proliferación, como la epidermis. Sólo recientemente se han descubierto células troncales en órganos que normalmente tienen una baja tasa de renovación, como es el caso del cerebro. Así pues, la novedad ha consistido en reconocer la existencia de células troncales multipotentes o adultas en tejidos donde se asumía que no había ningún tipo celular autorregenerativo. Y lo que es aún más interesante, es que algunas de ellas, si no todas, presentan la suficiente “flexibilidad” para generar células especializadas de otros linajes diferentes a los determinados por su propio origen y localización.

III.4.2. Fuentes de obtención de las células troncales adultas

El conjunto de tejidos adultos conocidos en donde se encuentran células troncales se incrementa de forma continua. Actualmente incluye la médula ósea, sangre periférica, cerebro, columna vertebral, pulpa dental, vasos sanguíneos, músculo esquelético, epitelio de la piel y del sistema digestivo, cornea, retina, hígado y páncreas. La demostración de su existencia se lleva a cabo de varias formas, como puede ser el marcaje genético de determinadas células *in vivo* y su localización posterior, el aislamiento y marcaje de tales células, seguido de trasplante y localización posterior, o el aislamiento de las células seguido de diferenciación, trasplante y posterior seguimiento. La mayor parte de estas observaciones se han realizado en el ratón. El carácter troncal multipotencial se pone de manifiesto si se demuestra que las células se pueden integrar en el ambiente de su nuevo tejido, sobrevivir en él y ejercer las funciones de cualquier célula madura del mismo.

El nicho o microambiente del tejido que aloja las células troncales parece tener una importancia decisiva en la determinación del destino celular por el conjunto de señales e interacciones que contiene. De la identificación de estos nichos, demostrando la presencia en ellos de células troncales, depende en buena medida el avance de los estudios con células troncales adultas y su posible aplicación terapéutica.

También se plantea como un objetivo claro el análisis de los mecanismos de crecimiento y diferenciación de las células troncales adultas. Se ha logrado multiplicar células troncales adultas en cultivos durante más de cien generaciones, sin que pierdan su potencial de multiplicación y diferenciación, ni muestren signos de senescencia. No obstante, está claro que la dificultad técnica para su cultivo es mayor que en el caso de las células embrionarias. Las células troncales adultas tienen su propia historia constitutiva, dentro de los tejidos de donde proceden y, en principio, serían las más útiles para reparar los tejidos de ese tipo. En cualquier caso, del análisis de sus patrones de multiplicación, que se manifiestan con arreglo a una cinética asimétrica dependen, en buena medida, los futuros progresos, conceptuales y técnicos, sobre células troncales adultas, sus capacidades de multiplicación y diferenciación, sus periodos de viabilidad y sus aplicaciones.

La mencionada asimetría en la división supone que, una célula precursora o la célula troncal adulta, se divide dando lugar a una célula que va a adquirir la especialización y a otra que mantiene el estado precursor o de troncalidad. La diferencia entre célula precursora y troncal *in vivo* puede residir en que la célula precursora puede originar varios tipos celulares del tejido mientras que la troncal puede originar todos los tipos celulares del tejido. En este contexto las células precursoras no serían verdaderas células troncales. Aunque las evidencias experimentales son todavía limitadas, el conocimiento profundo de estos fenómenos resulta del mayor interés. En especial desde el punto de vista de la posible movilización de células troncales *in vivo*, para generar células especializadas de tejidos muy diferentes del que son originarias.

Las células troncales adultas son escasas dentro de los tejidos que las albergan siendo ésta una de las razones que hacen difícil su identificación, aislamiento y purificación. Por ejemplo, en la médula ósea una de cada diez mil células es troncal hematopoyética. En las crestas del intestino se piensa que la proporción de células troncales puede variar según el criterio de clasificación del 4 al 50%. La proporción de células troncales puede variar mucho de tejido a tejido, siendo probable que esta proporción varíe en función de la necesidad de reparación de las células especializadas del tejido *in vivo*.

No siendo irreversible el proceso de diferenciación, sino dependiente del ADN y del nicho, cabe pensar en dirigir, en condiciones de laboratorio, la reprogramación del desarrollo de las células, de forma similar a como ocurre en la naturaleza de manera espontánea. Es pues interesante identificar qué células del organismo no han alcanzado una total especialización, para poder ponerlas en condiciones de que adquieran la especialización requerida. Ahí está la base de la terapia celular mediante el empleo de células troncales, y en particular de células troncales adultas.

Por lo que respecta al cultivo de células troncales adultas en condiciones de laboratorio, resulta, hasta ahora, difícil mantenerlas en condiciones de proliferar en estado indiferenciado durante largos periodos de tiempo. No obstante existen ya excepciones, como las células precursoras mesenquimáticas de la médula ósea, que se pueden mantener en crecimiento durante más de ciento veinte generaciones. También se han presentado, en general, dificultades para dirigir su especialización hacia células funcionalmente útiles, aunque esta limitación también se puede aplicar a las células troncales embrionarias. Por eso uno de los grandes objetivos científicos del momento es conocer qué genes son los que mantienen el estado de troncalidad.

Para caracterizar las células troncales adultas resulta muy importante definir marcadores que puedan informar de su estado de diferenciación, ya que la observación de su morfología es probablemente un criterio insuficiente. Entre estos marcadores cabe destacar a las proteínas de superficie que actúan como receptores, ya que suelen aportar información acerca de la singularidad de

cada tipo de célula troncal. La combinación de reactivos específicos para dichos receptores, con los instrumentos de selección de poblaciones celulares, permite discriminar entre poblaciones de células y separar aquellas que responden a determinadas características. También se han utilizado marcadores genéticos que informan del carácter indiferenciado de las células y su inactivación cuando se produce la diferenciación o especialización.

De todo lo anterior se desprende que el manejo y estudio de las células troncales adultas se debe basar en: i) la confirmación de sus capacidades de multiplicación, estable y mantenida; ii) la capacidad de generar tipos celulares concretos, en presencia de los estímulos correspondientes, demostrada mediante su morfología y marcadores bioquímicos y genéticos; y iii) su capacidad para repoblar el tejido correspondiente en el animal de experimentación.

III.4.3. Localización y diferenciación de las células troncales adultas

Como se indicó anteriormente, se han identificado células troncales adultas en tejidos que se desarrollan a partir de las tres láminas germinales embrionarias (endodermo, mesodermo y ectodermo). Están dispersas por todo el organismo comportándose de forma diferente dependiendo del ambiente. Por ejemplo, las células hematopoyéticas se forman constantemente en la médula ósea, donde se diferencian a estados maduros de células sanguíneas para reemplazar las células de la sangre. Las de intestino están en estado estacionario y físicamente separadas de las células maduras que generan. En el intestino medio las células troncales están situadas en la zona mas baja de los anillos en una posición bastante precisa. Por el contrario, en algunos tejidos se conoce con bastante precisión su posición aunque no parece ser una posición única. Analicemos en profundidad algunos de los casos.

En el caso de las células neurales, originalmente se demostró la presencia de células troncales en el hipocampo y el bulbo olfatorio del cerebro de rata adulta. Se ha demostrado que pueden generar astrocitos, oligodendrocitos y neuronas,

así como se han observado también en cerebro adulto de otros mamíferos. En espacios ventriculares y subventriculares, espacios cerebrales que contienen líquido cefalorraquídeo, se localizan grupos de células troncales, en concreto en zonas endotelial y subendotelial. Durante el desarrollo fetal las células de la cresta neural emigran de los sitios de la cresta al tiempo que ésta se cierra. Otro grupo de células troncales del sistema nervioso está en la línea que conecta el ventrículo lateral y el bulbo olfatorio. En roedores, las neuronas del bulbo olfatorio se regeneran de esta manera. Las células migran a una gran variedad de tejidos sin que algunos sean parte del sistema nervioso central. Esto sugiere una vez más la plasticidad *in vivo* de precursores neurales. Por estas razones las células troncales de la cresta neural están adquiriendo tanta importancia. Estas células pueden dar lugar a una gran variedad de tejidos de varias capas embrionarias y se renuevan con frecuencia. Otra de las localizaciones de las células troncales en cerebros de ratón y humanos adultos se concreta en una zona del hipocampo. Se acepta actualmente que las células endoteliales del sistema nervioso central pueden considerarse como troncales y que proliferan de forma asimétrica. Además, se pueden activar a dividirse mediante el empleo *in vitro* de mitógenos o la inducción *in vivo* de un daño dando lugar a astrocitos pero no a neuronas.

En la médula ósea se encuentran células troncales hematopoyéticas, responsables de la formación de todos los tipos de células sanguíneas, así como las células del estroma, un conjunto de células que generan *in vivo* hueso, cartílago, tejido conectivo y la red reticular que soporta la formación de células sanguíneas. El tercer grupo importante de células de la médula ósea lo constituyen las células mesenquimales que también dan lugar a diversos tejidos. A pesar de la muy conocida capacidad de las células hematopoyéticas de la médula ósea, de regenerar los elementos celulares de la sangre y del sistema inmunitario, los trabajos realizados para inducir la proliferación *in vitro* de las mismas no han tenido mucho éxito. Proliferan fácilmente *in vivo* pero *in vitro*, normalmente, adquieren un estado especializado de forma espontánea o mueren. Por ello, gran parte de la investigación sobre estas células se ha dirigido al conocimiento de los factores, interacciones célula-célula y célula-matriz que controlan su proliferación y diferenciación *in vivo*. Entre los factores

solubles que regulan la diferenciación *in vivo* se pueden citar ciertas citoquinas así como determinadas moléculas de adhesión de la matriz extracelular del estroma de la médula. El interés de estos estudios es poder reproducir las mismas condiciones *in vitro* para multiplicar las células hematopoyéticas sin que se especialicen de forma irreversible, antes de un trasplante.

Se ha de mencionar que existe una reserva significativa de células troncales, equivalentes a las de la médula ósea, en la sangre del cordón umbilical del neonato. Su abundancia es mayor que en la sangre del adulto y son más fáciles de obtener, expandir y almacenar. Se han empleado con fines terapéuticos en tratamientos oncológicos.

También las células del estroma, parecidas a las del angioblasto, que origina los vasos, se forman durante el desarrollo, a partir del mesodermo embrionario. Se piensa que existen durante el desarrollo embrionario unas células progenitoras comunes para las células troncales hematopoyéticas y los precursores mesodérmicos y las células del estroma de la médula ósea. Las células endoteliales forman el interior de la superficie de los vasos sanguíneos de todo el cuerpo. Durante el desarrollo embrionario, inmediatamente después de la gastrulación, un tipo de célula llamada hemangioblasto que deriva del mesodermo, parece ser la precursora de los linajes hematopoyéticos y endoteliales. La existencia del hemangioblasto se ha puesto de manifiesto por estudios que demuestran que células troncales embrionarias de ratón se pueden dirigir a diferenciarse *in vitro* formando vasos.

Recientemente se ha puesto de manifiesto la existencia de unas células llamadas mesoangioblastos que derivan de la progenie clonal de una sola célula de la aorta dorsal de un embrión de ratón, o también de vasos pequeños juveniles después de su expansión. Estas células expresan unas proteínas concretas en fases tempranas y tardías y permanecen pluripotentes en cultivo cuando se trasplantan a un embrión de pollo. Cuando se transfieren mesoangioblastos de tipo silvestre a la arteria de un ratón mutante que padece un daño distrófico morfológico y funcional se consigue reparar la lesión sin que se produzca un rechazo inmunológico contra las fibras reconstituidas. Además,

se han obtenido mesoangioblastos aislados de vasos pequeños de un ratón juvenil mutante a los que por técnicas de ingeniería genética se les ha añadido *in vitro* la copia silvestre del gen mutado. Estos mesoangioblastos “reparados molecularmente” reconstituyen músculo cuando se inyectan en la arteria femoral de ratones mutados. La suma de estos resultados representan los primeros intentos, con éxito, de tratamiento experimental de una miopatía con una nueva clase de células antólogas.

Otro grupo de células, que está adquiriendo cada vez más protagonismo por su plasticidad *in vitro*, son las células mesenquimales que están presentes en diversos tejidos humanos durante el desarrollo y prevalecen en la médula ósea del adulto. Las células mesenquimales no sólo pueden dar lugar a varios linajes celulares que conducen *in vitro* a la generación de células diferenciadas típicas de mesodermo visceral, neuroectodermo y endodermo. La demostración de la plasticidad de las células progenitoras mesenquimales se ha basado en su multiplicación estable en cultivo y su incorporación funcional a la estructura del blastocisto. Se ha comprobado que estas células contribuyen a la formación de la mayor parte si no de todos los tipos celulares somáticos. Cuando se trasplantan a un organismo no irradiado se observa que las células se insertan y diferencian a células de linaje hematopoyético, a epitelio del hígado, pulmón e intestino. La inserción aumenta cuando las células se insertan en un organismo que ha sido sometido a una irradiación mínima.

En la actualidad se discute si las células mesenquimales y las células del estroma son equivalentes y si proceden de un común progenitor endotelial que forma los vasos embrionarios. No parece existir duda de que las células del estroma son diferentes de las células hematopoyéticas troncales. Es interesante destacar igualmente que las células del estroma se pueden separar con relativa facilidad de las células hematopoyéticas troncales, aunque hasta el momento no se ha obtenido una población pura de aquellas células a pesar de que existen marcadores específicos. Este punto es de extraordinaria importancia si se quiere obtener colonias puras de células diferenciadas *in vitro*. Se ha comprobado, además, que tales células pueden dar lugar a osteoblastos, condrocitos, mioblastos, adipocitos y progenitores tempranos de células neurales. Es necesario estandarizar los cultivos de las células del

estroma cuando se quiere obtener la diferenciación puesto que los cultivos de esas células, a medida que se expanden pierden la capacidad de proliferar y su capacidad para generar adipocitos y condrocitos.

Se ha descrito que células derivadas de músculo esquelético de ratones adultos pueden tener capacidad de diferenciación hematopoyética. No se conoce con precisión el origen de las células hematopoyéticas derivadas del músculo pero puede ser que sean idénticas a las células musculares satélite, a las que les falta los reguladores miogénicos y que pueden por tanto responder a señales hematopoyéticas. Igualmente, las células troncales de la médula ósea pueden contribuir a reparar el músculo cardíaco y a una neovascularización después de un daño isquémico. Tras el trasplante, las células de la médula ósea se encuentran formando cardiomicitos en la zona isquémica y son funcionales. Este dato manifiesta una vez más la versatilidad de las células del músculo y de la médula cuando se encuentran en el medio o nicho apropiado.

El músculo esquelético es bien conocido por su capacidad de autorrenovación. Existen pruebas de que el músculo dañado puede regenerarse y adquirir su estado original y que las fibras musculares pueden aumentar su número. Estas respuestas se deben a las células satélites que residen en el músculo. Curiosamente, los daños pueden estimular a los satélites a entrar en estado de troncalidad, proliferar y así reparar las fibras. Es probable que el factor llamado IGF-1, cuya producción se estimula con el daño, esté involucrado *in situ* en este proceso. Este tipo de terapia celular podría ser utilizada para regenerar tejido muscular aunque, sin embargo, la administración de IGF-1 *in vivo* de forma sistémica no sería útil para movilizar las células satélites pues podría originar neoplasia y cáncer. No hay que olvidar que este factor regula la proliferación y crecimiento de muchos otros tipos de tejidos.

Seis de cada diez células diferenciadas en el cuerpo son células epiteliales. Son las responsables de cubrir las superficies externas e internas incluyendo los vasos y otras cavidades. Las células de la piel y el tracto digestivo están en constante regeneración. Otras células epiteliales de los conductos del hígado y

el páncreas se recambian más lentamente. Las poblaciones celulares que renuevan el epitelio del intestino delgado aparecen en las criptas intestinales, profundas invaginaciones en el recubrimiento del intestino. Las criptas están embebidas en el tejido conectivo y cada una de ellas contiene alrededor de doscientas cincuenta células dependiendo de la especie y de su localización anatómica. En una cripta con múltiples células troncales, una cuestión interesante es saber si cada célula troncal produce un solo tipo celular, o si cada una es totalmente pluripotente, capaz de producir todos los tipos de células del epitelio intestinal. Una única célula troncal es realmente capaz de producir más de un linaje, tal y como se ha observado en situaciones regenerativas en las que una célula clonogénica restablece el repertorio de las células de la cripta. Lo más probable es que durante el periodo embrionario el hemangioblasto que deriva del mesodermo sea el progenitor de las células hematopoyéticas troncales y del epitelio.

La piel de los mamíferos contiene por lo menos tres tipos de células epiteliales: células epidérmicas, células del folículo piloso, y células del epitelio glandular. Los patrones de sustitución difieren en los tres compartimentos y en todos ellos se han definido células troncales. Por ejemplo, las células troncales del folículo del pelo dan lugar a múltiples tipos celulares que migran a la base del folículo donde se convierten en células matriz, las cuales pueden dar lugar a siete tipos celulares diferentes en el folículo piloso. Otra población de células troncales en la piel aparece en la capa basal de la epidermis. Estas células troncales proliferan en la región basal y luego se diferencian mientras se mueven hacia las capas más externas de la superficie de la piel. Las células troncales de la piel pueden dividirse asimétricamente para producir dos tipos de células hijas, una de las cuales es otra célula troncal con capacidad de autorrenovarse. El segundo tipo es una célula precursora intermedia que está comprometida a replicarse antes de diferenciarse en queratinocitos. El primer tipo de célula se puede distinguir del segundo por la elevada expresión de una molécula que induce a que los queratinocitos proliferen. Otra vía de inducción incluye otra molécula diferente que ayuda a que se pueda mantener en las células el estado troncal.

La existencia de células troncales en el hígado y páncreas no está tan definida como en los casos anteriores. Ambos tejidos derivan del endodermo embrionario. En los mamíferos adultos tanto el páncreas como el hígado contienen múltiples tipos de células diferenciadas que puede ser repobladas o regeneradas por múltiples tipos de células troncales. En el páncreas, las células endocrinas se encuentran en los islotes de Langerhans. Éstas incluyen las células beta que producen insulina, las células alfa que secretan glucagón, y las células que liberan las hormonas peptídicas somatostatina y polipéptidos pancreáticos. Las células troncales en el páncreas se encuentran en varias localizaciones. Estudios diversos indican que las células troncales que expresan una molécula llamada nestina pueden generar, en los islotes, todos los tipos celulares. La identidad de las células troncales que pueden repoblar el hígado de mamíferos adultos no está del todo claro. Estudios recientes en roedores señalan que las células HSC pueden ser capaces de revertir un hígado después de que ha sido dañado y demuestran plasticidad convirtiéndose en hepatocitos.

Un sistema todavía no explorado de forma satisfactoria es la transformación de células troncales somáticas o embrionarias de animales modelo para su trasplante a otros organismos. En este sentido, se ha demostrado que se pueden obtener células dopaminérgicas de la zona ventral del mesencéfalo de fetos clonados bovinos de cincuenta días y que se pueden trasplantar a ratas inmunosuprimidas que padecen la enfermedad de Parkinson, consiguiendo una mejoría en los síntomas fisiológicos de la dolencia experimentada por estos animales.

Así pues, se puede afirmar que el desarrollo embrionario genera sistemas de células progenitoras a partir de las cuales se diferencian los distintos tejidos, y que esas células progenitoras (o células troncales) existen en el organismo adulto. El problema mayor por el momento es identificarlas y expandirlas de manera que generen poblaciones de células homogéneas *in vitro*. Entre los factores más importantes que habrá que determinar, antes de que la diferenciación *in vitro* de células troncales pueda llevarse a la práctica clínica, se deben mencionar los marcadores específicos de diferenciación. Estos marcadores permitirán comprobar si la población de células generadas

es uniforme. En el caso de que la diferenciación no sea homogénea se deberá plantear la selección de las células adecuadas. Otra forma alternativa de propagar de forma homogénea las células troncales sería su inserción en el tejido con objeto de lograr su expansión homogénea promovida por el nicho o su movilización *in vivo* a los lugares que se requiera.

Entre los inconvenientes generados por el empleo de estas células cabe destacar que su obtención presenta dificultades por la escasez y también que la demostración de que su plasticidad es clonal, es muy escasa. No existe evidencia absoluta y repetida de que las células troncales adultas sean tan plásticas como para generar células maduras totalmente funcionales, y que estas células restauren las funciones del tejido donde se insertan *in vivo*. Sin embargo, existen evidencias indirectas de que este hecho ocurre. Además, y de forma similar a la problemática anteriormente indicada en el caso de las células troncales embrionarias, también las células troncales adultas pueden generar una proliferación descontrolada. Aunque su potencial de multiplicación y diferenciación es más limitado que las células troncales embrionarias, en las células troncales adultas la posibilidad de generación de tumores de forma espontánea es más reducida, aunque si están en verdadero estado de troncalidad, necesario para que se puedan considerar células troncales, el control de su división y proliferación puede descontrolarse si no se cultivan, o implantan, en condiciones apropiadas.

III.5. El futuro de la investigación sobre células troncales

Como se indicó al comienzo de este informe, la investigación sobre células troncales constituye una temática de investigación de enorme actualidad y relevancia en el campo de la biomedicina, ya que del conocimiento fundamental que debe proporcionar pueden derivarse aplicaciones importantes. Los fundamentos y objetivos de estos estudios se centran en conocer el control de la multiplicación y la diferenciación en los mamíferos, cuyo organismo se genera por multiplicaciones sucesivas de una célula única, de la que surge una

progenie celular con una gran variedad de especializaciones fenotípicas, constitutivas de sus diferentes órganos y tejidos. Sólo del conocimiento de la multiplicación y diferenciación de las células de los mamíferos, puede surgir la posibilidad de intervenir en estos procesos a través del cultivo celular, en condiciones de laboratorio, que permitan controlar la generación de los tipos celulares más diversos.

Con relación a la investigación sobre células troncales y su potencial aplicación a la terapia celular quedan todavía muchas preguntas por contestar. A continuación se enumeran algunas de ellas que afectan en unos casos a las células troncales embrionarias, en otros a las adultas, o a ambas. ¿Es cierto que todas las células de la masa interna del blastocisto tienen la misma capacidad para generar un tipo determinado de células troncales y no están polarizadas ya en origen? ¿Cuáles son las señalizaciones que las convierten en células troncales estables? ¿Tienen todas las células troncales de un cultivo la misma capacidad? ¿Cuáles son las señales, *in vivo* e *in vitro*, que inducen proliferación y diferenciación de las células troncales? ¿Existe una célula troncal embrionaria universal? ¿Existe algún tipo de célula troncal adulta general, con capacidad de diferenciación a células de las tres capas germinales? ¿Cómo se generan las células troncales adultas? ¿Qué es lo que determina su estado indiferenciado en un tejido determinado y por qué? ¿Cuál es su grado de plasticidad *in vivo*? ¿Se pueden mantener y multiplicar *in vitro* una vez diferenciadas? ¿Cuáles son los marcadores más apropiados para definir cada tipo de célula troncal adulta y qué señales mantienen su estado de troncalidad?

En la respuesta a estas preguntas pueden estar las bases de una medicina reparativa o regenerativa que conduzca a la corrección de alteraciones en tejidos y órganos, originadas por procesos patológicos de la más diversa índole. Por ello se hace necesario seguir las investigaciones. Pero para ello habrá que considerar que la investigación sobre células troncales constituye un todo unitario en el que las preguntas fundamentales sobre el control de la multiplicación y diferenciación, se pueden materializar en numerosos fenómenos concretos que han de ser objeto de análisis. Muchos de los

avances que se registren descansarán sobre el empleo de modelos de experimentación animal, entre los que destaca el ratón. Una buena parte de la experimentación sólo cabe hacerla en modelos animales, por lo que éstos han de seguir siendo objeto de atención en aras de la generación de nuevo conocimiento. Cabe destacar los modelos que pueden desarrollarse en primates que, en algunos casos, podrían suponer la alternativa más adecuada a la experimentación humana.

En cuanto a la posible aplicación terapéutica de las células troncales es necesario indicar que estamos en una etapa de investigación, no de aplicación de tratamientos consolidados, y que cualquier prueba próxima o futura, sobre aplicación terapéutica de células troncales a personas deberá realizarse con arreglo a la práctica consolidada para los ensayos clínicos. Además, es necesario recordar que no es ni ética ni científicamente aceptable despertar falsas expectativas en la población acerca de unas investigaciones que están sólo en fase de investigación preliminar y que no puedan llevarse a cabo de forma inmediata. Cuando su aplicación clínica se vislumbre como posible, como se ha indicado anteriormente, habrá que sopesar la problemática relacionada con la propia naturaleza de las células troncales, sobre todo en lo referente a su capacidad de multiplicación y diferenciación y el posible rechazo inmunológico. Todos estos hechos deberán ser analizados con detenimiento, en especial en el caso de las células troncales embrionarias.

Por todo lo expuesto anteriormente es evidente que con el conocimiento actual se considera de gran interés la investigación, tanto sobre células adultas como embrionarias. Existen diversas opiniones que se inclinan por uno u otro tipo de células al considerar que ofrecen mejores perspectivas. Ahora bien, es opinión mayoritaria de la comunidad científica que todavía nos queda mucho por conocer para tomar, si fuese preciso, postura por una de ellas. En resumen, la síntesis de los conocimientos que se esperan obtener de la investigación con células troncales de ambos tipos, podría permitir, en un futuro, llevar a cabo una eficaz reprogramación y movilización del potencial regenerativo de algunas células del organismo. Estas investigaciones indicarán si es necesario optar por una de estas estrategias o si cada una de ellas tiene características

particulares a la hora de ser aplicadas a la clínica. Sólo la investigación bien planteada puede dar la respuesta.

Todas estas reflexiones se recogen resumidas en las recomendaciones que aparecen al comienzo de este informe.

IV. ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN SOBRE CÉLULAS TRONCALES

Como se deduce de la lectura del apartado anterior, en la actualidad puede decirse que existe un amplio consenso entre los científicos acerca del potencial interés terapéutico de las células troncales humanas y en considerar, por tanto, que las investigaciones con este tipo de células son prometedoras, en virtud de su posible utilización terapéutica. Obviamente, desde un punto de vista ético toda expectativa de curación de enfermedades graves en seres humanos es una razón poderosa para promocionar el tipo de investigaciones que vayan en este camino, porque al fin y al cabo la felicidad de los seres humanos dentro de un marco de justicia es la meta de la reflexión ética.

Sin embargo, y precisamente por eso, es necesario analizar detenidamente los problemas morales que puedan derivarse de este tipo de intervenciones y adoptar una actitud de cautela para evitar que algunas actuaciones no respeten alguna realidad que merezca respeto, como también para evitar que el imperativo económico sea el que en realidad acabe tomando las decisiones. Como diversas organizaciones y comisiones han manifestado sobre este punto, el respeto a lo valioso y el posible alivio del sufrimiento humano son las dos grandes razones que pueden esgrimirse desde un punto de vista ético para potenciar las investigaciones, razones que no pueden subordinarse al imperativo comercial.

Para abordar tales cuestiones, en el caso de la investigación sobre células troncales humanas, parece conveniente estructurar este informe ético en dos partes que, aunque dentro del ámbito de la ética, pertenecen a dos niveles distintos de reflexión.

La primera parte se refiere al tipo de ética desde el que debe evaluarse moralmente la corrección de las investigaciones en una sociedad pluralista, que ha accedido al nivel posconvencional en el desarrollo de la conciencia moral social, como es el caso de España y el de las sociedades que comparten con

ella el legado de la cultura occidental. En la segunda se trata de evaluar concretamente las investigaciones sobre células troncales humanas desde el punto de vista de los principios y valores éticos a los que haya sido posible acceder al considerar el núcleo de la ética cívica de las sociedades pluralistas.

IV.1. La ética del Comité de ética

El primer problema que se plantea en una sociedad moralmente pluralista es el de esclarecer desde qué tipo de ética se puede evaluar aquellas intervenciones que afectan a la sociedad en su conjunto, más aún si, como es el caso de las células troncales, afectan a la humanidad presente y futura en su conjunto.

Ciertamente, en todas las sociedades hay diversidad de intereses políticos, económicos y personales, pero en las sociedades "moralmente monistas" las evaluaciones morales se hacen desde la moral oficialmente admitida, consultando a los representantes oportunos. Sin embargo, en el caso de las sociedades moralmente pluralistas la evaluación no puede hacerse desde una sola concepción moral, ni existen tampoco los "representantes oportunos".

En este sentido, si las investigaciones sobre células troncales representan una novedad en el panorama científico, que requiere una reflexión rigurosa para acceder a orientaciones y recomendaciones éticas en relación con tales investigaciones, también es una novedad el reconocimiento explícito de que vivimos en sociedades moralmente pluralistas. Es decir, en sociedades que no dan por bueno ni el "monismo moral" que se corresponde con la existencia de un código moral único aceptado por toda la sociedad, ni el "politeísmo moral" que implica la existencia de códigos tan diferentes que no existe entre ellos principios y valores comunes que permitan a los miembros de la sociedad construirla juntos, ni tampoco el "subjetivismo moral", es decir, la convicción de que las cuestiones morales son subjetivas y que no es posible en ellas descubrir acuerdos intersubjetivos.

Precisamente porque las sociedades moralmente pluralistas son conscientes de que es posible descubrir acuerdos intersubjetivos en la diversidad de códigos que se respetan mutuamente, resulta necesario nombrar comités de ética para que traten de descubrir tales acuerdos, de los que extraer orientaciones éticas para los nuevos problemas. La tarea de los comités no consiste en evaluar los problemas desde las posiciones subjetivas de sus miembros, porque una suma de subjetividades no da intersubjetividad, ni tampoco a través de la posición que resulte de una votación sin diálogo. De lo que se trata justamente es de intentar desentrañar cuáles son los principios y valores de la ética cívica de esa sociedad, que está situada en el nivel posconvencional en el desarrollo de la conciencia moral, y cómo es posible evaluar desde ellos el asunto concreto.

Evidentemente, interpretar cuáles son las exigencias de esa ética cívica para el tema concreto no puede hacerse sin contar con la concepción personal, por eso importa entrar en un proceso de diálogo, en el que se trata de descubrir las convicciones comunes, y en el que no deberían entrar en juego los intereses políticos, económicos ni tampoco personales.

Las cuestiones morales de justicia no son subjetivas, una mayoría de subjetividades no compone intersubjetividad. Tampoco son objetivas, en el sentido en que pueden serlo las proposiciones científicas que, aún siendo interpretaciones de hechos que ya incluyen valores, pretenden referirse a estados de cosas. Las cuestiones morales de justicia pretenden formalmente intersubjetividad. De ahí que un Comité Asesor del Gobierno de la nación deba esforzarse por encontrar esos mínimos que ya se comparten y sacarlos a la luz, ampliando al máximo los acuerdos de fondo, para lo cual es indispensable entablar un amplio debate, convenientemente nutrido de una sólida información.

Para valorar éticamente una determinada práctica, una comisión de bioética debería seguir al menos los siguientes pasos: i) describir en profundidad los distintos aspectos de la práctica desde el punto de vista científico, como se ha hecho en este informe; ii) tratar de sacar a la luz y formular los valores éticos que ya comparten los distintos grupos sociales con respecto a ella; iii) desvelar los principios éticos que orientan tales valores; iv) indagar en la orientación de las

actuaciones concretas hasta dónde es ya real el acuerdo y dónde empiezan las desavenencias; v) abrir un amplio debate sobre los puntos sobre los que existe desacuerdo; vi) intentar llegar al menos al punto en que todas las posiciones parecen moralmente respetables; y vii) ofrecer recomendaciones para la actuación concreta desde la posición mayoritaria, pero dejando obviamente constancia de las discrepancias.

Evidentemente, puede discutirse si las discrepancias en estos casos deben ser de intereses o de convicciones, pero parece que en las cuestiones éticas no se trata de sopesar los intereses económicos, los políticos y los personales o grupales, sino de expresar las convicciones acerca de cuáles tienen prioridad en el asunto concreto, y tratar de descubrir los puntos de acuerdo.

A través de este paulatino descubrimiento de valores y principios éticos compartidos desde los que enjuiciar qué tipo de prácticas son humanizadoras y cuáles no, una bioética cívica, cada vez más densa, permite ir sacando a la luz, frente al relativismo y al subjetivismo, una intersubjetividad ética ya existente, que se va revelando paulatinamente como transnacional.

Ciertamente, no es fácil determinar cuál es el núcleo de una ética cívica moderna como la que conforma la conciencia social moral de nuestro país y los de su entorno ético. Las disputas entre teorías éticas rivales son tan habituales como las que existen entre las morales de la vida cotidiana. A pesar de eso, una reflexión sobre la cultura social y política de estos países parece mostrar que el núcleo de su ética cívica, fundamento de los derechos humanos, viene recogido en la afirmación kantiana de que el ser personal es un fin en sí mismo, que no puede ser tratado como un simple medio, que posee un valor absoluto y, por lo tanto, dignidad. La relación de derechos humanos que han ido descubriéndose históricamente tiene su fundamento en este reconocimiento de la dignidad personal.

Desplegar el contenido de esta afirmación de la persona como fin en sí misma conduce al reconocimiento de que el ser personal es, en primer lugar, un fin limitativo de las actuaciones e intervenciones, es decir, que no debe ser

instrumentalizado y que sólo puede ser tratado como medio con su consentimiento. Pero, en un segundo lugar, no menos importante que el primero, la afirmación de la persona como fin en sí misma lleva a reconocer que la persona es fin positivo de las actuaciones e intervenciones humanas. De este supuesto se sigue que es preciso actuar para evitarle sufrimiento y para reforzar sus capacidades, de forma que ciencia, técnica y economía deben estar a su servicio.

Este sería sustancialmente el doble contenido de la afirmación de la dignidad. Lo que sucede es que en ocasiones puede parecer que estos dos lados éticos de la dignidad entran en conflicto y que es necesario priorizar uno de ellos. Este podría ser el caso de la investigación con células embrionarias, dado que se obtienen de embriones humanos. Ciertamente, en este caso parecen entrar en conflicto la exigencia de no instrumentalizar a los embriones y la de sí beneficiar a las personas que en el futuro pudieran verse libres de enfermedad grave. Este es uno de los problemas morales que importa resolver, si bien es cierto que dentro de un marco en el que es preciso tener en cuenta también otros elementos, como sería que los embriones fueran embriones sobrantes de la aplicación de técnicas de reproducción humana asistida y que su alternativa fuera la destrucción, si no pueden ser implantados. Ciertamente, las afirmaciones de dignidad y merecido respeto son éticas, y no biológicas ni ontológicas, y no pueden inferirse de datos biológicos.

Desde la perspectiva que venimos comentando, es posible detectar un conjunto de valores éticos y actitudes que todas las "éticas de máximos" de las sociedades occidentales comparten en relación con la posible investigación con células troncales embrionarias. Estas son las que pueden plantear problemas éticos específicos, mientras que la investigación con células troncales adultas plantearía problemas similares a los de otros tipos de investigación.

Tales valores éticos y actitudes compartidos, de suma relevancia, son los siguientes: i) el respeto a la vida humana desde la etapa de embrión, en el sentido de que la vida humana desde la etapa de embrión merece un especial respeto, que no merecen otros organismos vivos; ii) el valor intrínseco de intentar aliviar el

sufrimiento humano por medio de investigaciones que vayan dirigidas en ese sentido; iii) el valor de la libertad de investigación, siempre que no atente contra derechos humanos, es decir, siempre que exista conciencia de que el poder técnico no coincide con el poder ético; y iv) el valor de la libertad y, por tanto, su defensa, en este caso, la libertad de las parejas afectadas y, por tanto, la necesidad de pedir su consentimiento, tras una información suficiente.

Conviene recordar, antes de pasar más adelante, que en los textos e informes de bioética, elaborados por comités y comisiones, se puede apreciar un doble modo de enfocar los problemas morales, que en realidad ya se encuentra superado en las grandes teorías éticas: por una parte, el enfoque al que ha solido denominarse "deontologista", que intenta evaluar las cuestiones morales desde la perspectiva de los derechos de las personas o de los seres involucrados en la intervención, y, por otra parte, el enfoque al que se puede llamar "consecuencialista", que intenta evaluar las cuestiones morales desde la perspectiva de las consecuencias beneficiosas de la intervención para distintos grupos de personas. Sin embargo, en las teorías éticas más relevantes de nuestro momento, se entiende que esta manera de enfocar las cuestiones morales es confundente. En realidad, ninguna evaluación ética puede dejar de tener en cuenta los derechos de los seres humanos involucrados en el asunto, y ninguna puede dejar de ponderar las consecuencias beneficiosas de determinadas intervenciones para grupos humanos. Una excepción a esta convicción extendida entre las teorías éticas de que es necesario tener en cuenta las dos perspectivas, sin hacer dejación de ninguna de ellas, serían las versiones del utilitarismo que no incluyan la defensa de los derechos entre los parámetros de utilidad.

Ahora bien, en el caso de que alguno de los derechos se mostrara como "carta de triunfo", ante la que debe relegarse cualquier otra consideración, lo beneficioso de las consecuencias sería irrelevante. La cuestión entonces es si en la investigación con células troncales nos las habemos con algún derecho absoluto, con alguno que pueda tomarse como "carta de triunfo", o si, por el contrario, es preciso ponderar entre derechos y valores conmensurables.

IV.2. Reflexiones acerca de la investigación sobre células troncales adultas

La evaluación moral de las investigaciones con células troncales requiere considerar por separado la evaluación de la investigación con células troncales adultas y la evaluación de la investigación con células troncales embrionarias, dado que, en virtud de sus peculiaridades, plantean problemas morales diferentes.

La investigación sobre células troncales adultas, dado su origen, no parece plantear problemas que afecten a derechos que puedan considerarse absolutos desde alguna perspectiva. Por el momento, parece que los mayores problemas serían económicos y técnicos, que naturalmente tienen que ser evaluados porque pueden plantear cuestiones de justicia, pero de igual modo que sucede en cualquier otro tipo de investigaciones. Por otra parte, aunque en un principio pareció que el potencial de las células troncales embrionarias era más prometedor que el de las células troncales adultas, en el estado actual de las investigaciones es difícil ponerlas en competencia, dado que ambas tienen características específicas. Así pues, importa potenciar las investigaciones sobre células troncales adultas, porque en el futuro podría mostrarse que su utilización es más fecunda de lo que en el momento actual cabe pensar. En este sentido, estimular el estudio de células troncales procedentes de órganos adultos es una de las recomendaciones que se desprende de este informe.

IV.3. Reflexiones acerca de la investigación sobre células troncales embrionarias

La investigación con células troncales embrionarias sí ha suscitado un gran debate, ya que se presentan objeciones a investigar con ellas por razones morales que se refieren a su origen. En efecto, como se indicó anteriormente, las células troncales embrionarias pueden obtenerse, entre otros, de la masa celular interna de embriones sobrantes de programas de fecundación *in vitro*, o bien de

la masa celular interna de embriones somáticos obtenidos por técnicas de clonación.

Desde esta perspectiva, se plantean fundamentalmente tres situaciones a la hora de obtener este tipo de células: o bien los embriones se producen *ex profeso* mediante técnicas de fecundación *in vitro* precisamente para investigación, o se trata de embriones sobrantes de programas de fecundación *in vitro*, o los embriones proceden de abortos, sea espontáneos o provocados. En todos los casos se trata de utilizar las células de la masa celular interna del blastocisto para tratar de establecer los cultivos de las células troncales de las que se podrán obtener las células diferenciadas mediante señalizaciones bioquímicas. Esta obtención de las células troncales de la masa interna lleva consigo la imposibilidad de que el embrión, como unidad biológica, progrese en su desarrollo embrionario. Así tal acción equivaldría a la interrupción de su proceso natural.

En el juicio ético de estas situaciones, el punto de partida está condicionado por distintos factores. Uno de ellos es sin duda la valoración que se tenga del estatuto del embrión durante los catorce primeros días de desarrollo, cuando todavía no tiene fijadas las propiedades de unicidad, ser único e irrepetible, y de unidad, ser uno solo, que determinan su individualidad. Sin embargo, veremos que no es el único factor que es preciso tener en cuenta, sino también el hecho de que sea un embrión sobrante de técnicas de fertilización *in vitro*, cuya alternativa es la destrucción por no poder ser implantado, o bien proceda de un aborto espontáneo, o se cree *ex profeso* para investigación. Junto a estos factores es preciso considerar también la posibilidad de que la derivación de células troncales a partir de ellos y la investigación sobre ellas tenga en el futuro un uso terapéutico.

En lo que se refiere, en concreto, al tipo de respeto y a la protección legal que merece el embrión temprano pueden distinguirse al menos tres tendencias en el contexto actual de la bioética. Desde la perspectiva de la primera tendencia, un embrión *in vitro* debe protegerse como persona desde que el óvulo ha sido fecundado como ser humano porque desde ese momento debe ser tenido como

realidad personal. Desde esta perspectiva, la investigación con embriones está prohibida y, por consiguiente, la derivación de células troncales a partir de ellos, aún en el caso de que la alternativa fuera la destrucción.

Desde la perspectiva de la segunda tendencia, el embrión humano merece siempre especial respeto. Pero, teniendo en cuenta que en su desarrollo pueden reconocerse etapas cualitativamente diferentes para su constitución como ser humano, el tipo de respeto que merece y, por consiguiente, el tipo de protección legal, depende de la fase y del contexto del desarrollo. Desde esta perspectiva, que la investigación sea o no aceptable y en qué condiciones puede hacerse éticamente depende del grado de respeto que se entiende que merece el embrión.

En lo que hace referencia a la tercera tendencia, se asume que el embrión humano es un conjunto de células humanas que no tienen un rango diferente al de otras células humanas desde el punto de vista de su valor y del respeto y protección que merecen. Desde esta perspectiva, hay pocas limitaciones al uso de embriones para derivar células troncales, si es que hay alguna.

Este es sin duda un punto en discusión, en el que entran razones científicas, ontológicas y éticas, que siguen siendo ampliamente debatidas, y sobre el que no existe acuerdo en las sociedades democráticas. En este informe intentamos recoger puntos centrales del debate, con la clara conciencia de que continúan en el centro de la discusión.

IV.4. El problema del estatuto del embrión humano

El problema del estatuto del embrión humano puede considerarse al menos desde una triple perspectiva: la ética, la biológica y la ontológica. Desde un punto de vista ético, la cuestión central consiste en aclarar desde cuándo puede empezar a hablarse de realidad personal, porque entonces se trata de un ser al que se reconoce dignidad. El predicado "digno" no es un predicado

descriptivo, sino evaluativo. Esto significa que en la descripción biológica u ontológica de un ser, de "lo que es", no puede entrar el predicado "digno", porque no es un predicado de ser, sino de valor. La cuestión entonces es que reconocemos el valor de dignidad a determinados seres, que presentan unas características tales que instrumentalizarlos es ir en contra de ellos. Por eso entendemos que son dignos de respeto y de empoderamiento. Ese respeto significa que esos seres tienen un valor prioritario con respecto a cualquier otro valor.

Esas características difieren según distintas tradiciones. Evidentemente, incluso en el caso de los seres humanos ya nacidos se presenta el problema de que algunos de ellos no dan muestras de poseer esas características, bien porque nunca parecen haberlas poseído, bien porque parecen haberlas perdido. En cualquier caso, se extiende el reconocimiento de la dignidad a todo ser que nace de personas.

En lo que hace a la vida de un ser humano antes de su nacimiento, las posiciones en cuanto a la valoración que se le reconoce y el respeto que se le debe difieren notablemente en la reflexión ética actual y en la conciencia social. Estas posiciones abarcan un amplio abanico que llega desde entender que no puede hablarse de persona hasta el nacimiento, o bien hasta la concepción, hasta que goza de suficiencia constitucional, hasta la anidación. Entender cuándo hay realidad personal sería entonces una cuestión biológica y ontológica.

Por lo que hace al proceso de desarrollo biológico, es importante distinguir tres aspectos. El primero de ellos es la continuidad, que imposibilita distinguir con exactitud entre el "antes" y el "después". En segundo lugar, la continuidad o gradualidad de los procesos biológicos que es compatible con la emergencia instantánea de propiedades nuevas, cualitativamente diferentes a las existentes en el momento anterior. Y, en tercer lugar, el todo biológico no es igual a la suma de las partes. El ciclo vital de un ser humano se inicia a partir del cigoto, formado por la fecundación de los gametos masculino y femenino. Según algunos autores, el proceso de individualización de la nueva vida humana, iniciado en la fecundación, está relacionado con las propiedades de unicidad y de

unidad. También con el aspecto de la mismidad o identidad genética, que es la capacidad genética del organismo de distinguir lo propio de lo extraño. Habría que añadir el aspecto embriológico del desarrollo embrionario en referencia al individuo nacido y el problema filosófico de la suficiencia constitucional desde el punto de vista ontológico.

La pregunta científica, la pregunta biológica, es cuándo la nueva vida humana está individualizada de forma que no pueda dar lugar a otra vida humana individualizada, es decir, posea las características de unicidad y unidad, porque su constitución sea ser intrínsecamente uno y único. Esta limitación de la capacidad de ser vario parece comenzar con la anidación. Aunque hay casos en que esto no es tan claro, pues no se puede descartar que después de la anidación se desprendan algunas células y éstas den lugar a otro individuo, por estar situadas en el nicho apropiado.

De esta reflexión sobre el estatuto biológico del embrión humano puede extraerse una consecuencia importante para el problema que nos importa en este informe, y es que, desde esta perspectiva puede decirse que ningún científico duda en responder que la vida humana empieza en el momento de la fecundación. Lo cual implica que tiene el valor que merece como vida humana y que merece, por lo tanto, un respeto. Por ello, cualquier investigación que requiera para llevarse a cabo embriones tempranos debería realizarse en condiciones rigurosas, que se resumen en: i) haber investigado anteriormente con células animales y no investigar sobre las humanas sino cuando los resultados no fueran directamente extrapolables; ii) tener la finalidad de la investigación un valor equiparable, como el alivio del sufrimiento humano; iii) someter los protocolos de investigación a la consideración de comités éticos y estar suficientemente regulados y autorizados; y iv) no tener por motor de las investigaciones el económico.

Ahora bien, si existe un amplio consenso científico en reconocer que la vida humana empieza con la fecundación, para responder a la cuestión de cuándo la vida humana es vida personal no basta el punto de vista biológico, sino que es preciso tener en cuenta consideraciones ontológicas. La cuestión de cuál sea el estatuto del embrión desde un punto de vista ontológico sigue siendo

ampliamente debatida, también en nuestro país. También aquí se perfilan distintas posturas, que podrían tal vez sintetizarse en dos. La primera perspectiva sería la que podríamos denominar "tradicional". Según este punto de vista, el ser humano personal se encuentra en el cigoto en potencia desde el momento de la fecundación. No es persona en acto, pero sí en potencia tendente al acto. Esta posición se entiende en el horizonte de la filosofía griega, que es el del cambio, y concretamente en el contexto aristotélico. Si los cambios que se producen en la naturaleza no consisten en actos de aniquilación y de creación, sino efectivamente de cambio, debe haber algo permanente a través de los cambios, algo subyacente que explique la conexión entre potencia y acto, de modo que en cada momento del proceso debe estar de algún modo prefigurado en potencia lo que después se convertirá en acto. Evidentemente qué estaba en potencia se entiende desde su actualización posterior. El ser en potencia tiende necesariamente a su *télos*, que es su actualización. En el óvulo fecundado ya está presente en potencia el individuo personal, en un proceso en el que es imposible marcar un momento del que se pueda decir que antes no estaba ya prefigurado. Si no hay una intervención o condicionamiento externos en sentido contrario, llega a término.

La segunda posición entiende, por su parte, que aunque desde el óvulo fecundado se pudiera hablar de continuidad, el proceso es constitutivo de la realidad personal misma, y a lo largo del proceso se distinguen etapas que suponen cualidades nuevas hasta adquirir la suficiencia constitucional, que no se tendría desde el origen, sino que se adquiriría en el tiempo. Según algunos autores, el embrión no tiene de forma intrínseca y autónoma todas las capacidades para transformarse en otra cosa diferente que tiene cualidades nuevas, porque las interacciones son esenciales. Es preciso distinguir entre el acto de crear de la nada y la emergencia de algo nuevo: el fenotipo total no es la suma de los procesos individuales, sino una realidad nueva. El proceso no es continuo, sino un proceso en continuidad, en el que en tiempos definidos se originan novedades. El individuo permanece el mismo en un continuo durante todo el proceso de desarrollo, pero experimenta cambios que colocan a la entidad "el mismo" en escalas de constitución diferente: no permanecerá siempre lo mismo.

Desde esta perspectiva, el embrión tiene el estatuto ontológico propio del ser humano cuando tiene suficiencia constitucional. La realidad es un campo estructurado o una estructura clausurada de elementos o notas. Cuando esa estructura es coherente alcanza la suficiencia constitucional y, por tanto, la sustantividad. A partir de entonces el feto tendrá personhood, será persona ontológicamente. También entonces acontece la mismidad constitucional. Desde esta posición el cigoto no contiene el todo valorativo del término, ya que no contiene el todo ni siquiera como posibilidad, por no ser potencia intrínseca y autónoma de llegar a ser el acto, la persona. Lo emergente en un proceso evolutivo no puede entenderse sin lo anterior.

IV. 5. Puntos de discrepancia en torno a la investigación con células troncales embrionarias

En el momento actual continúa el debate sobre dos puntos centrales. El primero de ellos es la investigación sobre embriones tempranos viables de menos de catorce días que resulta indispensable en nuestro caso para obtener células troncales embrionarias. El segundo se refiere a la creación de embriones, no con fines reproductivos, sino con fines de investigación.

En lo que se refiere a la utilización de embriones humanos para derivar células troncales, se presentan obviamente distintos argumentos a favor y en contra. Entre los argumentos en contra se puede espigar los siguientes. En primer lugar, quienes consideran que el embrión tiene el estatus de persona desde la concepción se pronuncian en contra de la investigación con embriones considerándola intrínsecamente inmoral. Desde esta perspectiva, no se puede admitir ningún procedimiento experimental que comporte la destrucción de embriones. El embrión tiene los mismos derechos que el niño ya nacido. Un segundo argumento consiste en afirmar que la utilización del embrión humano supone su instrumentalización y, por lo tanto, la vida humana se convierte en "commodity". En tercer lugar, se entiende que si está permitida la clonación de

tejidos, esto podría llevar a la clonación de humanos, puesto que las técnicas son las mismas. Habría que poner límites y controles claros de lo que está permitido. Sin una legislación clara no se podrá detener la clonación reproductiva. En cuarto lugar, si se permite la investigación con embriones sobrantes de fecundación *in vitro*, parece imposible detener la tendencia a provocar la existencia de embriones sobrantes. Por último, permitir la investigación abre un camino difícil de controlar, que es el de la investigación con seres humanos no nacidos, que podría ir en el futuro más allá de los catorce días.

Entre los argumentos a favor resultan destacables los siguientes. El primero de ellos, que sería central, consiste en afirmar que el embrión de menos de catorce días tiene vida humana, pero no personal, lo cual significa que tiene sin duda un especial valor y, por lo tanto, merece un especial respeto, pero en un conflicto con otros valores de rango elevado desde el punto de vista moral, puede ponderarse y compararse con ellos. Sería entonces moralmente aceptable utilizar embriones para propósitos que redunden previsiblemente en la mejor terapia de enfermedades graves, aliviando así el sufrimiento humano. Esta actitud se refuerza con el argumento de que muchos embriones tempranos se pierden de forma natural. Un segundo argumento, ligado al anterior en el caso de que se trate de embriones sobrantes de técnicas de fecundación *in vitro*, es el de que la alternativa de los embriones es la destrucción en todo caso, una vez hayan pasado los plazos prescritos y no puedan ser implantados. Parece más razonable en este caso utilizarlos de modo que produzcan un bien, ya que de todos modos van a ser destruidos. Tanto más cuanto que no se han producido con el fin de investigar, sino con el fin de la procreación, pero ha sido imposible implantarlos.

Por otra parte, grupos de pacientes con enfermedades graves afirman que no es ético privarles de la posibilidad de que se investigue sobre células troncales embrionarias, ya que con ello podría llegarse a aliviar su sufrimiento, y lo consideran un derecho. En este punto, sin embargo, existe una responsabilidad por parte de los medios de comunicación de no crear expectativas sin un rigurosísimo fundamento. Por último, se entiende que es preciso evitar la "pendiente resbaladiza", como en tanto otros casos, con responsabilidad, reflexión y control. Más vale que las investigaciones estén permitidas y

legalmente controladas que dar por buena una situación de descontrol en la actuación con los embriones sobrantes.

En lo que respecta a la creación de embriones *ex profeso* para derivar a partir de ellos células troncales, se presentan igualmente argumentos a favor y en contra. Entre los argumentos a favor se encontrarían los siguientes. En primer lugar, puede haber una provisión insuficiente de embriones para investigación con los sobrantes de fecundación *in vitro* y, por tanto, ser necesaria la creación de nuevos embriones con fines no reproductivos. Por otra parte, los embriones creados por transferencia de células nucleares somáticas pueden ofrecer el camino más prometedor para obtener tejidos autólogos para trasplante. Por último, si el embrión tiene un estatuto intermedio, no hay problema en crearlos, porque su valor moral no es mayor que el de los bienes que pueden proporcionar a seres personales.

Por su parte, los argumentos en contra tendrían una reflexión central en el que insistió el Comité, como es la de que crear una entidad valiosa para someterla a experimentación es reconocer su carácter de ser manipulable, de medio para otro fin, por muy digno que sea este fin. Es, en definitiva, privarle de un valor interno y darle sólo valor instrumental. El Convenio Europeo de Bioética en su artículo 18.2 prohíbe la creación de embriones para experimentación, y en este sentido se pronuncia también este Comité.

Desde estas reflexiones se extraen las recomendaciones que aparecen recogidas al principio de este informe.

V. ASPECTOS JURÍDICOS DE LA INVESTIGACIÓN CON CÉLULAS TRONCALES

Como se indica en el apartado III de este informe, los desarrollos científicos actuales están abriendo las puertas a la investigación con las llamadas células troncales humanas de diverso origen y a su posible utilización terapéutica posterior. Es cierto también que, como es habitual en la investigación biomédica, se está recurriendo al modelo animal, lo cual requiere un estudio jurídico específico que va más allá de los propósitos del presente informe.

Cada una de estas líneas de investigación y sus potencialidades terapéuticas presentan unas implicaciones jurídicas de relevancia diversa. Sin perjuicio de que los ensayos clínicos, es decir, la experimentación en humanos con las líneas celulares que se obtengan, plantean algunos problemas de particular interés, no cabe duda de que la cuestión de la experimentación con células troncales obtenidas a partir de embriones, cualquiera que sea el origen de éstos, está generando un intenso debate social que ha tenido también su reflejo en el ámbito del derecho.

Es indudable que cualquiera que sea la posición que se mantenga sobre los variados perfiles jurídicos que presenta esta discusión es inevitable y necesaria la puesta a disposición de una normativa específica sobre los múltiples aspectos relacionados con estas investigaciones. Por consiguiente, procede realizar un breve estudio de cuáles son los aspectos que ofrecen un mayor interés jurídico y por qué motivos, así como examinar cuál es el marco jurídico actual en España en relación con estas actividades. Con tal propósito, en este apartado se expondrá el régimen jurídico aplicable, o que podría serlo, a las actividades de obtención de las diferentes muestras indicadas más arriba, al proceso investigador en sí mismo y, finalmente, a la aplicación experimental de estas técnicas sobre humanos. Este examen pondrá de relieve al mismo tiempo si el marco actual del ordenamiento jurídico español es adecuado o en qué medida se han detectado desajustes, desfases o vacíos en esta normativa,

dados los aspectos tan novedosos que están vinculados con estas investigaciones.

V.1. Reflexiones sobre la obtención de células troncales de adultos

El interés por parte del derecho sobre las actividades de obtención de células troncales de adultos gira en torno a la prevención de riesgos significativos para la vida o la salud de la persona de la que provienen aquéllas. La extracción de muestras biológicas de adultos se considera inocua, tanto por lo que se refiere a la muestra extraída, siempre que no recaiga sobre partes vitales del organismo, como a las técnicas usuales empleadas para su obtención. Por consiguiente, raramente podrá afectar a la vida o a la integridad o a la salud de los afectados, por lo que sólo excepcionalmente podría incurrirse en alguna forma de responsabilidad penal o civil por imprudencia.

Otro punto de interés relacionado con la obtención de tejidos y células humanas y su utilización posterior con fines terapéuticos se refiere a garantizar la calidad y seguridad de los elementos biológicos obtenidos, para lo que la perfecta identificación de su origen constituye un requisito esencial. Es cierto que esta preocupación se acentúa cuando dichas sustancias se pretende destinarlas a terceras personas, en particular si aquéllas provienen de un cadáver humano. Por el momento esta inquietud es menor en relación con las células troncales, en la medida en que los protocolos sobre estas prácticas parten de la obtención de dichas células del propio paciente.

La obtención de estas células, a salvo de las de la sangre y hemoderivados, que tienen su regulación propia, está sometida al régimen jurídico relativo a la utilización de tejidos humanos; en concreto resulta aplicable el Real Decreto 411/1996, de 1 de marzo, por el que se regulan estas actividades. A los solos efectos de acreditar su aplicabilidad baste con recordar que dicho real decreto regula “todas las actividades relacionadas con la obtención y utilización clínica

de los tejidos de origen humano”, así como otras relacionadas instrumentalmente (artículo 1), y que contiene una definición de tejido humano tan amplia que no cabe duda de que se incluyen asimismo las células troncales: “Todas las partes constituyentes del cuerpo humano, incluyendo los residuos quirúrgicos y las células. También se incluyen los productos que incorporen tejidos o células de origen humano o deriven de ellos” (artículo 2, 1). El principal requisito para poder proceder a la extracción de células de donantes vivos recae sobre el consentimiento (artículo 7), además del cumplimiento de otras obligaciones relacionadas con la confidencialidad (artículo 3) y la gratuidad de estas donaciones (artículo 5). Los centros sanitarios de obtención de células y los de implantación deberán contar con la autorización previa del órgano competente de la correspondiente comunidad autónoma.

V.2. Reflexiones sobre la obtención de células troncales de cordones umbilicales, embriones y fetos abortados

La extensa noción reglamentaria de tejido humano expuesta abarca asimismo las células, incluidas las provenientes del cordón umbilical, de acuerdo con la Disposición Final Única, letra f del Real Decreto 411/1996, pero no la placenta, que es considerada como producto humano de desecho, por lo que el régimen normativo expuesto más arriba sería aplicable también a las células de este origen. En este caso el consentimiento deberá otorgarlo la madre.

Por otro lado, la protección de la vida, la integridad y el buen desarrollo de los embriones y fetos durante el curso del embarazo frente a intereses ajenos son los principales motivos que justifican la intervención del derecho cuando se pretende obtener y utilizar células u otros elementos que provengan de ellos. La vida humana en gestación está protegida constitucional y penalmente, y desde hace unos años lo está también la integridad y la salud del feto, por medio del delito de lesiones al feto (artículos 157 y siguiente del Código penal).

La Ley 42/1988, de 28 de diciembre, de donación y utilización de embriones y fetos humanos o de sus células, tejidos u órganos, se refiere a esta materia, si bien los embriones *in vitro*, como se verá más abajo, son objeto de regulación autónoma de los embriones *in utero* y de los fetos. Baste recordar en relación con estos últimos que es preciso el consentimiento de los progenitores y que los embriones y fetos deberán ser clínicamente no viables o estar muertos. A este respecto conviene recordar el texto de la ley que indica que “los embriones abortados, espontáneamente o no, serán considerados no viables por su grado de desarrollo a los efectos de esta Ley” (artículo 5.3), entre otros requisitos (artículos 2, 3, 6 y 7). En cambio, los fetos expulsados prematura y espontáneamente, y considerados biológicamente viables, serán tratados clínicamente con el único fin de favorecer su desarrollo y autonomía vital (artículo 5.4).

V.3. Reflexiones sobre la obtención de células troncales de embriones humanos *in vitro*

Como se ha indicado en los apartados previos de este informe, en estos momentos la utilización de células troncales embrionarias se refiere a investigaciones de laboratorio que no han dado lugar todavía a ninguna aplicación terapéutica sobre humanos, si bien no se puede predecir cuándo cambiará esta situación. Por consiguiente, los problemas actuales se centran en la valoración jurídica del recurso a células del embrión humano como material o medio de investigación o experimentación y no en tratamientos de pacientes concretos, de ahí que por el momento la expresión “clonación terapéutica” sea impropia. En todo caso, la posibilidad de que estas técnicas se desarrollen adecuadamente y puedan entonces constituir tratamientos de cierta eficacia planteará su propia dimensión jurídica, la cual no debe ser obviada en cuanto tal escenario llegue a presentarse.

El problema jurídico con el que se enfrenta la creación de embriones tempranos con un desarrollo no superior a los catorce días para obtener de

ellos células troncales es doble: comporta la creación de éstos para un fin no reproductivo, la investigación y, en segundo lugar, podrán obtenerse no sólo por fecundación gamética sino también mediante técnicas de transferencia nuclear. Por su parte, la utilización de células de embriones supernumerarios o sobrantes de las técnicas de reproducción asistida abre unos análisis en parte diferentes.

La dificultad del tratamiento jurídico de esta cuestión se aprecia ya en la dispar situación normativa y en las tendencias del derecho comparado. En efecto, sin perjuicio de lo que se dirá más adelante sobre diversas iniciativas legales adoptadas o que se encuentran en curso en el marco europeo, algunos estados de este entorno no cuentan con legislación aplicable ni en fase de preparación (Grecia, Irlanda, Luxemburgo, Portugal). En otros no se han logrado todavía acuerdos parlamentarios, a pesar de haberse intentado en varias ocasiones, por lo que la ausencia de prohibiciones o limitaciones expresas otorga, como sucede en Italia, una permisibilidad *de facto*, sin perjuicio de que puedan existir mecanismos de control profesionales y otros no formales.

V. 3.1. El marco jurídico de protección del embrión

Probablemente se compartirá la constatación de que los instrumentos jurídicos tradicionales de protección de la vida prenatal, desde el embrión *in vitro* hasta el feto viable extrauterinamente, son en no pocas ocasiones insuficientes ante los nuevos fenómenos científicos y de otro tipo respecto a los cuales puede verse afectada aquélla. Estos problemas se han detectado en diversos sectores del ordenamiento jurídico, en primer lugar en el civil. Está todavía pendiente la reelaboración de unos criterios mejor definidos para la protección jurídica general del *nasciturus*, así como decidir el tratamiento jurídico que corresponde al embrión *in vitro* ante las diversas situaciones en las que puede encontrarse. Es el llamado estatuto jurídico del embrión y del feto.

El ordenamiento jurídico español no reconoce al *nasciturus* (embrión implantado y feto humanos) ni al embrión *in vitro* la condición de persona ni la de sujeto de derechos y obligaciones, lo cual ocurre después del nacimiento de acuerdo con las prescripciones del Código civil (artículos 29 y 30). Esta doble conclusión, esto es, la falta de titularidad de los derechos fundamentales y la carencia de personalidad jurídica por parte del *nasciturus* y del embrión *in vitro*, se deduce ya de la propia Constitución española (C.E.), o así lo ha entendido al menos el Tribunal Constitucional. En efecto, en su sentencia 53/1985, de 11 de abril, relativa al recurso de inconstitucionalidad presentado contra la ley de despenalización parcial de la interrupción voluntaria del embarazo, dicho órgano rechazó que el *nasciturus* fuera titular del derecho fundamental a la vida proclamado en el artículo 15 de la Constitución, lo que se ha visto confirmado después por sus sentencias 212/1996, de 19 de diciembre, y 116/1999, de 17 de junio, relativas a los recursos de inconstitucionalidad contra la Ley 42/1988, de 28 de diciembre, ya citada, y contra la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre técnicas de reproducción asistida, respectivamente. Como se cita en la sentencia 116/1999, fundamento jurídico nº 11: “cumple recordar que ni los preembriones no implantados ni, con mayor razón, los simples gametos son, a estos efectos, persona humana, por lo que el hecho de quedar a disposición de los bancos tras el transcurso de determinado plazo de tiempo, difícilmente puede resultar contrario al derecho a la vida (artículo 15 C.E.) o a la dignidad humana (artículo 10.1 C.E.)”. Si en 1985 el Tribunal Constitucional sólo aventuró la negación al *nasciturus* de la titularidad del derecho fundamental a la vida, en 1996 y 1999 niega incluso la condición de persona, en su dimensión jurídica, al embrión *in vitro*.

En el ordenamiento jurídico español es posible distinguir, además, la incidencia de diversas fases o estadios en el desarrollo de la vida humana, teniendo en cuenta aquellos momentos o estadios que son relevantes para determinar la capacidad de continuar y culminar ese mismo proceso de desarrollo vital. Podrá parecer artificioso tal procedimiento de diferenciación, pues no cabe duda de que la vida humana es desde que ocurre la concepción natural un continuo biológico en constante evolución y desarrollo. Pero el derecho debe operar frecuentemente también de este modo en otros ámbitos de la vida social

que somete a su foco de atención, seccionando la realidad para así poder captarla mejor y poder proceder a continuación a las valoraciones que le son características. En resumen, el derecho puede matizar su valoración jurídica sobre cada una de las fases o etapas de la vida prenatal, materializándose en una protección jurídica de diferente intensidad para cada una de ellas, en atención a la culminación de esas etapas.

En efecto, constituye una realidad distinta en nuestro ordenamiento jurídico la situación del embrión *in vitro* en tanto no ha sido transferido a una mujer y no se ha producido la subsiguiente implantación de aquél en ésta última, pues el cigoto resultante no tiene por sí mismo capacidad de desarrollo hasta que no ha lugar la citada transferencia. Reflexiones de semejante calado han llevado al Tribunal Constitucional a afirmar que el embrión *in vitro* ostenta una situación distinta respecto al ya implantado, como se desprende de la sentencia 116/1999, fundamento jurídico nº 12, donde se dice “como queda afirmado con reiteración, los preembriones *in vitro* no gozan de una protección equiparable a la de los ya transferidos al útero materno”.

No obstante, el embrión *in vitro* es una realidad a la que, como se apuntaba más arriba, no debe ser completamente ajena el derecho, que debe ofrecer a la vida del embrión sus mecanismos apropiados de protección, en la medida en que constituye una forma de vida humana y puede dar lugar al nacimiento de un ser humano. Del derecho se requiere que ofrezca algún medio de protección a esa forma de vida humana, pero, sobre todo, que si existe un proyecto procreativo cierto respecto a ese embrión, garantice que no será objeto de intervenciones que puedan poner en peligro la integridad o identidad del nuevo ser, sin perjuicio de que se pondere la oportunidad de admitir concretas excepciones, también discutidas, en beneficio del propio individuo (fines terapéuticos o de prevención de enfermedades) o de terceros, si en este último supuesto tal proyecto procreativo no puede satisfacerse.

La falta de personalidad del *nasciturus* y del embrión *in vitro* no significa que puedan ser entendidos en el ordenamiento jurídico español como meros objetos de derechos, y por ello susceptibles de apropiación, pues gozan y han

de gozar de otros privilegios diferentes y superiores a los otorgados a otras partes del cuerpo humano separadas de éste. El Tribunal Constitucional llegó a este respecto a una importante conclusión, que supone reconocer una dimensión objetiva a los preceptos constitucionales que acogen los derechos fundamentales y las libertades públicas, es decir, una dimensión institucional o normativa, como conjunto de valores objetivos positivizados de la comunidad, reconduciendo la protección de la vida de los *nascituri* a la que se confiere a los bienes jurídicos constitucionales (bien jurídico protegido constitucionalmente): “los no nacidos no pueden considerarse en nuestro ordenamiento constitucional como titulares del derecho fundamental a la vida que garantiza el artículo 15 de la CE lo que, sin embargo, no significa que resulten privados de toda protección constitucional, pues, “los preceptos constitucionales relativos a los derechos fundamentales y libertades públicas pueden no agotar su contenido en el reconocimiento de los mismos, sino que, más allá de ello, pueden contener exigencias dirigidas al legislador en su labor de continua configuración del ordenamiento jurídico, ya sea en forma de las llamadas garantías institucionales, ya sea en forma de principios rectores de contornos más amplios, ya sea, como en seguida veremos, en forma de bienes jurídicos constitucionalmente protegidos” (STC 212/1996, fundamento jurídico 3º)” (sentencia 116/1999, fundamento jurídico nº 5).

Si las anteriores consideraciones comportan que el embrión *in vitro* no es una persona en el ordenamiento jurídico español, para algunos juristas tampoco debería otorgársele la categoría de una cosa, no es sujeto, pero tampoco es objeto de derechos, pues es un no-sujeto de derecho avocado, por un proceso evolutivo, a convertirse en un sujeto de derecho. Para esta línea de pensamiento sería erróneo, asimismo, concederle un estatuto jurídico intermedio entre una y otra categoría, persona y cosa, propugnando antes bien un estatuto diferente, autónomo, en un plano coherente con la gradación valorativa de la vida prenatal que se deduce del ordenamiento jurídico. Ello implica una tercera vía, pero no meramente intermedia entre persona y cosa. De este modo, los conflictos que puedan plantearse en relación con el embrión *in vitro* y, con las matizaciones oportunas, de modo similar con el *nasciturus*,

deberán resolverse de acuerdo con el principio jurídico de la ponderación de todos los intereses presentes en tales conflictos.

Algunos especialistas entienden que esta vía de protección jurídica del embrión *in vitro*, y en general de toda forma de vida humana prenatal, es insuficiente, y por ello debería reforzarse, elevando todas sus fases vitales como supuestos de personalidad y de titularidad de derechos, modificación que podría hacerse sin dificultades, al tratarse de una creación jurídica. De acuerdo con lo que se expuso más arriba esta propuesta va más allá del marco constitucional, pero no es, ciertamente, incompatible con él. Sin embargo, otros especialistas han recordado que esta modificación tendría un difícil encaje tanto en relación con los atributos que se han venido confiriendo casi de forma universal en el tiempo y en el espacio a dichas categorías jurídicas como respecto a su propia operatividad en relación con la vida prenatal. Además, no reflejaría coherentemente las valoraciones jurídicas que se han venido proyectando tradicionalmente sobre la misma y las que en particular se han ido dibujando más recientemente en torno al embrión *in vitro* que, en todo caso, sería preferible construir otra categoría jurídica específica, como la que se ha mencionado más arriba.

Finalmente, otra línea de pensamiento sostiene que la protección jurídica de la vida prenatal no debe ir más allá de la voluntad de la madre, al menos hasta que el feto alcance la viabilidad extrauterina, y en concreto que el embrión *in vitro* no debe gozar de ninguna especial si pueden atenderse con él otros intereses individuales o colectivos considerados como superiores. Es decir, el embrión, en cuanto que no encarna ningún interés digno de protección, no sería acreedor de ésta. De conformidad con lo expuesto más arriba, tampoco este criterio parece que encuentre refrendo constitucional en el ordenamiento jurídico español.

V.3.2. Embriones creados para la obtención de células troncales

Es indudable que las visiones jurídicas sobre la vida prenatal someramente descritas más arriba aportarían respuestas diferentes y contrapuestas a la cuestión de crear embriones humanos *in vitro* con el fin directo y exclusivo de obtener de ellos sus células para la investigación. Es dudoso determinar cómo se resolvería por parte de quienes mantienen que el *nasciturus* y el embrión *in vitro* configuran una categoría jurídica independiente, distinta de una persona pero también de una cosa. Ello dependerá también en buena medida del marco jurídico concreto desde el que tenga que darse la respuesta.

En cualquier caso, su creación comportaría la prohibición de que puedan ser destinados a la reproducción humana, aparte de otros requisitos como el consentimiento de los donantes, la justificación, autorización y control del ensayo, etc.

Son muy escasos los ejemplos de derecho comparado que muestren la adopción de esta solución, pudiéndose enumerar el Reino Unido en su Ley sobre fertilización y embriología humanas de 1990 y los Países Bajos donde se ha establecido una moratoria legal por un período de cinco años. En otros países los órganos competentes han anunciado su autorización, mientras que en algunos parlamentos europeos como los de Austria, Bélgica, Noruega o Suecia, varios proyectos de ley se hallan en diversas fases de debate y probablemente adoptarán próximamente alguna decisión sobre este asunto.

Como se mencionó en el apartado III de este informe, otra alternativa consiste en la creación de embriones mediante la transferencia del núcleo de una célula somática de un individuo a un óvulo humano. Por el momento, sólo un país, el Reino Unido, ha dado el paso de permitir legalmente esta técnica con su Ley de 1990, modificada en 2001 para ampliar los fines para los que se puede autorizar la clonación no reproductiva.

En el ámbito internacional apenas se han dado pasos claros para definir el marco jurídico de la investigación con embriones o sus células. La Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y los derechos humanos,

de 1997, no toma posición al respecto, aunque rechaza la clonación humana reproductiva, por ser contraria a la dignidad humana. En el seno de las Naciones Unidas se está trabajando sobre un convenio con el propósito de prohibir la clonación con tales propósitos, pero es incierto en estos momentos si incluirá finalmente también la llamada clonación “terapéutica”.

En el ámbito europeo se ha configurado un núcleo normativo. El Consejo de Europa ha acogido una solución más o menos abierta y de compromiso en el Convenio sobre derechos humanos y biomedicina, de 1997, conocido también como “Convenio de Oviedo”, al no haberse logrado un amplio consenso al respecto en el ámbito europeo. Bien al contrario, fue uno de los asuntos que mayores discrepancias suscitó y, probablemente, la causa más relevante de que algunos estados europeos como la República Federal Alemana y el Reino Unido, Francia e Italia, no hayan suscrito o ratificado todavía el Convenio, si bien cada uno de ellos no lo ha hecho por motivos diferentes.

La experimentación con embriones *in vitro* aparece recogida en estos términos:

1. Cuando la experimentación con embriones *in vitro* esté admitida por la ley, ésta deberá garantizar una protección adecuada del embrión.
2. Se prohíbe la constitución de embriones humanos con fines de experimentación” (artículo 18).

Centrando la atención ahora en el segundo párrafo del artículo 18, no cabe duda de que establece la prohibición de que se creen embriones humanos *in vitro* con el objetivo de experimentar con ellos. Del conjunto del Convenio y del Protocolo al mismo sobre clonación humana de 1998 se deduce un abanico de principios valorativos en torno al embrión humano *in vitro*, que podría constituir el germen de su estatuto jurídico, pendiente de desarrollo por medio de un nuevo Protocolo.

Se ha defendido en alguna ocasión que en este conjunto valorativo del Convenio es admisible, puesto que, además, no se prohíbe expresamente, la creación de embriones humanos con fines terapéuticos directos, como sería el caso de obtener células troncales. Tal conclusión se sustentaría en el nivel valorativo inferior que comportaría dicha finalidad frente al límite prohibitivo máximo constituido por la creación de embriones con fines de experimentación

y por la propia clonación reproductiva. El Convenio no prohibiría la creación de embriones con el fin directo e inmediato de mejorar la salud o salvar la vida de una persona, al tratarse de una actividad radicalmente diferente a la de la experimentación, y habría reconocido primacía al interés de la vida del embrión frente al interés colectivo que supone la promoción de ciertos sectores de investigación, pero no en relación con la salud y la vida de personas concretas. En cualquier caso, esta interpretación ha encontrado posiciones tanto contrarias como coincidentes y comporta reflexiones éticas de especial calado.

La importancia de este Convenio es evidente, pero lo es más aún para el ordenamiento jurídico español, al formar parte del mismo desde el 1º de enero de 2000. Por consiguiente, sin perjuicio de las adaptaciones legales que deba acometer el legislador, el alcance del artículo 18 es relevante para el derecho interno. En el derecho español, la Ley 35/1988, ya mencionada, impone estrechas limitaciones a la investigación o experimentación con embriones *in vitro*. Por lo pronto, está prohibida "la fecundación de óvulos humanos con cualquier fin distinto a la procreación humana" (artículo 3). Esta prohibición ha sido elevada con posterioridad, en sus mismos términos, al rango de infracción penal, pues constituye delito desde la entrada en vigor del Código penal de 1995 (artículo 161.1; pena: prisión de uno a cinco años e inhabilitación especial para empleo o cargo público, profesión u oficio de seis a diez años), lo que significa que no pueden crearse embriones *in vitro* con destino directo para la investigación.

La redacción literal de este precepto penal, "quienes fecunden óvulos humanos con cualquier fin distinto a la procreación humana", así como la forma misma de obtener el embrión con fines no reproductivos mediante la técnica de transferencia nuclear o clonación ha suscitado la duda de si esta práctica no quedaría incluida en dicho delito, y que de hacer lo contrario se vulneraría el principio de legalidad por su aplicación analógica en perjuicio del reo. La cuestión no es diáfana, pero también se ha hecho notar que por este procedimiento se consigue fertilizar un óvulo humano, bien que sin la contribución de un espermatozoide. Esta consideración coincide con el ámbito de prohibición de la norma implícita en aquel precepto, que prohíbe, más allá

de la imperfección de su literalidad, que los embriones humanos puedan ser creados con fines distintos a su utilización reproductiva.

De todos modos, la redacción más explícita del Convenio sobre derechos humanos y biomedicina, mencionado más arriba, marca con toda nitidez estos límites, tanto en relación con que el hecho prohibido de crear embriones sin importar el procedimiento, como en la finalidad de experimentación, en lo que es más conciso que el Código penal español vigente. Y mientras que el primer aserto obligaría al legislador español a corregirlo, en la medida en que la primera interpretación del artículo 161.1 del Código penal fuera viable, el segundo es facultativo, al implicar este precepto una protección más amplia del embrión que el Convenio.

V.3.3. La obtención de células troncales a partir de embriones sobrantes de las técnicas de reproducción asistida

Como es sabido, una de las técnicas de reproducción asistida consiste en obtener embriones *in vitro* mediante la fecundación extracorpórea de óvulos humanos. Cuando se practica la crioconservación de embriones como técnica de apoyo con el fin de lograr el embarazo de la paciente en los intentos sucesivos que sean necesarios, puede ocurrir que por diversos motivos algunos de ellos no puedan destinarse finalmente al proyecto procreativo. Entonces nos encontramos con los llamados embriones supernumerarios o sobrantes.

La previsión legal de la crioconservación de embriones humanos en un contexto procreativo comporta que la ponderación del interés del bienestar de la paciente frente al riesgo de que queden embriones sobrantes se ha resuelto a favor de aquélla, es decir, la resolución de este conflicto mediante la oportuna ponderación de todos los intereses en juego significa que para el ordenamiento jurídico que así lo haya establecido son más valiosos los intereses representados por la mujer paciente que los que se refieren al embrión, incluso

aunque implique el riesgo de que no pueda ser destinado al inicial propósito reproductivo.

Varias legislaciones contemplan expresamente la investigación con embriones sobrantes. Ejemplos de ello son Finlandia (Ley nº 488/1999), los Países Bajos (Ley sobre embriones, en vigor desde el 1º de septiembre de 2002) y Suecia (Ley nº 1991:115), aunque se considera dudoso su alcance a las células troncales. En algún caso se exige que los embriones no sean viables, mientras que en otros, como el de Dinamarca, se permite la investigación bajo determinadas circunstancias, pero no prevé la obtención de células troncales. Contamos asimismo con ejemplos de legislaciones que prohíben explícitamente la investigación con embriones, como sucede con Austria, en su Ley de técnicas de reproducción asistida de 1992, y con Francia, Ley nº 94-653 de 1994; no obstante, en ambos países se encuentran en proceso de tramitación parlamentaria sendos proyectos de ley que prevén su aprobación con ciertas condiciones, y lo mismo sucede en las cámaras legislativas de Bélgica y Suiza. Finalmente, en algún sistema jurídico se ha prohibido la creación de un número de embriones superior al necesario para una sola transferencia, según lo cual se excluye indirectamente la posibilidad de su crioconservación, intentando eludir de este modo la cuestión de los embriones sobrantes, pero comportará al mismo tiempo someter a la mujer a una nueva intervención de extracción de ovocitos frescos para fecundarlos cada vez que se intente el tratamiento de transferencia e implantación de embriones. Este es el caso de la República Federal Alemana en su Ley sobre protección de embriones de 1990.

En algún caso aislado se ha utilizado la distinción entre embriones viables y no viables, estableciendo un marco jurídico diferente para cada uno de ellos. Está muy extendido el criterio de que no hay ninguna base seria que se oponga a la investigación con los embriones no viables. Sobre el significado que se otorga normativamente a los conceptos de viabilidad y de no viabilidad contamos con alguna referencia legislativa, por ejemplo la Ley alemana de 1990 “cuando se constate que el óvulo, transcurridas veinticuatro horas tras la fusión de los núcleos, no podrá desarrollarse más allá del estadio unicelular” (artículo 8.2).

Más arriba se indicó cómo conforme al Convenio sobre derechos humanos y biomedicina los Estados Parte en el Convenio pueden autorizar por ley la experimentación con embriones humanos (artículo 18.1). Se deja a la decisión discrecional de los Estados que autoricen o prohíban tal actividad. La autorización consiste no en crear embriones con tales fines, ya se vió que está prohibido, sino en utilizar embriones. ¿Cuáles, entonces?: precisamente los sobrantes de técnicas de reproducción asistida. De autorizar la experimentación, se impone la obligación de que la ley debe garantizar una protección adecuada del embrión, es decir, debe incluir alguna forma de garantía con el fin de dar cumplimiento a tal objetivo. Resulta complejo determinar cuáles pueden ser esas garantías, puesto que el Convenio no aporta ninguna orientación al respecto, como tampoco el Informe Explicativo del mismo, el cual se limita a señalar que “El artículo no adopta una postura sobre la admisibilidad del principio de investigación sobre embriones *in vitro*” (nº marginal 116). Además, la utilización del embrión para la investigación descarta ya de entrada su destino para la procreación, aunque, no se olvide, son embriones que ya no podían ser destinados a la procreación.

En el derecho español está permitida la crioconservación de embriones con fines reproductivos por un período máximo de cinco años (artículo 11.3 de la Ley 35/1988), lo que significa al mismo tiempo que no está excluida legalmente la posibilidad de que se de lugar a embriones sobrantes, por ejemplo si se produjo el fallecimiento de los progenitores, su separación o su renuncia al proyecto procreativo, y que transcurrido aquel plazo sin haberse sustanciado su destino procreativo, deberán ser descongelados o, lo que es lo mismo en cuanto a su efecto, destruidos. De forma similar lo entendió la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida en su primer informe de diciembre de 1998, al considerar que agotado dicho plazo, debería procederse a su descongelación o a otras medidas legalmente posibles.

Sobre esta cuestión de la crioconservación de embriones y de la eventual existencia de embriones supernumerarios o sobrantes el Tribunal Constitucional ha señalado en su sentencia 116/1999, fundamento jurídico nº

11 que “de la Constitución no se desprende la imposibilidad de obtener un número suficiente de preembriones necesario para asegurar, con arreglo a los conocimientos biomédicos actuales, el éxito probable de la técnica de reproducción asistida que se esté utilizando, lo que, desde otra perspectiva, supone admitir como un hecho científicamente inevitable la eventual existencia de preembriones sobrantes. Así entendida, la crioconservación no sólo no resulta atentatoria a la dignidad humana, sino que, por el contrario y atendiendo al estado actual de la técnica, se nos presenta más bien como el único remedio para mejor utilizar los preembriones ya existentes, y evitar así fecundaciones innecesarias”.

Si se interviene en el embrión *in vitro* viable con fines de investigación y experimentación es necesario que se trate de una investigación aplicada de carácter diagnóstico y con fines terapéuticos o preventivos, y que no se modifique el patrimonio genético no patológico (artículo 15.2). Si no es viable, la intervención se puede extender a otro tipo de investigación, siempre que no se pueda llevar a cabo en el modelo animal, el proyecto esté sometido a control externo y se respeten los plazos autorizados (artículo 15.3). Por fin, si son embriones abortados se les considera muertos o no viables y pueden ser destinados a investigación o experimentación; en la primera condición de muertos podrán utilizarse con fines científicos, diagnósticos o terapéuticos, y en la segunda (no viables), con fines farmacéuticos, diagnósticos o terapéuticos previamente conocidos y autorizados (artículo 17). En particular se autorizan de modo expreso ciertas acciones, a la vez que se prohíben otras calificadas como no deseables, incluyendo una prolija relación de supuestos en ambos grupos de casos (artículo 16).

En resumen, la experimentación con embriones humanos *in vitro* sólo está permitida por la Ley en España cuando aquellos son inviábiles. Para la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida, en su informe de 2000, el significado legal de “no viable” aplicado a los embriones es de índole biológica, en el sentido de que no sean aptos para iniciar o continuar el proceso de división celular. En efecto, en diversos pasajes de la Ley 35/1988 la palabra “viabilidad” parece tener unívocamente este sentido. Así los artículos 12, 13.2,

15.3, 17, 20.2, B, i) indican que no pueden ser considerados legalmente inviables los embriones crioconservados que por diversos motivos o circunstancias, personales o sociales relacionados con los progenitores, no pueden ser destinados a la reproducción (inviabilidad funcional), pues sería una interpretación claramente enfrentada al espíritu y a la letra de la Ley, con independencia del juicio que merezca esta conclusión.

Significa esto que cualquier pretensión de extender la experimentación con células de embriones sobrantes de cualquier tipo pasa necesariamente por la reforma de los preceptos correspondientes, en particular de los artículos 15, 16 y 17 de la Ley 35/1988. Por otro lado, el artículo 11 de esta Ley no ha parecido suficientemente claro a los miembros de la comunidad científico-sanitaria, los más inmediatos destinatarios de la ley, en concreto sobre cómo proceder una vez transcurrido el período máximo de cinco años de congelación, y qué sentido preciso contiene la disposición de que “pasados dos años de crioconservación de gametos o preembriones que no procedan de donantes, quedarán a disposición de los bancos correspondientes” (artículo 11.4, con el que, por cierto, parece estar en contradicción el artículo 12.1, b, 2º del RD 413/1996, de 1º de marzo), aparentemente no muy armónica con los artículos anteriormente citados en relación con los consentimientos de los progenitores y, en su caso, de los donantes. Por lo tanto, estas revisiones vienen exigidas, además, por la seguridad jurídica, a la vista de las discusiones interpretativas que han suscitado los referidos preceptos.

Esta cuestión ha sido objeto de atención por parte de diversas instituciones, como el Congreso de los Diputados, donde se han producido diversos debates e iniciativas parlamentarias, y la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida, que elevó una propuesta de modificación de la situación legal vigente. La reciente aprobación por parte del Gobierno del Real Decreto 120/2003, de 31 de enero, por el que se regulan los requisitos para la realización de experiencias controladas, con fines reproductivos, de fecundación de ovocitos o tejido ovárico previamente congelados, podría contribuir también a paliar en cierta medida el problema del elevado número de embriones humanos sobrantes.

V.3.4. La obtención de líneas celulares embrionarias

Se trata de examinar no el proceso de obtención de líneas celulares a partir de las células troncales de embriones humanos, sino la obtención de líneas desarrolladas por otros centros, sean nacionales o extranjeros. En cuanto a los primeros centros, ninguna limitación sería apreciable, aparte de las exigencias de seguridad y calidad de la muestra cedida, y a salvo también de su comercio, por lo que se dirá a continuación.

En cuanto a los centros extranjeros, cabe la posibilidad de comerciar, importar o exportar embriones humanos o sus células (p. ej., células troncales, cultivadas o no en el laboratorio), que es la solución que se ha buscado en algunos países que cuentan con una legislación restrictiva (así, el Parlamento alemán ha autorizado la importación y uso de células troncales embrionarias humanas, por la Ley –*Stammzellgesetz*- de 28 de junio de 2002; en Francia está permitida la importación de líneas celulares embrionarias por un Decreto de 23 de febrero de 2000), pero que está expresamente prohibida en otras (así, en Suecia, Ley 1991:115).

La Ley 35/1988 prohíbe expresamente comerciar con preembriones o con sus células, así como su importación o exportación (artículo 20.2, B, e). Sin perjuicio de que la prohibición relativa a la importación requeriría un estudio minucioso, puede afirmarse que es muy dudoso que sea aplicable a la obtención, en todo caso no comercial, de estas líneas desde centros de investigación o bancos de material biológico establecidos en el territorio de la Unión Europea.

V.4. La realización de investigaciones o de ensayos clínicos con los productos obtenidos a partir de células troncales

Las diversas líneas y técnicas de investigación que se están desarrollando en torno a las células troncales persiguen, como es sabido, que constituyan una

nueva forma de tratamiento para algunas enfermedades degenerativas y de otro tipo para las que en la mayor parte de los casos no se dispone todavía de otros tratamientos efectivos. Por consiguiente, en la lógica de estas investigaciones, una vez satisfechas las experiencias preclínicas en el laboratorio, incluyendo el modelo animal, entra la comprobación de su eficacia en el ser humano, es decir, experimentar con seres humanos estos materiales biológicos obtenidos a partir de las células troncales. Aparte de los deseados beneficios que se esperan obtener para los pacientes, poco se sabe de las incidencias y de los acontecimientos adversos que se puedan producir en las todavía escasas experiencias clínicas conocidas hasta el momento.

V.4.1. Las investigaciones y experimentaciones preclínicas

La intervención de la sociedad, a través de las autoridades y órganos administrativos correspondientes, en algunas prácticas de investigación y experimentación con estructuras biológicas de origen humano es cada vez más frecuente. La razón de tal control encuentra probablemente su explicación en la voluntad de asegurar la seriedad de las investigaciones en sus objetivos y metodologías que justifiquen el recurso a dichas estructuras, debido al respeto que se otorga a todo lo humano, con mayor motivo si se trata de embriones y fetos. La ausencia de explotación económica de las estructuras biológicas en cuanto tales y no el proceso mismo de elaboración, o la protección de la información genética que contienen aquéllas, son algunos de otros principios informadores de las investigaciones preclínicas con material humano.

Por lo que se refiere a la donación de células o de tejidos de vivo se establece que sólo podrá tener “finalidad terapéutica...”, sin perjuicio de las investigaciones adicionales que puedan realizarse adicionalmente, mientras que la obtención de tejidos de fallecidos podrá ser también con fines científicos (artículo 6 del Real Decreto 411/1996, de 1º de marzo, por el que se regulan las actividades relativas a la utilización de tejidos humanos). Esta limitación se concilia mal con el contexto específico de la investigación sobre células troncales, pues en realidad el acto de extracción es inocuo en principio, según

se apuntó más arriba, y a la larga se pretende favorecer a los propios donantes, en cuanto potenciales receptores de las líneas celulares y beneficiarios de estos tratamientos. Por tal motivo, y sin perjuicio de que deban ser satisfechos los demás requisitos reglamentarios, debe ahondarse en el verdadero espíritu de la siguiente aclaración reglamentaria: "...es decir, con el propósito de favorecer la salud o las condiciones de vida de su ulterior receptor o receptores, sin perjuicio de las investigaciones que puedan realizarse adicionalmente" (continuación del artículo 6, citado más arriba); en el sentido de que las muestras que aporta el donante podrán beneficiarle a él mismo. Pero no se oculta cuán frecuentes son las asperezas jurídicas que se van detectando ante prácticas de las que apenas se discute su licitud ética y jurídica, pero que ponen de relieve, una vez más, el desajuste al que se enfrentan las reglas jurídicas ante nuevos escenarios científicos. Afortunadamente, más adelante podrá comprobarse que las investigaciones clínicas disponen de otra vía jurídica que no se ve entorpecida por ésta.

En cuanto a las estructuras embrionarias y fetales, aparte de lo que se indicó más arriba sobre los requisitos reglamentarios sobre su obtención, es necesario contar con las autorizaciones de los órganos competentes, los cuales no son fáciles de identificar, y otros requerimientos de semejante naturaleza (artículos 7 y siguiente de la Ley 42/1988).

Las investigaciones con embriones *in vitro* y con sus células están sometidas a un régimen especial, establecido esencialmente en los artículos 15 a 17 de la Ley 35/1988. Aparte de los requisitos y límites específicos establecidos para los embriones viables, no viables y muertos, expuestos sucintamente más arriba, se exigen, entre otras, las siguientes condiciones generales: i) que se cuente con el consentimiento de las personas de los que proceden, incluido el donante; ii) que no se desarrollen *in vitro* más de catorce días después de la fecundación del óvulo, descontando el período de crioconservación, en su caso; y iii) que la investigación se realice en centros cualificados y autorizados (artículo 15.1).

La inadecuación detectada con anterioridad de la restricción respecto a que la donación de vivo esté fundamentalmente limitada a finalidades terapéuticas se pone de relieve todavía con mayor notoriedad en el caso del cordón umbilical. De todos modos, las actividades de investigación preclínica con células troncales de vivo o de cordón umbilical en cuanto tales no están sometidas a ninguna condición específica, a salvo de las que pudieran derivarse de la propia organización pública o privada en la que se inscriban aquéllas.

V.4.2. Los ensayos clínicos con células troncales

La investigación clínica, es decir, la que se realiza en seres humanos, debe estar sometida a unos principios, reglas, límites y controles marcados por el ordenamiento jurídico, con el fin de prevenir los riesgos que pueden comportar estos ensayos sobre los sujetos humanos sometidos a ellos y de asegurar que se realicen con un escrupuloso respeto de los derechos fundamentales de estas personas y con la observancia de los demás principios éticos que han de presidir toda experimentación sobre humanos.

No cabe duda de que entre aquellos derechos implicados se encuentran el derecho fundamental a la vida y el derecho a la integridad física y moral, así como la prohibición constitucional de tratos inhumanos o degradantes frente a hipotéticas prácticas de cobayismo (artículo 15 de la Constitución), cuya proyección más estrecha hacia la vulneración de la dignidad de la persona humana (artículo 10.1) parece en estos casos más evidente. En este punto también es pertinente recordar el Pacto internacional de derechos civiles y políticos de 1966, ratificado por el Reino de España en 1977 y que en su artículo 7 indica que “nadie será sometido a torturas ni a penas o tratos crueles, inhumanos o degradantes. En particular, nadie será sometido sin su libre consentimiento a experimentos médicos o científicos”.

De acuerdo con lo señalado más arriba el Convenio sobre derechos humanos y biomedicina en vigor en España nos ofrece asimismo un marco general: “La investigación científica en el ámbito de la biología y de la medicina se efectuará

libremente, a reserva de lo dispuesto en el presente Convenio y en otras disposiciones jurídicas que garanticen la protección del ser humano” (artículo 15). Después del recordatorio de tan relevante derecho, que encuentra su correspondiente refrendo, también como derecho fundamental, en la Constitución (artículo 20.1, b), establece un conjunto de principios y condiciones básicas para la experimentación con personas, que parece oportuno recordar ahora y que se resumen en: i) que no exista un método alternativo al experimento con seres humanos de eficacia comparable; ii) que los riesgos en que pueda incurrir la persona no sean desproporcionados con respecto a los beneficios potenciales del experimento; iii) que el proyecto de experimento haya sido aprobado por la autoridad competente después de haber efectuado un estudio independiente acerca de su pertinencia científica, comprendida una evaluación de la importancia del objetivo del experimento, así como un estudio multidisciplinar de su aceptabilidad en el plano ético; iv) que la persona que se preste a un experimento esté informada de sus derechos y las garantías que la ley prevé para su protección; y v) que el consentimiento a que se refiere el artículo 5 se haya otorgado expresa y específicamente y esté consignado por escrito. Este consentimiento podrá ser libremente retirado en cualquier momento (artículo 16). Asimismo, se establecen medidas especiales de protección para las personas que no tengan capacidad para prestar su consentimiento a un experimento (artículo 17).

Pautas semejantes a las anteriores vienen aplicándose desde hace años en relación con los ensayos clínicos de medicamentos y de otros productos asimilados a ellos, como ocurre en España por medio de la Ley 25/1990, de 20 de diciembre, del medicamento y, en particular a partir de su desarrollo en lo relacionado con los ensayos clínicos, por el Real Decreto 561/1993, de 16 de abril, sin perjuicio de que sea necesario y urgente una actualización y revisión en profundidad de dicha normativa, lo que podrá hacerse cuando el Estado español proceda a la transposición de la Directiva comunitaria sobre la materia (Directiva 2001/20/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 4 de abril de 2001, sobre la aplicación de buenas prácticas clínicas en la realización de ensayos clínicos de medicamentos de uso humano).

De todos modos, la cuestión más significativa en relación con las investigaciones clínicas con células troncales es determinar cuál es el régimen jurídico aplicable en el derecho español. Puede adelantarse ya que estas investigaciones carecen de una normativa que contemple de forma específica las peculiaridades que presentan. En efecto, la normativa vigente sobre extracción y trasplante de órganos (Ley 30/1979, de 27 de octubre, y Real Decreto 2070/1999, de 30 de diciembre) y sobre tejidos humanos (Real Decreto 411/1996, ya citado) no prevé especiales medidas y controles externos sobre experimentación en seres humanos en relación con tales prácticas, por lo que no parece aplicable, incluso aunque merecieran la calificación de experimentaciones terapéuticas. Por su lado, el régimen sobre ensayos clínicos parece estar concebido tan sólo para los medicamentos y su regulación parece estar más apegada a las características propias de estos ensayos.

La reflexión anterior no significa que la investigación clínica sobre células troncales carezca en estos momentos de un régimen jurídico que le sea aplicable. La normativa vigente sobre ensayos clínicos no es incompatible ni excluye que pueda ser asimismo aplicable, directamente o por analogía, a otras modalidades de investigación clínica, como son los ensayos clínicos a partir de células troncales. No obstante, debe asumirse que pueden producirse algunos desajustes o insuficiencias, como ocurre con el cumplimiento de las sucesivas fases de los ensayos con medicamentos, el uso de placebo, o la pluralidad de sujetos, que en principio son ajenos a los ensayos con células troncales. Lo cierto es que ante la exigencia cada vez más frecuente por parte de algunos organismos públicos, en particular la Comisión Europea, de que para financiar una determinada investigación clínica el investigador ha de acreditar que cuenta con la aprobación de un comité de ética, este requisito ha sido satisfecho en no pocas ocasiones en nuestro país por los comités éticos de investigación clínica, creados para supervisar, aprobar y hacer el seguimiento de los ensayos clínicos con medicamentos. Dichos comités han aplicado, lógicamente y con el rigor necesario, la normativa relativa a éstos. Como se va a exponer a continuación, no se trata de una aplicación forzada.

En efecto, en primer lugar, los ensayos en humanos con células troncales encajan en la definición legal de ensayo clínico “toda evaluación experimental de una sustancia o medicamento, a través de su administración o aplicación a seres humanos, orientada hacia alguno de los siguientes fines: a) Poner de manifiesto sus efectos farmacodinámicos o recoger datos referentes a su absorción, distribución, metabolismo y excreción en el organismo humano. b) Establecer su eficacia para una indicación terapéutica, profiláctica o diagnóstica determinada. c) Conocer el perfil de sus reacciones adversas y establecer su seguridad” (artículo 59 de la Ley 25/1990). Asimismo, tampoco pueden entenderse excluidos del ámbito de aplicación de la normativa específica sobre ensayos clínicos: “Este Real Decreto se refiere a todos los ensayos clínicos con medicamentos o productos en fase de investigación clínica que se realicen en España, incluyendo [...] todas aquellas sustancias consideradas como medicamentos en el artículo 8 de la Ley 25/1990 del Medicamento” (artículo 1 del Real Decreto 561/1993). Las definiciones que proporciona la Ley de medicamento como “toda sustancia medicinal... destinadas a su utilización en las personas... que se presente dotada de propiedades para prevenir, diagnosticar, tratar, aliviar o curar enfermedades o dolencias...” y de “sustancia medicinal” como “toda materia, cualquiera que sea su origen –humano, animal, vegetal, químico o de otro tipo- a la que se atribuye una actividad apropiada para constituir un medicamento”) admiten una acogida flexible de las células troncales de origen humano que han sido sometidas a un proceso de transformación y multiplicación en un laboratorio, sin perjuicio de que, como antes se indicó, las células troncales de origen humano a otros efectos se acercan más a la noción de tejido humano.

En consecuencia, la aplicación de la normativa vigente sobre ensayos clínicos a los que se realicen con células troncales es además preferible a la relativa a los trasplantes de órganos y de tejidos por el conjunto de garantías que establece para los pacientes y la mayor claridad de las pautas de comportamiento que aporta a los investigadores, para sus respectivas confianza y seguridad. Como principios rectores de los ensayos clínicos se señala que éstos habrán de realizarse en condiciones de “respeto a los derechos fundamentales de la persona y a los postulados éticos que afectan a

la investigación biomédica con seres humanos”, aludiéndose a este respecto explícitamente la vinculación a la Declaración de Helsinki y la necesidad de obtener y documentar el consentimiento informado, libremente expresado de cada uno de los sujetos del ensayo antes de su inclusión (artículo 60.2 y 4 de la Ley 25/1990 y artículo 10.2 del Real Decreto 561/1993). No menos importante es la exigencia de que los ensayos clínicos habrán de contar, antes de poder ser realizados, con el “informe previo del correspondiente Comité Ético de Investigación Clínica” (artículo 10.1), al que se aludía más arriba, así como que “los datos preclínicos sobre el producto en estudio sean razonablemente suficientes para garantizar que los riesgos para el sujeto en quien se realiza el ensayo son admisibles, que el diseño del estudio minimice los riesgos para los sujetos participantes en el mismo y que la importancia de la información buscada justifique el riesgo al que se exponen los sujetos participantes en el ensayo clínico” (artículo 10.3 del Real Decreto 561/1993).

En conclusión, todo ensayo clínico con células troncales de cualquier origen debería ajustarse en la actualidad a las pautas jurídicas anteriores y a las demás que marca la normativa vigente, con el fin de asegurar que también estos ensayos satisfacen los principios de respeto de los derechos fundamentales del sujeto de la experimentación, la relevancia científica del ensayo propuesto y la autorización, seguimiento y control oportunos por parte de las autoridades y comités correspondientes. En cualquier caso, ha de insistirse en que es necesaria una profunda revisión y actualización de la normativa vigente sobre experimentos en seres humanos con el fin de contar con prescripciones jurídicas mejor adaptadas a las peculiaridades que presentan los realizados con materia biológica de origen humano y no humano, al constatar que la investigación biomédica se ha ido abriendo de forma constante a nuevos campos como por ejemplo la terapia génica, el trasplante todavía no asentado de algunos órganos y tejidos, los xenotrasplantes, o las mismas células troncales y otras precursoras. En todos estos casos al final se va a requerir su contraste aplicándola directamente al ser humano. No es ociosa esta referencia sobre la necesidad de actualización de la normativa sobre ensayos clínicos, pues estaba justificada previamente por haberse quedado desfasada y anticuada en muchos aspectos y por la obligación que

tiene el Estado español de hacer frente a sus compromisos internacionales y comunitarios apuntados.

Si en el futuro estos materiales biológicos y los procedimientos de su transformación fueran aceptables como estándar terapéutico, sería complejo jurídicamente poder asimilarlos a medicamentos, a especialidades farmacéuticas en cuanto producto comercial, o a otros productos semejantes, a pesar de lo acabado de razonar en relación con los ensayos clínicos realizados con células troncales. En efecto, de acuerdo con las hipótesis científicas que se vienen manejando en la actualidad sería necesaria una preparación específica de líneas celulares para cada paciente en particular, partiendo incluso de sus propias células para la elaboración de aquéllas. Esta reflexión nos lleva a concluir que el marco normativo que ofrece el régimen sobre tejidos humanos, es decir, el Real Decreto 411/1996 (artículos 9 y siguientes) se adaptaría mejor a este hipotético escenario terapéutico, y con mayor motivo si los mismos provinieran de un tercero donante o de células o tejidos embrionarios o fetales, en cuyo caso habrá que observar también lo previsto en la Ley 42/1988 (artículo 4). No obstante, este real decreto enumera en su anexo los requisitos específicos de los centros de implantación de tejidos, según la actividad a desarrollar, pero no menciona otras células que los progenitores o precursores hematopoyéticos.

De todos modos, también en relación con estas prácticas se perciben las inadaptaciones, vacíos, dispersiones y solapamientos de una normativa que fue inicialmente concebida para situaciones muy distintas a las que puede generar en el futuro el tratamiento a partir de células troncales, lo que abunda una vez más sobre la urgencia de disponer una normativa específica de carácter reglamentario, respecto a la que se halla muy avanzada la preparación de una Directiva comunitaria.

Como en los apartados anteriores, todas estas reflexiones son la base para las recomendaciones emitidas al comienzo de este informe.

VOTO PARTICULAR

Mónica López Barahona

Decana de CC Biosanitarias y profesora de Oncología Molecular y Bioética.
Universidad Francisco de Vitoria

La evidencia científica manifiesta que el embrión humano es -desde su estado unicelular de cigoto- un nuevo individuo de la especie humana que a lo largo de su vida, en un proceso continuo, irá desarrollando las diferentes estructuras que integrarán el organismo adulto.

En las primeras fases de su desarrollo embrionario, concretamente desde su estado de cigoto hasta el de blastocisto, el embrión está constituido por las denominadas células troncales embrionarias cuya diferenciación puede dirigirse *in vitro* hacia diferentes tipos celulares.

Por otra parte, una concepción personalista del ser humano lleva necesariamente a reconocer el valor intrínseco de toda vida humana individual. El valor del ser humano está en él mismo, en su acto de ser lo que es: individuo vivo de la especie *homo sapiens*, irrepetible y único.

Para una antropología personalista, cada ser humano tiene valor como fin en sí mismo y no como medio para otros fines, por altos que estos sean –lo que implica que el ser humano no puede ser instrumentalizado o cosificado, puesto que el fin no justifica los medios-. El embrión humano es, como la ciencia reconoce, una vida humana individual, un individuo vivo de la especie *homo sapiens*. Habrá que concluir que tiene derecho a ser considerado como fin en sí mismo y cualquier acción llevada en contra de su vida será moralmente ilícita.

El embrión humano no es un “hombre en potencia”, sino un “ser humano en acto”, pues está allí, presente, vivo, como individuo de la especie *homo sapiens*. Lo que está en potencia es el desarrollo de unas facultades, pero no el sujeto de tales facultades.

El valor de la vida de la persona humana –y este valor está presente en el embrión humano- no es un valor que pueda compararse con otros valores que están en función del valor primigenio y fundamental de la existencia. La vida no puede entrar en juego con otros valores porque es el supuesto anterior a todos ellos. En los supuestos conflictos de valores, todos los demás están supeditados a éste.

Desde esta óptica, emito mi voto particular en contra de los puntos 4, 5 y 6 de las recomendaciones y conclusiones del informe sobre la investigación con células troncales de este Comité y matizo los puntos 2, 7 y 8 del mismo como detalle a continuación.

Premisas previas:

1) El empleo de los embriones congelados sobrantes de procesos de reproducción asistida para obtener a partir de ellos células troncales embrionarias supone la muerte de los embriones y por ello presenta unas importantes connotaciones éticas. En el punto 2 de las recomendaciones del informe del Comité se mencionan otras fuentes para obtener células troncales embrionarias que no generan una problemática ética; entre ellas fetos abortados. Considero importante puntualizar que sólo el empleo de fetos abortados espontáneamente no genera problemas éticos, pues el inducir un aborto para obtener las células troncales del feto sí los generaría.

2) Es imposible saber si el embrión congelado está vivo o muerto tras su congelación. El único modo de determinarlo es descongelándolo.

3) El proceso de congelación y descongelación supone una agresión hacia el embrión que puede dañar seriamente su viabilidad y que puede provocar la muerte del embrión.

4) No existe un criterio bioquímico que permita definir la viabilidad de un embrión, sin embargo sí existen criterios morfológicos y ritmos anormales de fragmentación embrionaria que permiten declarar un embrión como no viable.

5) El embrión no puede mantenerse vivo *in vitro* más allá de su estado de blastocisto, momento a partir del cual necesita transferirse al útero de una mujer para sobrevivir.

6) La razón del debate sobre el uso de células troncales embrionarias no es otra -en la actualidad- que el poder investigar con ellas; pues si se tratara de emplearlas con fines terapéuticos, habría que generar embriones inmunológicamente compatibles con el paciente para evitar problemas de rechazo. Este punto se descarta en el apartado 9 del informe del Comité.

7) Es necesario conocer el número exacto de embriones congelados sobrantes de España, así como el tiempo que llevan congelados y las condiciones en las que se congelaron para aplicar con rigor la propuesta que se resume a continuación.

8) La propuesta que a continuación se plantea tiene como premisa el obtener el consentimiento informado de los padres de los embriones congelados para cualquiera de las alternativas que se plantea.

9) La ley 35/88 debe modificarse –al menos- en el ánimo de no generar más embriones de los que se van a transferir, favorecer la congelación de oocitos y definir qué hacer con los ya congelados.

Propuesta:

Los embriones congelados sobrantes de procesos de reproducción asistida son una fuente de células troncales. Un embrión mantenido indefinidamente en un congelador eventualmente morirá, por tanto, el único modo de darle la posibilidad de vivir y formar parte de un proceso parental (motivo por el cual se generó) es criotransferirlo al útero de una mujer. Existen en la actualidad listas de espera que oscilan de los cinco a los diez años para que una pareja que desea adoptar un niño nacido pueda conseguirlo.

Ante esta demanda insatisfecha, los embriones sobrantes deberían descongelarse cronológicamente –con el consentimiento informado de los padres- con el fin primero de transferirlos al útero de las madres adoptivas que deseen gestarlos. Implementándose así el proceso de adopción prenatal que debe regularse del mismo modo que hoy se regula la adopción de los nacidos.

En el proceso de descongelación de los embriones se podrán encontrar tres escenarios:

- 1) Embriones que al descongelarlos mueran o estén ya muertos. Con el consentimiento informado de sus padres, sus partes integrantes (sus células troncales embrionarias que mantengan la capacidad de proliferar) podrían ser empleadas para investigación.
- 2) Embriones que al descongelarlos reúnan criterios morfológicos y presenten ritmos de fragmentación que permitan definirlos como no viables. Las prácticas de fecundación *in vitro* han demostrado que estos embriones no pueden vivir ni transferidos al útero de la madre ni en medios de cultivo *in vitro*; por tanto, también a ellos se aplica lo indicado en el punto anterior.
- 3) Embriones que al descongelarlos vivan y sean viables. Estos deben ser transferidos al útero de la madre adoptiva para llevar a término su desarrollo embrionario. Emplearlos para obtener sus células troncales supondría eliminar su vida que puede desarrollarse en el entorno favorable del útero femenino.

Esta propuesta pretende dar la posibilidad de investigar con ambas células troncales: adultas y embrionarias. Sin embargo, condena la obtención de células troncales embrionarias a partir de fuentes que suponen eliminar la vida de un individuo de la especie humana. Tal es el caso del empleo regulado, pero indiscriminado de todos los embriones sobrantes que han superado el plazo de cinco años de criopreservación que marca la ley, sin salvaguardar la vida del embrión viable y transferible al útero de una mujer.

ANEXO 1. FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

1. Aspectos científicos

- Altman J. (1969). Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *J Comp Neurol* 137, 433-457.
- Amit M, Carpenter MK, Inokuma M. *et al.* (2000). Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture. *Dev Biol* 227, 271-278.
- Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. (2001). Can stem cells cross lineage boundaries? *Nature Med* 7, 393-395.
- Anversa P, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B. (2002). Myocyte growth and cardiac repair. *J Mol Cell Cardiol* 34, 91-105.
- Arney KL, Bao S, Bannister AJ, Kouzarides T, Surani MA. (2002). Histone methylation defines epigenetic asymmetry in the mouse zygote. *Int J Dev Biol*. 46, 317-320.
- Arney KL, Erhardt S, Drewell RA, Surani MA. (2001). Epigenetic reprogramming of the genome from the germ line to the embryo and back again. *Int J Dev Biol*. 45, 533-40.
- Asashima M, Okada TS. (2001). Spemann's influence on Japanese developmental biology. *Int J Dev Biol* 45, 57-65.
- Bach SP, Renehan AG, Potten CS. (2000). Stem cells: the intestinal stem cell as a paradigm. *Carcinogenesis* 21, 469-476.
- Baker RK, Lyons GE. (1998). Embryonic stem cells and in vitro muscle development. *Curr Top Dev Biol* 38, 133-165.
- Balakier H, Casper RF. (1993). Experimentally induced parthenogenetic activation of human oocytes. *Hum Reprod* 8, 740-743.
- Barton ER, Morris L, Musaro A, Rosenthal N, Sweeney HL. (2002). Muscle-specific expression of insulin-like growth factor I counters muscle decline in mdx mice. *J Cell Biol* 157, 137-148.
- Betts DH, King WA. (1999). Telomerase activity and telomere detection during early bovine development. *Dev Genet* 25, 397-403.

- Bianco, P., Cossu, G. (1999). Uno, nessuno e centomila: searching for the identity of mesodermal progenitors. *Exp. Cell Res* 251, 257-263.
- Billon N, Jolicoeur C, Ying QL. *et al.* (2002). Normal timing of oligodendrocyte development from genetically engineered, lineage-selectable mouse ES cells. *J Cell Sci Pt18*, 3657-3665.
- Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. (1999). Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 283, 534-547.
- Boheler KR, Czyz J, Tweedie D. *et al.* (2002). Differentiation of pluripotent embryonic stem cells into cardiomyocytes. *Circ Res* 91, 189-201.
- Bradley A, Evans M, Kaufman MH, Robertson E. (1984). Formation of germ-line chimaeras from embryo-derived teratocarcinoma cell lines. *Nature* 309, 255-256.
- Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM. (2000). From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 290, 1775-1779.
- Brenner S, Dave W, Hewrskowitz H, Thomas R. (1990). Genes and development: molecular and logical themes. *Genetics* 126, 479-486.
- Brüstle O, Jones KN, Learish RD., *et al.* (1999). Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating transplants. *Science* 285, 754-756.
- Cai J, Wu Y, Mirua T, Pierce JL, Lucero MT, Albertine KH, Spangrude GJ, Rao MS. (2002). Properties of a Fetal Multipotent Neural Stem Cell (NEP Cell). *Dev Biol* 251, 221-240.
- Campbell KHS, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. (1997). Sheep cloned by nuclear transfer from cultured cells line. *Nature* 385, 810-813.
- Caplan AI, Bruder SP. (2001). Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Mol Med* 7, 259-264.
- Cervantes RB, Stirnger JR, Shao C. *et al.* (2002). Embryonic stem cells and somatic cells differ in mutation frequency and type. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 3586-3590.
- Clarke D, Frisen J. (2001). Differentiation potential of adult stem cells. *Curr Opin Genet Dev* 11, 575-580.
- Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Frisen J. (2000). Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 288, 1660-1663.
- Colman A, Kind A. (2000). Therapeutic cloning: concepts and practicalities. *Trends Biotechnol* 18, 192-196.

- Costantini LC, Lin L, Isacson O. (1997). Medial fetal ventral mesencephalon: a preferred source for dopamine neuron grafts. *Neuroreport* 8, 2253-257.
- D'Agostino D. (1994). Proliferation and differentiation of the small intestinal epithelium: from Petri dish to bedside. *It J Gastroenterol* 26, 459-470.
- Dani C. (1999). Embryonic stem cell-derived adipogenesis. *Cells Tissues Organs* 165,173-180.
- De Sutter P, Dozortsev D, Creslak J. *et al.* (1992). Parthenogenetic activation of human oocytes by puromycin. *J Assist Reprod Genet* 9, 328-337.
- De Sutter P, Dozortsev D, Vrijens P, *et al.* (1994). Cytogenetic analysis of human oocytes parthenogenetically activated by puromycin *J Assist Reprod Genet* 11, 332-338.
- Devine SM, Bartholomew AM, Mahmud N, Nelson M, Patil S, Hardy W, Sturgeon C, Hewett T, Chung T, Stock W, Sher D, Weissman S, Ferrer K, Mosca J, Deans R, Moseley A, Hoffman R. (2001). Mesenchymal stem cells are capable of homing to the bone marrow of non-human primates following systemic infusion. *Exp Hematol* 29,244-255.
- DiGirolamo CM, Stokes D, Colter D *et al.* (1999). Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. *Br J Haematol* 107, 275-281.
- Doetschman TC, Eistetter H, Katz M. *et al.* (1985). The *in vitro* development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium. *J Embriol Exp Morphol* 87, 27-45.
- Domen J. Weissman IL. (1999). Self-renewal, differentiation or death: regulation and manipulation of hematopoietic stem cell fate. *Mol Med Today* 5, 201-208.
- Drukker M, Katz G, Urbach A. *et al.* (2002). Characterization of the expression of MHC proteins in human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 9864-9869.
- Eguchi G. (1976). Transdifferentiation of vertebrate cells in cell culture. In: *Embryogenesis in Mammals*. New York: Elsevier. Ciba Foundation Symposium 40, 241-258
- Elsasser, W. (1987). *Reflections on the Theory of Organisms*, Orbis Publishing, Quebec.
- Englund U, Bjorklund A, Wictorin K, Lindvall O, Kokaia M. (2002). Grafted neural stem cells develop into functional pyramidal neurons and integrate into host cortical circuitry. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 17089-17094.

- Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alboren AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH. (1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4, 1313-1317.
- Eto K, Murphy R, Kerrigan SW. *et al.* (2002). Megakaryocytes derived from embryonic stem cells implicate CalDAG-GEFI in integrin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 2449-2456.
- Evans MJ. (1972). The isolation and properties of a clonal tissue culture strain of pluripotent mouse teratoma cells. *J Embryol Exp Morphol* 28, 163-176.
- Evans MJ, Kaufman MH. (1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292, 154-156.
- Goodell MA, Jackson KA, Majka SM, Mi T, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK. (2001). Stem cell plasticity in muscle and bone marrow. *Ann N Y Acad Sci* 938, 208-218.
- Gook DA, Osborn SM, Johnston WI. (1995). Parthenogenetic activation of human oocytes following cryopreservation using 1, 2-propanediol. *Hum Reprod* 10, 654-658.
- Guan K, Chang H, Rolletschek A, Wobus AM. (2001). Embryonic stem cell-derived neurogenesis. Retinoic acid induction and lineage selection of neuronal cells. *Cell Tissue Res* 305, 171-176.
- Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, Buzney EA, Khan MK, Flint AF, Kunkel LM, Mulligan RC. (1999). Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 401, 390-394.
- Hajkova P, Erhardt S, Lane N, Haaf T, El-Maari O, Reik W, Walter J, Surani MA. (2002). Epigenetic reprogramming in mouse primordial germ cells. *Mech Dev* 117, 15-23.
- Hardy K, Handsyde AH. (1996). Metabolism and cell allocation during parthenogenetic preimplantation mouse development. *Mol Reprod Dev* 143, 313-322.
- Hashimoto S, Itoh M, Nishimura M, Assai T. (2002). Effect of filgrastim administration for steady-state mobilization of peripheral blood stem cells. *Ther Apher* 6, 431-436.
- Hirose J, Kouro T, Igarashi H, Yokota T, Sakaguchi N, Kincade PW. (2002). A developing picture of lymphopoiesis in bone marrow. *Immunol Rev* 189, 28-40.
- Hogan B, Beddington R, Constantini F, Lacey E. (1994). *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, edn 2. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Holtzer H. (1978). Cell lineages, stem cells and the 'quantal' cell cycle concept. In: *Stem cells and tissue homeostasis*. Eds: B.I. Lord, C.S. Potten, and R.J. Cole. (Cambridge, New York: Cambridge University Press).
- Hory Y, Rulifson IC, Tsai BC. *et al.* (2002). Growth inhibitors promote differentiation of insulin-producing tissue from embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 16105-16110.
- Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. (2001). Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 107, 1395-1402.
- Jacobson L, Kahan B, Djamali A, Thomson J, Odorico JS. (2001). Differentiation of endoderm derivatives, pancreas and intestine, from rhesus embryonic stem cells. *Transplant Proc* 33, 674.
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. (2002). Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418, 41-49
- Jiang LI, Nadea JH. (2001). 129/Sv mice – a model system for studying germ cell biology and testicular cancer. *Mammal Genome* 12, 89-84.
- Jones EA, Tosh D, Wilson DI, *et al.* (2002). Hepatic differentiation of murine embryonic stem cells. *Exp Cell Res* 272, 15-22.
- Kahan BW, Ephrussi B. (1970). Developmental potentialities of clonal in vitro cultures of mouse testicular teratoma. *J Natl Cancer Inst* 44, 1015-1036.
- Karam SM. (1999). Lineage commitment and maturation of epithelial cells in the gut. *Front Biosci* 15, D286-D298.
- Kaufman MH, Evans MJ, Robertson EJ, Bradley A. (1984). Influence of injected pluripotential (EK) cells on haploid and diploid parthenogenetic development. *J Embryol Exp Morphol* 80, 75-86.
- Kaufman MH, Robertson EJ, Handyside AH, Evans MJ. (1983). Establishment of pluripotential cell lines from haploid mouse embryos. *J Embryol Exp Morphol* 73, 249-261.
- Kaufman MH, Sachs L. (1976). Complete preimplantation development in culture of parthenogenetic mouse embryos. *J Embryol Exp Morphol* 35, 179-190.
- Kawano Y, Takaue Y, Watanabe T, Abe T, Okamoto Y, Iwai A, Iwai T, Watanabe A, Ito E, Makimoto A, Nakagawa R, Watanabe H, Sato J, Suenaga K, Suzuya H, Ohnishi T, Kanamaru S, Kaneko M, Kuroda Y. (1999). Efficacy of the mobilization of peripheral blood stem cells by

granulocyte colony-stimulating factor in pediatric donors. *Cancer Res* 59:3321-3324.

Kim JH, Auerbach JM, Rodríguez-Gómez JA. *et al.* Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 418, 50-56.

Kleinsmith LJ, Pierce GB. (1964). Multipotentiality of single embryonal carcinoma cells. *Cancer Res* 24, 1544-1552.

Kocher AA, Schuter MD, Szabolcs MJ, Homma S, Edwards NM, Itescu S. (2001). Neurovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat. Med.* 7, 430-436.

Krause DS, Theise ND, Collector MI *et al.* (2001). Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 105,369-377.

Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, Neutzel S, Sharkis SJ. (2001). Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 105, 369-377.

Kubota C, Yamakuchi H, Todoro KI, Mizoshita K, Tabara N, Barber M, Yang X. (2000). Six cloned clones produced from adult fibroblast cells after long-term culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 97, 990-995.

Kuhn HG, Palmer TD, Fuchs E. (2001). Adult neurogenesis: a compensatory mechanism for neuronal damage. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 251, 152-158.

Lagasse E, Connors H, Al Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M. (2000). Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nature. Med.* 6, 1229-1234.

Lanza R. *et al.* (2000). Extension of cell life-span and telomere length in animals cloned from senescent somatic cells. *Science* 288, 665-669.

Leblond CP. (1964). Classification of cell populations on the basis of their proliferative behavior. *Nat Cancer Inst* 14, 119-150.

Levenberg S, Golub JS, Amit M, *et al.* (2002). Endothelial cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 4391-4396.

Lois C, Alvarez-Buylla A. (1994). Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* 264, 1145-1148.

Lovell-Badge R. (2001). The future for stem cell research. *Nature* 414, 88-91.

- Lumelsky N, Blondel O, Laeng P. *et al.* (2001). Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 292, 1389-1394.
- Maddox J. (1992). Finding wood among the trees. *Nature* 356,11.
- Majka SM, Jackson KA, Kienstra KA, Majesky MW, Goodell MA, Hirschi KK. (2003). Distinct progenitor populations in skeletal muscle are bone marrow derived and exhibit different cell fates during vascular regeneration. *J Clin Invest* 111, 71-79.
- Martin GR. (1981). Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 78, 7634-7638.
- Mauro A. (1961). Satellite cell of eskeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 9, 493-495.
- McCreath KJ, Howcroft J, Campbell KH, Colman A, Schnieke AE, Kind AJ. (2000). Production of gene-targeted sheep by nuclear transfer from cultured somatic cells. *Nature* 405, 1066-1069.
- McKay R. (2000). Stem cells—hype and hope. *Nature* 406, 361-364.
- Merrill BJ, Gat U, DasGupta R, Fuchs E. (2001). Tcf3 and Lef1 regulate lineage differentiation of multipotent stem cells in skin. *Genes Dev* 15, 1688-1705.
- Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA, McKercher SR. (2000). Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science* 290, 1779-1782.
- Minasi MG, Riminucci M, De Angelis L, Borello U, Berarducci B, Innocenzi A, Caprioli A, Sirabella D, Baiocchi M, De Maria R, Boratto R, Jaffredo T, Broccoli V, Bianco P, Cossu G. (2002). The meso-angioblast: a multipotent, self-renewing cell that originates from the dorsal aorta and differentiates into most mesodermal tissues. *Development* 129, 2773-2783.
- Mognetti B, Sakkas D. (1996). Defects in the allocation of cells to the inner cell mass and trophectoderm of parthenogenetic mouse blastocysts. *Reprod Fertil Dev* 8, 1193-1197.
- Moore A. (2001). Body heal thyself. *EMBO Rep* vol. 2.
- Morrison SJ. (2001). Stem cell potential: can anything make anything? *Curr Biol* 11, R7-R9. Skinner JE, Molnar M, Vybiral T, Mitra M. (1992). Application of chaos theory to biology and medicine. *Integ Physiol Behav Sci* 27, 39-53.

- Morrison SL, White PM, Zock C, Anderson DJ. (1999). Prospective identification, isolation by flow cytometry, and in vivo self-renewal of multipotent mammalian neural crest stem cells. *Cell* 96, 737-749.
- Morshead CM, van der Kooy KD. (2001). A new "spin" on neural stem cells?. *Curr Opin Neurobiol* 11, 59-65.
- Muechler EK, Graham MC, Huang KE. *et al.* (1989). Parthenogenesis in *Xenopus* eggs injected with centrosomes from synchronized human lymphoid cells. *J In vitro Fert Embryo Transf* 6, 335-337.
- Musaro A, McCullagh KJ, Naya FJ, Olson EN, Rosenthal N. (1999). IGF-1 induces skeletal myocyte hypertrophy through calcineurin in association with GATA-2 and NF-ATc1. *Nature* 400, 581-585.
- Musaro A, McCullagh K, Paul A, Houghton L, Dobrowolny G, Molinaro M, Barton ER, Sweeney HL, Rosenthal N. (2001). Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. *Nat Gene.* 27,195-200.
- Musaro A, Rosenthal N. (1999). Maturation of the myogenic program is induced by postmitotic expression of insulin-like growth factor I. *Mol Cell Biol* 19, 3115-3124.
- Odorico JS, Kaufman DS, Thomson JA. (2001). Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines. *Stem Cells* 19,193-204.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. (2001). Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 410, 701-705.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. (2001). Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 98, 10344-10349.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice; *Ann N Y Acad Sci* 938,221-229.
- Osawa M, Hanada K, Hamada H, Nakauchi H. (1996). Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD 34 low negative hematopoietic stem cell. *Science* 273, 242-245.
- Panicker M, Rao M. (2001). Stem cells and neurogenesis. Marshak, D.R., Gardner, D.K., and Gottlieb, D. eds. (Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press). 399-438.
- Penlou LI, Platonou ES, New DA. (2001). Induced parthenogenesis in oocytes. *In vitro cell der Biol Anim* 37, 440-444.

- Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD et al. (1999). Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 284, 1168-1170.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284,143-147.
- Poliard A, Nifuji A, Lamblin D. et al. (1995). Controlled conversion of an immortalized mesodermal progenitor cell towards osteogenic, chondrogenic, or adipogenic pathways. *J. Cell Biol* 130,1461-1472.
- Poole TJ, Finkelstein EB, Cox CM. (2001). The role of FGF and VEGF in angioblast induction and migration during vascular development. *Dev Dyn* 220, 1-17.
- Potten CS. (1991). Regeneration in epithelial proliferative units as exemplified by small intestinal crypts. *Ciba Found Symp* 160, 54-71.
- Potten CS, Booth C. (2002). Keratinocyte stem cells: a commentary. *J Invest Dermatol* 119, 888-899.
- Renard JP, Chastant S, Chesne P, Ricard C. et al. (1999). Lymphoid hypoplasia and somatic cloning. *Lancet* 353, 1489-1491.
- Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky, S. et al. (2001). Neural progenitors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 12, 1134-1140.
- Rhoton-Vlasak A, Lu PY, Barud KM. et al. (1996). Efficacy of calcium ionophore A23187 oocyte activation for generating parthenotes for human embryo resarch. *J Assist Reprod Genet* 13, 793-796.
- Risau W, Sariola H, Zerwes HG., et al. (1988). Vasculogenesis and angiogenesis in embryonic-stem-cell-derived embryoid bodies. *Development* 102, 471-478.
- Rosenthal MD, Wishnow RM, Sato GH. (1970). *In vitro* growth and differentiation of clonal populations of multipotential mouse cells derived from a transplantable testicular teratocarcinoma. *J Natl Cancer Inst* 44, 1001-1014.
- Sachinnidis A, Kolossov E, Fleischmann BK.et al. (2002). Generation of cardiomyocytes from embryonic stem cells experimental studies. *Herz* 27, 589-597.
- Saitou M, Barton SC, Surani MA. (2002). A molecular programme for the specification of germ cell fate in mice. *Nature* 418, 293-300.
- Schuldiner M, Eiges R, Eden A. et al. (2001). Induced neuronal differentiation of human embryonic stem cells. *Brain Res* 913, 201-205.

- Seale, P., and Rudnicki, M.A. (2000). A new look at the origin, function, and "stem cell" status of muscle satellite cells. *Dev. Biol.* 218, 115-124.
- Sekiya I, Larson BL, Smith JR, Pochampally R, Cui JG, Prockop DJ. (2002). Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality. *Stem Cells* 20, 530-541.
- Shamblott MJ. *et. al.* (1998). Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 13726-13731.
- Sherly J. (2002). Asymmetric Cell Kinetics Genes: the key to expansion of adult stem cells in culture. *Stem Cells* 20, 561-572.
- Shi Q, Rafi S, Wu MH, Ishidra A, Fujita Y, Sauvage LR, Moore MA, Hammond WD. (1998). Evidence for circulating bone marrow derived endothelial cells. *Blood* 92, 362-367.
- Six I, Gasan G, Mura E, Bordet R. (2003). Beneficial effect of pharmacological mobilization of bone marrow in experimental cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol* 458, 327-328.
- Shimizu N, Asai T, Hashimoto S, Narita M, Kobayashi M, Ito M, Onoda M, Yokota A, Cho R, Nakaseko C, Nishimura M, Saito Y. (2002). Mobilization factors of peripheral blood stem cells in healthy donors. *Ther Apher* 6,413-418.
- Slack JM. (2000). Stem Cells in Epithelial Tissues. *Science* 287, 1431-1433.
- Soria B, Roche E, Berna G. *et al.* (2000). Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* 49,157-162.
- Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. (2001). Stem cells find their niche. *Nature* 414, 98-104.
- Stevens LC. (1967). Origin of testicular teratomas from primordial germ cells in mice. *J Natl Cancer Inst* 38, 549-552.
- Stevens LC. (1967). The biology of teratomas. *Adv Morphogen* 6,1-31.
- Stevens LC. (1980). Teratocarcinogenesis and spontaneous parthenogenesis in mice. *Results Probl Cell Differ* 11, 265-274.
- Sun XS, Yue KZ, Zhon JB, *et al.* (2002). *In vitro* spontaneous parthenogenetic activation of golden hamster oocytes. *Theriology* 57, 845-851.

- Surani MA, Barton SC, Kaufman MH. (1977). Development to term of chimaeras between diploid parthenogenetic and fertilised embryos. *Nature* 270, 601-603.
- Takasahi T, Kalka C, Masuda H, Silver M, Magner M, Isner JM, Asahara T. (1999). Ischemia and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 5, 434-438.
- Tamas V. (2002). Complexity. *Nature* 418, 131.
- Taylor AS, Brande PR. (1994). The early development and DNA content of activated human oocytes and parthenogenetic human embryos. *Hum Reprod* 9, 2389-2397.
- Temple S, Alvarez-Buylla A. (1999). Stem cells in the adult mammalian central nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 9, 135-141.
- Theise S, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, Krause DS. (2000). Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 32,11-16.
- Thomson JA, Odorico JS. (2000) Human embryonic stem cell and embryonic germ cell lines. *Trends Biotechnol* 18, 53-57.
- Thomson JA. *et al.* (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282, 1145-1147.
- Tichelli A, Passweg J, Hoffmann T, Gregor M, Kuhne T, Favre G, Wodnar-Filipowicz A, Gratwohl A. (1999). Repeated peripheral stem cell mobilization in healthy donors: time-dependent changes in mobilization efficiency. *Br J Haematol* 106, 152-158.
- Toda H, Fabel K, Palmer T. (2003). Copernican stem cells: regulatory constellations in adult hippocampal neurogenesis. *J Cell Biochem* 88, 41-50.
- Verfaillie CM. (1998). Adhesion receptors as regulators of the hematopoietic process. *Blood* 92, 2609-2612.
- Vogel G. (2000). Cell biology. Stem cells: new excitement, persistent questions. *Science* 2000, 290,1672-1674.
- Watt FM, Hogan BL. (2000). Out of Eden: stem cells and their niches. *Science* 287,1427-1430.
- Weissman IL. (2000). Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 100, 157-168.
- Western PS, Surani MA. (2002). Nuclear reprogramming--alchemy or analysis? *Nat Biotechnol* 20, 445-446.

- Wiesneth M, Schreiner T, Friedrich W, Bunjes D, Duncker C, Krug E, Maccari B, Muller S, Nowak S, Kubanek B. (1998). Mobilization and collection of allogeneic peripheral blood progenitor cells for transplantation. *Bone Marrow Transplant* 21, S21-S24. Kind A, Colman A. (1999). Therapeutic cloning: needs and prospects. *Semin Cell Dev Biol.* 10, 279-286.
- Winston N, Johnson M, Pickevicius S. *et al.* (1991). Parthenogenetic activation and development of fresh and aged human oocytes. *Fertil Steril* 56, 904-912.
- Woodbury D, Reynolds K, Black IB. (2002). Adult bone marrow stromal stem cells express germline, ectodermal, endodermal, and mesodermal genes prior to neurogenesis. *J Neurosci Res* 69, 908-917.
- Xu C, Police S, Rao N. *et al.* (2002). Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Circ Res* 91, 501-508.
- Yamane T, Hayashi S, Mizoguchi M, *et al.* (1999). Derivation of melanocytes from embryonic stem cells in culture. *Dev Dyn* 216, 450-458.
- Yamashita J, Itoh H, Hirashima M, Ogawa M, Yurugi T, Nakao K, Nishikawa S. (2000). Flk-1 positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors. *Nature* 408, 92-96.
- Zappone MV, Galli R, Catena R, Meani N, De Biasi S, Mattei E, Tiveron C, Vescovi AL, Lovell-Badge R, Ottolenghi S, Nicolis SK. (2000). Sox2 regulatory sequences direct expression of a (beta)-geo transgene to telencephalic neural stem cells and precursors of the mouse embryo, revealing regionalization of gene expression in CNS stem cells. *Development* 127, 2367-2382.
- Zawada WM, Cibelli JB, Choi PK, Clarkson ED, Golueke PJ, Witta SE, Bell KP, Kane J, Ponce de Leon FA, Jerry DJ, Robl JM, Freed CR, Stice SL. (1998). Somatic cell cloned transgenic bovine neurons for transplantation in parkinsonian rats. *Nat Med* 4, 569-574.
- Zhang SC, Wernig M, Duncan ID. *et al.* (2001). *In vitro* differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 12, 1129-1133.
- Zhu AJ, Watt FM. (1999). Beta-catenin signalling modulates proliferative potential of human epidermal keratinocytes independently of intercellular adhesion. *Development* 126, 2285-2298.
- Zulewski, H., Abraham, E.J., Muller, B., Vallejo, M., Thomas, M.K., and Habener, J.F. (2001). Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate *ex vivo* into pancreatic endocrine, exocrine, and hepatic phenotypes. *Diabetes* 50, 521-533.

2. Aspectos éticos

- Alonso C. (1989). Reflexiones sobre cuestiones de vida y muerte: hacia un nuevo paradigma de comprensión del valor ético de la entidad biológica humana en desarrollo. En F. Abel, E. Bone, J.C. Harvey (eds.), *La vida humana: Origen y desarrollo*, Madrid, UPC, pp. 57-81.
- Alonso C. (2002). Terapia génica: realidades y promesas. En J.J. Ferrer y J. L. Martínez (eds.), *Bioética: un diálogo plural*, Madrid, UPC, pp. 331-366.
- Comité de Expertos sobre Bioética y Clonación. (1999). *Informe sobre clonación. En las fronteras de la vida*, Madrid, Fundación de Ciencias de la Salud.
- Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida. (1999). Primer Informe, Madrid.
- Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida. (2000). Segundo Informe: *Investigación con embriones sobrantes*, Madrid.
- Committee on the Biological and Biomedical Applications of Stem Cell Research, National Research Council and Institute of Medicine. (2001). *Stem Cells and the Future of Regenerative Medicine*, National Academy Press, Washington D.C.
- Consejo de Europa/Council of Europe. Convenio para la Protección de los Derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina. (1997). Madrid, Asociación de Bioética Fundamental y Clínica.
- Cortina, A. (1993). *Ética aplicada y democracia radical*, Madrid, Tecnos.
- Cortina A. (2002). Bioética transnacional como quehacer público. En J.J. Ferrer y J. L. Martínez (eds.), *Bioética: un diálogo plural*, Madrid, UPC, pp. 541-554.
- European Science Foundation Policy Briefing. (2001). *Human stem cell research: scientific uncertainties and ethical dilemmas* nº 14.
- Gracia D. (1988). *Fundamentos de Bioética*, Madrid, EUEDEMA.
- Gracia D. (1989) El estatuto del embrión. En J. Gafo (ed.), *Procreación humana asistida*, Madrid, UPC, pp. 79-110.
- Grigger BJ, Kaebnick GE. (1999). Symposium: Human primordial stem cells. En *Hastings Center Report*, 29, 30-48.
- Geron Ethics Advisory Board (1999). Research with human embryonic stem cells: ethical considerations. *Hastings Center Report*, 29, 31-36.

- Honnenfelder L. (1997). Naturaleza y status del embrión. Aspectos filosóficos. *Cuadernos de Bioética* 37, 1034-1047.
- Kant, I. (1946). *La Fundamentación de la Metafísica de las Costumbres*. Espasa Calpe.
- Lacadena JR. (2000). Embriones humanos y cultivo de tejidos: reflexiones científicas, éticas y jurídicas. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 12,191-212
- Lacadena JR. (2002). *Genética y ética*, Madrid, Universidad Pontificia Comillas.
- National Bioethics Advisory Commission. (1999). *Ethical Issues in Human Stem Cell Research*, Executive Summary, Maryland.
- Rager G. (1997). Embrión-hombre-persona. Acerca de la cuestión del comienzo de la vida personal. *Cuadernos de Bioética* 31, 1048-1062.

3. Aspectos jurídicos

- AAVV. (2001). *Genética y Derecho, Estudios de Derecho Judicial*, Consejo General del Poder Judicial, Madrid.
- AAVV. (2003). *Genética y Derecho II, Estudios de Derecho Judicial*, Consejo General del Poder Judicial, Madrid.
- Ansuategui FJ. (1999). Derechos humanos y ensayos clínicos. Derechos y libertades. *Revista del Bartolomé de las Casas* 7, 115-130.
- Arruego G, Chueca R. (2000). Tribunal Constitucional y nuevos escenarios de la biomedicina. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 12,91-111.
- Bellver V. (1999). El Tribunal Constitucional ante la Ley sobre Técnicas de Reproducción Asistida: una valoración crítica. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 11, 119-144.
- Bellver V. (2000). *¿Clonar? Ética y derecho ante la clonación humana*, Biblioteca de derecho y ciencias de la vida, Servicio de Publicaciones del Ministerio de Sanidad y Consumo y Editorial Comares, Madrid - Granada.
- Bustos JE. (1996). *El Derecho civil ante el reto de la nueva genética*, Dykinson, Madrid.
- Chueca R. (1998). La experimentación con fármacos en humanos: un nuevo escenario para derechos fundamentales. *Revista Aragonesa de Administración Pública* 401-421.

- Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida. (1999). Primer Informe, Madrid.
- Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida. (2000). Segundo Informe: *Investigación con embriones sobrantes*, Madrid.
- Comité de Expertos sobre Bioética y Clonación, 1999. *Informe sobre clonación. En las fronteras de la vida*. Instituto de Bioética, Fundación de Ciencias de la Salud, Madrid.
- Femenía PJ. (1999). *Status jurídico del embrión humano, con especial consideración al concebido in vitro*. Madrid
- Friele MB. (2001). Embryo Experimentation in Europe, Europäische Akademie, Bad Neuenahr-Ahrweiler.
- Gómez Y. (1994). *El derecho a la reproducción humana*, Madrid.
- Gómez Y. (2000). *Las mujeres y la delimitación constitucional de la bioética*. En "Mujeres y Constitución en España". Centro de Estudios Políticos y Constitucionales, Madrid, pp. 623-668.
- González L. (1998). Comentario a la Sentencia del Tribunal Constitucional 212/1996 de 19 de diciembre de 1996 I. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 9, 183-192.
- González L. (1999). Comentario a la Sentencia del Tribunal Constitucional 212/1996 de 19 de diciembre de 1996 II. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 10, 157-192.
- Hernández JU. (2002). La protección penal del embrión preimplantatorio En "Genética y Derecho Penal", Cátedra Interuniversitaria Fundación BBVA – Diputación Foral de Bizkaia de Derecho y Genoma Humano, Universidad de Deusto y Universidad del País Vasco y Editorial Comares, Bilbao – Granada pp. 109-126.
- Higuera JF. (1995). *El Derecho Penal y la Genética*, Trivium, Madrid.
- Hidalgo MC. (2002). *Análisis jurídico-científico del concebido artificialmente*, Bosch, Barcelona.
- Junquera R. (2000). El embrión humano: una realidad necesitada de protección. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 12, 31-45.
- Junquera R. (1998). *Reproducción asistida, Filosofía ética y Filosofía jurídica*, Tecnos, Madrid.
- Lema C. (2000). Los problemas pendientes de la regulación jurídica española sobre reproducción asistida: la sentencia del Tribunal Constitucional y el

primer Informe de la Comisión Nacional de Reproducción Asistida I. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review*, 12, 47-66.

Lema C. (2000). Los problemas pendientes de la regulación jurídica española sobre reproducción asistida: la sentencia del Tribunal Constitucional y el primer Informe de la Comisión Nacional de Reproducción Asistida II. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 13, 103-118.

Matthiessen L. (2002). Survey on opinions from National Ethics Committees or similar bodies, public debate and national legislation in relation to human embryonic stem cell research and use, European Commission, Research Directorate-General, Brussels, October 2002.

Mendizábal R. (2001). *Jornadas sobre el Genoma Humano y el Derecho*, Escola Galega de Administración Pública, Madrid

Observatori de Bioètica i Dret: (2000). *Documento sobre investigación con embriones*, Barcelona.

Observatori de Bioètica i Pret. (2001). *Documento sobre células madre embrionarias*, Barcelona.

Pardo J. (1997). A vueltas con el artículo 15 CE y otras cuestiones más o menos recurrentes de nuestro Derecho constitucional (Un comentario a la STC 212/1996, de 19 de diciembre). *Revista Española de Derecho Constitucional* 51.

Pelayo A. (2002). *Bioética y experimentación con seres humanos*, Biblioteca de derecho y ciencias de la vida, Editorial Comares, Granada.

Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review. (1999). El Tribunal Constitucional español y las técnicas de reproducción asistida 11: Editorial.

Roca E. (1994). El Derecho perplejo: los misterios de los embriones. *Revista de Derecho y Genoma Humano* 1, 121-151.

Roca E. (2000). Embriones, padres y donantes. La constitucionalidad de la ley 35/1988, de reproducción asistida humana, según STC 116/1999, en *Revista Jurídica de Catalunya XCIC*, nº 1.

Romeo CM. (2002). El Convenio del Consejo de Europa sobre Derechos Humanos y Biomedicina: previsiones sobre la necesidad de adaptaciones del Derecho español, Comisión de Ciencia y Tecnología, Senado, Cortes Generales, Madrid, 18 de septiembre de 2002.

Romeo CM. (2002). El Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina. Su entrada en vigor en el ordenamiento jurídico español, Cátedra

Interuniversitaria Fundación BBVA – Diputación Foral de Bizkaia de Derecho y Genoma Humano, Universidad de Deusto y Universidad del País Vasco y Editorial Comares, Bilbao – Granada.

Romeo CM. (2002). Embryonic stem cell research and therapy: the need for a common european legal framework. *Bioethics* 16, 557-567.

Romeo CM. (2002). La investigación y la terapia con células madre embrionarias: hacia un marco jurídico europeo. *La Ley* 5467, 1-7.

Romeo CM. (2002). *Los genes y sus leyes. El derecho ante el genoma humano*, Cátedra Interuniversitaria Fundación BBVA – Diputación Foral de Bizkaia de Derecho y Genoma Humano, Universidad de Deusto y Universidad del País Vasco y Editorial Comares, Bilbao – Granada.

Serrano JM. (1992). *Cuestiones de bioética*, Speiro, Madrid.

Serrano JM. (1997). El clon Dolly. *Cuadernos de Bioética* 29, 696-697.

Vidal J, Benítez IF, Vega AM. (1998). *Derechos reproductivos y técnicas de reproducción asistida*, Granada.

Vidal J. (1998). La protección de la persona en la investigación clínica. *Derecho y Salud* 6, 120-129.

Vidal J. (2000). Comentario a la Sentencia del Tribunal Constitucional de 17 de Junio de 1999 resolviendo el Recurso de inconstitucionalidad número 376/89 contra la Ley 35/1988, de 22 de Noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Law* 12, 113-137.

ANEXO 2. LISTADO DE EXPERTOS EXTERNOS

Manuel García Verdugo

Catedrático de Parasitología y Biología Celular. Universitat de València

Diego Gracia Guillén

Catedrático de Historia de la Medicina. Universidad Complutense de Madrid
Director del Instituto de Bioética. Fundación de Ciencias de la Salud

Yolanda Gómez Sánchez

Catedrática de Derecho Constitucional. Universidad Nacional de Educación a Distancia

Ramón Gomis de Barbarás

Jefe del Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clinic de Barcelona

Juan Ramón Lacadena

Catedrático de Genética. Universidad Complutense de Madrid

Natalia López Moratalla

Catedrática de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Navarra

Manuel López Pérez

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Zaragoza

Encarna Roca i Trias

Catedrática de Derecho Civil. Universidad de Barcelona

Manuel Serrano Ríos

Jefe del Servicio de Medicina Interna II, Hospital Clínico San Carlos de Madrid

José Miguel Serrano Ruiz-Calderón

Profesor Titular de Filosofía del Derecho. Universidad Complutense de Madrid

AGRADECIMIENTOS

Los miembros del Comité Asesor de Ética para la Investigación Científica y Técnica agradecen todo el trabajo de apoyo logístico recibido por parte de D^a Sonia Covadonga Antolín Martínez y D^a Rosa Capeáns Garrido.