

UNIVERSIDAD CEU SAN PABLO



TESIS DOCTORAL:

**Análisis bioético de las terapias  
neuroregenerativas basadas  
en el uso de células madre**

AUTOR:

**Luis Vivanco Sierralta**

DIRECTOR:

**Dr. Alfredo Martínez Ramírez**

Centro de Investigación Biomédica de la Rioja – CIBIR

Logroño, 2010



D. **Alfredo Martínez Ramírez**, Doctor en Biología y Jefe de Grupo de Investigación en Oncología y Angiogénesis del Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR); y D. **Jesús Peláez Fernández**, Doctor en Medicina y Profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad CEU San Pablo,

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado **“Análisis bioético de las terapias neuroregenerativas basadas en el uso de células madre”**, ha sido realizado por D. **Luis Vivanco Sierralta**, Licenciado en Biología, bajo su dirección en el Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR). Dicho trabajo se presenta para optar el grado de Doctor.

Y para que conste, se expide y firma el presente en Logroño a 1º de Diciembre del 2010.

Fdo. Alfredo Martínez Ramírez, Director.

Fdo. Jesús Peláez Fernández, Director.

Fdo. Luis Vivanco Sierralta, doctorando.



## Agradecimientos

Jerome Lejeune (1926-1994), un reconocido genetista francés y descubridor del Síndrome de Down en 1959, supo dejar dos grandes lecciones a la comunidad científica de nuestro tiempo. La primera se puede resumir en su propia trayectoria profesional, ampliamente conocida y que encontró el punto más alto en el descubrimiento de la trisomía del par veintiuno como causa del síndrome de Down. Un hallazgo que llegó como fruto maduro de una apasionada búsqueda de la verdad, traducida en el esfuerzo de perseverantes años de estudio y dedicación responsable. La segunda lección, más importante que la anterior aunque tal vez menos conocida, la ofreció en el zenit de su carrera científica. A comienzos de la década de 1960, Lejeune era el genetista más importante de Francia y uno de los más reconocidos científicos a nivel internacional. Su nombre se voceaba como la candidatura más fuerte al premio Nobel de Medicina, no obstante, el ambiente social, profundamente encrespado por ideologías controlistas y abortistas, había hecho mella en el mundo de la medicina y de la ciencia. Lejeune, que se reconocía en total oposición a la negación de la verdad moral que supone la instrumentalización y destrucción de la vida humana, no dudó en exponer su opinión a pesar de que ésta pudiera resultar políticamente incorrecta. Tal como lo resumió en su célebre frase *“Health by death”* refiriéndose al giro político que observó en los *National Institutes of Health* de esos años respecto a este tema. Para Lejeune, el ejercicio de una libertad auténtica sólo es posible en la medida que éste no se doblegue ante cualquier tipo de coacción, sea ésta mediática, económica, moral o social, incluso aunque ella suponga el escarnio público o el olvido profesional, que en el caso de este investigador muy posiblemente le valiera perder el mismo premio Nobel.

Me parecía conveniente empezar esta parte dedicada a los agradecimientos con esta breve reflexión porque fue el temprano conocimiento de este hombre y la sintonía personal con los valores que le sirvieron de motivación y guía a lo largo de su vida lo que ha permitido que el

día de hoy estas páginas puedan ser leídas. Es allí donde deposito mi primera y más sincera gratitud.

En segundo lugar quisiera expresar mis agradecimientos a aquellas personas que me brindaron su generosa y dedicada ayuda en el desarrollo directo de este estudio. De manera especial al Dr. Alfredo Martínez, Director de esta tesis; a los profesores Roberto Andorno, de la Universidad de Zurich, por tener la gentileza de revisar la parte correspondiente al campo biojurídico; y Mons. Jean Laffitte y Jacques Suaudeau, de la Pontificia Academia para la Vida, por sus interesantes aportes desde el campo bioético en el tratamiento de tan compleja materia.

Asimismo, quisiera agradecer la hospitalidad del Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR), expresada en la calidez humana y alto nivel de los profesionales que lo integran. De manera particular a D. Eduardo Mirpuri, coordinador de investigación; a los miembros de nuestro grupo de investigación: a Josune, Laura O., Iñaki, Laura B., y Sonia; y de manera extensiva a todos los demás investigadores, al personal administrativo, de biblioteca, y de servicios, por su apoyo constante, generosa disposición, tiempo y amistad.

No puedo dejar pasar la oportunidad sin antes expresar mi recuerdo y gratitud a la Dra. Da. María Dolores Vila-Coro, Q.E.P.D., y al Dr. Nicolás Jouve de la Barreda, de la Cátedra UNESCO de Bioética y Biojurídica, institución donde inicié los estudios doctorales. Del mismo modo que a la Universidad CEU San Pablo, institución donde los concluyo el día de hoy, y al Programa Alban, institución que financió mi estancia doctoral en España a lo largo de estos años.

Finalmente, quisiera expresar un especial agradecimiento y cariño a mis padres y amigos.

## Abreviaturas

Ach: acetylcholine  
ACK: asymmetric cell kinetics  
AD: Alzheimer disease  
ALS: amyotrophic lateral sclerosis  
AM: adrenomedullin  
ANP: natriuretic peptide  
ANS: autonomic nervous system  
ApoER2: Apolipoprotein-E receptor-2  
APP: amyloid precursor protein  
ASC: adult stem cell  
A $\beta$ : amyloid beta  
BBB: blood brain barrier  
BDNF: brain-derived neurotrophic factor  
BMP: bone morphogenetic proteins  
CAHBI: Ad hoc Committee of experts on Bioethics  
CB: carotid body  
CDBI: Steering Committee on Bioethics  
CE: Council of Europe  
CIOMS: Council for International Organizations of Medical Sciences  
CNS: central nervous system  
CR: Cajal-Retzius cell  
CSF: cerebrospinal fluid  
CSF: cerebrospinal fluid  
DZ: dizygotic twins  
ECC: embryonal carcinoma cells  
EEC: European Economic Community  
EMA: European Medicines Agency  
ENS: enteric nervous system  
EPF: early pregnancy factor  
EPO: erythropoietin  
ESC: embryonic stem cell  
ET: endothelin  
EU: European Union  
FGF: fibroblast growth factor  
fNPSC: fetal neuroprogenitor stem cell  
GCP: Good clinical practice  
GDNF: glial derived neurotrophic factor  
gPS: germline-derived pluripotent stem cell  
GSC: germline stem cell

Hcg: human chorionic gonadotropin  
HD: Huntington disease  
HSC: hematopoietic stem cell  
ICM: inner cell mass  
iPS: induced pluripotent stem cell  
JAM: junctional adhesion membrane  
LGE: lateral ganglionic eminence  
LIF: Leukemia inhibitory factor  
MaSC: mammary stem cell  
MeSH: Medical Subject Headings  
MGE: medial ganglionic eminence  
MSC: mesenchymal stem cell  
MSN: medium spiny neuron  
MZ: monozygotic twins  
NA: noradrenaline  
NGF: nerve growth factor  
NPSC: neuroprogenitor stem cell  
OB: olfactory bulb  
OEC: olfactory ensheathing cell  
PD: Parkinson disease  
PGC: primordial germ cells  
PGD: preimplantatory genetic diagnosis  
PMC: post-mitotic cell  
PNS: peripheral nervous system  
QKI: Quaking protein  
RiPS: RNA-induced pluripotent stem cell  
RMS: rostral migratory stream  
SC: stem cell  
SGZ: subgranular zone  
Shh: Sonic hedgehog  
SNCT: somatic cell nuclear transfer  
SNS: somatic nervous system  
STAR: Signal Transduction and Activation of RNA  
SVZ: subventricular zone  
TAP: transient amplifying population  
TGF- $\beta$ : Transforming growth factor  $\beta$   
TJ: tight junction  
UCB: umbilical cord blood  
UNESCO: United Nations Educational, Scientific and Cultural and Organization  
VLDLR: Very low density lipoprotein receptor  
WHO: World Health Organization  
WJ: Wharton jelly  
WMA: World Medical Association  
Wnt: Wntless Integration

# Índice

---

<b>I. Resumen</b> .....	13
<b>II. El hecho biomédico</b> .....	21
1. Definiciones y conceptos generales.....	21
1.1. Las células madre.....	21
1.2. Auto-regeneración y potencialidad .....	24
1.2.1 Auto-regeneración.....	24
1.2.2 Potencialidad.....	25
1.3. Fuentes de obtención .....	29
1.3.1 Células madre embrionarias.....	29
1.3.2 Células madre de cordón umbilical .....	31
1.3.3 Células madre adultas.....	32
1.3.4 Células madre inducidas (iPS).....	33
2. El sistema nervioso humano.....	37
2.1. Formación y desarrollo temprano .....	37
2.1.1 El comienzo del desarrollo embrionario: las primeras dos semanas .....	38
2.1.2 De la gastrulación a la neurulación embrionaria: tercera semana.....	40
2.2 Formación del sistema nervioso central .....	44
2.2.1 La médula espinal .....	44
2.2.2 El encéfalo .....	46
2.2.3 Estructuras complementarias .....	50

2.3. Formación del sistema nervioso periférico .....	53
2.3.1 Organización y funcionamiento .....	53
2.3.2 Desarrollo de las prolongaciones nerviosas .....	56
2.4. Neurogénesis y migración celular .....	57
2.4.1 Regulación de la neurogénesis embrionaria .....	58
2.4.2 Neurogénesis en la corteza cerebral .....	59
2.4.3 Neurogénesis en la corteza cerebelar .....	62
2.4.4 Migración celular y desarrollo de zonas secundarias de neurogénesis .....	63
2.4.5 Neurogénesis postembrionaria y adulta .....	65
3. Enfermedades del sistema nervioso potencialmente beneficiarias de una terapia celular	67
3.1. Enfermedad de Alzheimer .....	67
3.1.1 La enfermedad .....	67
3.1.2 Estrategias terapéuticas y líneas de desarrollo asociadas al uso de SCs .....	69
3.2. Enfermedad de Parkinson .....	70
3.2.1 La enfermedad .....	70
3.2.2 Estrategias terapéuticas y líneas de desarrollo .....	71
3.3. Enfermedad de Huntington .....	74
3.3.1 La enfermedad .....	74
3.3.2 Estrategias terapéuticas y líneas de desarrollo .....	74
3.4. Esclerosis lateral amiotrófica .....	76
3.4.1 La enfermedad .....	76
3.4.2 Estrategias de tratamiento y líneas de investigación .....	76
3.5. Enfermedades cerebrovasculares .....	79
3.5.1 Descripción .....	79
3.5.2 Estrategias terapéuticas y tratamientos en desarrollo .....	80
3.6. Consideraciones finales .....	81
<b>III. Aspectos antropológicos .....</b>	<b>83</b>
1. Trasplantes y enfermedades neurodegenerativas .....	83
2. Estrategias terapéuticas actualmente en desarrollo .....	86
2.1. Trasplante de células neuroprogenitoras a partir de cadáveres .....	86
2.2. El trasplante a partir del tejido del propio paciente .....	87
2.3. El trasplante a partir del tejido de un donante vivo .....	88
2.4. El trasplante de cordón umbilical .....	88

2.5. El trasplante a partir de tejido fetal .....	89
2.6. El trasplante a partir de tejido embrionario.....	92
3. Algunas consideraciones éticas generales .....	99
3.1. Defensa de la vida del donante y del receptor .....	100
3.2. El consentimiento informado .....	101
3.3. Protección de la identidad personal .....	101
<b>IV. Aspectos normativos.....</b>	<b>103</b>
1. Consideraciones preliminares .....	103
1.1. Experimentar con seres humanos .....	104
1.2. Terapias basadas en el uso de células madre.....	105
2. Normativa en materia de experimentación con seres humanos .....	105
2.1. A nivel internacional .....	106
2.1.1 El Código de Nuremberg .....	106
2.1.2 Declaración de Helsinki.....	107
2.1.3 Pautas éticas internacionales de la CIOMS .....	108
2.1.4 Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos .....	109
2.1.5 Buenas prácticas clínicas.....	110
2.1.6 El Informe Belmont.....	111
2.2. A nivel europeo.....	112
2.2.1 Normativa derivada del Consejo de Europa.....	112
2.2.2 Normativa derivada de la Unión Europea.....	118
2.3. A nivel español.....	123
2.3.1 Ley 30/1979, sobre extracción y trasplante de órganos.....	124
2.3.2 Real Decreto 1301/2006, sobre el uso en humanos de células y tejidos humanos .....	124
2.3.3 Ley 29/2006, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios.....	126
2.3.4 Ley 14/2007, de investigación biomédica.....	127
<b>V. Discusión y valoración bioética .....</b>	<b>131</b>
1. Del conocimiento científico a la valoración bioética .....	131
1.1. Limitaciones del método científico.....	131
1.2. Meta-bioética y bioéticas cognitivista y no cognitivista .....	132
1.3. Principios bioéticos .....	134

1.3.1 Según el personalismo ontológico.....	134
1.3.2 Según el principialismo .....	135
2. Valoración bioética y legal.....	136
2.1. Valoración desde el personalismo ontológico.....	137
2.1.1 El principio de defensa de la vida física .....	137
2.1.2 El principio de libertad y responsabilidad.....	138
2.1.3 El principio de totalidad o principio terapéutico .....	138
2.1.4 El principio de sociabilidad y subsidiariedad.....	140
2.2 Valoración desde el principialismo .....	141
2.2.1 El principio de respeto a la autonomía .....	141
2.2.2 El principio de beneficencia .....	142
2.2.3 El principio de no maleficencia.....	142
2.2.4 El principio de justicia .....	143
2.3 Valoración desde los principios secundarios.....	143
2.3.1 El principio del <i>mal menor</i> .....	143
2.3.2 El principio del <i>doble efecto</i> .....	145
2.4. Valoración desde los principios jurídicos .....	146
2.4.1 El principio de precaución .....	146
2.4.2 El principio de prevención.....	147
2.5. Observaciones finales .....	147
<b>VI. Conclusiones .....</b>	<b>149</b>
<b>VII. Referencias bibliográficas .....</b>	<b>153</b>

# I. Resumen

---

El sistema nervioso, el sistema de mayor complejidad entre todos los que integran el cuerpo humano, es el responsable del control de muchas de las funciones vitales de cada individuo. Esto explica por qué su correcto desarrollo resulta esencial dentro de la ontogénesis humana. Este hecho también explica por qué la neurogénesis, el proceso biológico responsable de la formación del sistema nervioso, es uno de los eventos de más larga duración y complejidad a lo largo del desarrollo embrionario y fetal. E incluso, por qué ciertos aspectos estructurales y funcionales del sistema, sin mencionar el desarrollo de las capacidades cognitivas, no terminan de completarse hasta momentos muy posteriores al mismo nacimiento.

Dentro del complejo circuito nervioso, el cerebro cumple un papel esencial como el principal centro de control y de regulación corporal. En él se concentra el mayor número de neuronas y otros tipos de células nerviosas especializadas responsables de un sinnúmero de funciones. Protegiendo al cerebro existe una compleja red formada por las meninges y por la barrera hemato-encefálica (*blood brain barrier*, BBB). Ésta última envuelve los vasos sanguíneos que llegan al cerebro protegiéndolo frente a cualquier tipo de sustancia potencialmente tóxica que pudiera estar presente en el torrente sanguíneo. El cerebro y la médula espinal cuentan con su propio fluido nervioso, el líquido céfalo-raquídeo (*cerebrospinal fluid*, CSF). Algunos autores han visto cierta analogía entre este líquido y el fluido sanguíneo debido a las funciones de comunicación, protección y transporte que en él se dan.

Hace poco menos de cincuenta años, ciertos estudios en el campo de la biología celular permitieron el hallazgo de las células madre. Estas células, a diferencia de otros tipos celulares, poseen dos características que las hacen únicas: por un lado, una condición de inmortalidad derivada de una constante capacidad de autoregeneración mitótica y altos niveles de telomerasa; por otro, una capacidad de diferenciación hacia distintos tipos celulares conocida como potencialidad. Desde los primeros hallazgos hasta el día de hoy, son numerosas las investigaciones que han permitido confirmar la presencia de células madre en distintas regiones del ser humano. En años recientes, el sistema nervioso, y más precisamente, el cerebro humano ha demostrado ser otra fuente natural de células madre. Se sabe que las células madre presentes en el cerebro son responsables del control, protección, regulación, y regeneración celular de ciertas áreas del sistema nervioso. Los datos obtenidos a partir de la investigación con estas células han echado por tierra el clásico paradigma de que la neurogénesis era una condición ausente en el individuo adulto. Hoy se sabe que la neurogénesis no sólo no cesa al término del desarrollo embrionario y fetal sino que permanece de manera muy activa en regiones cerebrales específicas. Dos de ellas han sido claramente identificadas: la zona subventricular de los hemisferios laterales (*subventricular zone, SVZ*), y la zona subgranular de la región del hipocampo (*subgranular zone, SGZ*). Se ha demostrado además que desde la primera de ellas fluye un torrente continuo de células madre adultas en dirección rostral hasta alcanzar los bulbos olfatorios (*olfactory bulbs, OB*) donde dan origen a neuronas y células de la glía.

Sin poner en duda el lugar preferente que el cerebro posee dentro del fino engranaje nervioso, no dejan de tener un papel igualmente importante las demás regiones que conforman el sistema nervioso humano, incluyendo la médula espinal, que junto con el cerebro conforman el sistema nervioso central (*central nervous system, CNS*), y los sistemas nerviosos motores, autonómicos, y entéricos, constitutivos del sistema nervioso periférico (*peripheral nervous system, PNS*).

Detrás de todos estos procesos, y tal como ocurre en la embriogénesis humana, una compleja y aún no del todo comprendida orquesta de señales moleculares juega un papel fundamental en el mantenimiento y regulación de esta amplia gama de actividades.

A pesar de su bien establecido sistema de control, regulación y protección celular, el sistema nervioso no deja de estar expuesto a un amplio grupo de trastornos que pueden afectar su funcionamiento, y por ende, comprometer importantes funciones vitales en todo el cuerpo. Estos trastornos pueden deberse tanto a factores genéticos como epigenéticos. Los primeros plantean problemas de más difícil tratamiento dado que afectan a todas las células del individuo que los padece. Por el contrario, los segundos pueden ocasionarse debido a trastornos físicos, bioquímicos, virales, o moleculares, afectando bien a una región específica del sistema nervioso o a una población específica de células. No obstante, el proceso de diagnóstico y posterior tratamiento de este segundo grupo de trastornos plantea una serie de dificultades que, al día de hoy y para la mayoría de los casos, no han podido ser resueltas de manera satisfactoria.

Sean de origen genético o no, cuando los trastornos conducen al desarrollo de enfermedades crónicas que implican la destrucción progresiva del parénquima nervioso se dice que se está ante enfermedades neurodegenerativas. Como consecuencia del daño nervioso provocado, se produce un trastorno en las funciones biológicas que están bajo el control de las células afectadas. De tal modo que el progresivo daño celular suele estar acompañado de una patología que, en el peor de los casos, puede comprometer importantes funciones vitales, pudiendo llevar incluso a la muerte. De los múltiples tipos de enfermedades neurodegenerativas algunas han merecido especial interés por parte de la ciencia biomédica debido a su alta incidencia poblacional, a la gravedad de su patología, o a otras características que las hacen de particular importancia. Es el caso de la enfermedad de Alzheimer (*Alzheimer disease, AD*), la enfermedad de Parkinson (*Parkinson disease, PD*), la enfermedad de Huntington (*Huntington disease, HD*), la esclerosis lateral amiotrófica (*amyotrophic lateral sclerosis, ALS*) y el amplio grupo de enfermedades cerebrovasculares. Sea por una u otra razón, estas enfermedades han sido el centro de atención de los principales esfuerzos científicos en el desarrollo de terapias neuroregenerativas basadas en el uso de células madre.

Uno de los principales avances en el campo médico, biológico y experimental se viene dando en el desarrollo de tratamientos enfocados al uso de células madre como agentes terapéuticos. Como ya se mencionó, la razón estriba tanto en su capacidad auto-regenerativa como en la capacidad de dar origen a diversos linajes celulares. En tal sentido, las células madre ofrecen una alternativa muy valiosa en la regeneración –sea a través del reemplazo o

recuperación celular– de tejidos y órganos que presentan cierto grado de daño como consecuencia de algún tipo de trastorno celular.

Desde los primeros hallazgos de células madre en el cuerpo humano, muchos son los avances alcanzados hasta el día de hoy. No obstante, a pesar de haber conseguido importantes adelantos en el campo aún quedan importantes cuestiones por resolver. Se sabe, por ejemplo, que la autoregeneración y la potencialidad, características distintivas de estas células, pueden ser provocadas en condiciones experimentales en células ya diferenciadas a través de procesos de inducción celular mediados por determinados tipos de señales moleculares. Estas señales también están involucradas en la embriogénesis y neurogénesis humana. Precisamente, los estudios basados en la inducción celular han dado origen a una nueva generación de células madre, llamadas células madre inducidas (iPS y RiPS). Estas células se añaden a los otros tres grupos descritos hasta el día de hoy: las células madre embrionarias (ESC y ECC), las células madre derivadas del cordón umbilical (HSC y MSC), y las células madre adultas (ASC).

A diferencia de otros tipos de aplicaciones terapéuticas derivadas del uso de células madre, la aplicación de estas células en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas plantea tres importantes dificultades técnicas: la primera está en la ubicación desde donde estas células han de ejercer su crecimiento y diferenciación; la segunda está en la capacidad de las nuevas células, derivadas a partir de ellas, para reproducir las necesarias conexiones nerviosas de la manera correcta; y la tercera está en la capacidad de crecer de manera inocua y ordenada, respetando el plan original de crecimiento de la zona afectada puesto que se sabe que algunos de estos tipos celulares, en condiciones favorables, pueden dar origen a crecimientos tumorales altamente invasivos. Otro grupo de objeciones, esta vez de carácter ético y legal, se deriva de la fuente de dónde estas células son obtenidas. En el caso de las ESC, las ECC y las células madre de origen fetal, se sabe que su obtención pasa por la destrucción de embriones y fetos, lo cual supone una seria objeción ética al uso de este tipo de células. Por su parte, las iPS precisan de la introducción de material genético mediante el uso de vectores virales, lo cual puede suponer la exposición a un riesgo superior al beneficio esperado.

Todas estas consideraciones presentan un importante reto al hacer un análisis bioético de las terapias neuroregenerativas y del uso de células madre en el desarrollo de estos tratamientos.

En tal sentido, el objeto que este estudio se propone es el análisis, desde la bioética y el bioderecho, de las terapias neuroregenerativas basadas en el uso de células madre.

La bioética se define como una ciencia de carácter interdisciplinar. Ello se traduce en la exigencia de que esta disciplina pueda ofrecer un modelo de estudio capaz de armonizar las dos principales vías de conocimiento de las cuales se alimenta, la inductiva y la deductiva, en un método de alcance superior. Elio Sgreccia, uno de los principales promotores del desarrollo de un método bioético, propone un modelo capaz de responder a esta doble necesidad, el cual ha sido bautizado con el nombre de método triangular. El método consiste en el estudio secuencial de tres elementos: los hechos biológicos, el significado antropológico, y el juicio ético propiamente dicho. El análisis bioético de las terapias neuroregenerativas basadas en el uso de células madre, objeto de este estudio, se ajusta a este modelo.

El análisis se divide en tres momentos: En una primera parte se hace una amplia revisión del conocimiento biológico en materia de células madre y del papel que éstas cumplen en la neurogénesis humana, a fin de poder comprender el panorama real que se derivaría de su uso dentro de futuras terapias neuroregenerativas. En la segunda parte se hace una profundización antropológica de los potenciales escenarios derivados de estos tratamientos y en los que el énfasis se centra en dos momentos: en la obtención y en el trasplante de las células. Finalmente, en la tercera parte se hace una valoración ética desde los dos principales modelos éticos actualmente vigentes: el modelo cognitivista y el modelo no cognitivista. Sobre la base de estos modelos se aplican ocho principios generales, dos principios especiales derivados de la filosofía moral y dos principios derivados del ámbito legal.

En el ámbito jurídico, el análisis se centra en dos tipos de valoraciones legales: la experimentación con seres humanos en estado embrionario, fetal o adulto; y el uso de células madre como agentes terapéuticos.

Es evidente la alta complejidad de los problemas relacionados con las células madre. Los estudios recientes en inducción celular que han demostrado que la autoregeneración y la potencialidad, propiedades características de este tipo de células, pueden ser inducidas en cualquier célula mediante la acción de determinadas señales moleculares ha supuesto un replanteamiento de paradigmas. Sobre la base de estos estudios se propone el modelo de

clasificación que toma como referencia la fuente biológica a partir de la cual estas células son obtenidas. Según tal criterio las células madre se dividirían en células madre de origen embrionario (ESC y ECC), células madre del cordón umbilical (MSC y HSC), células madre adultas (ASC), y células madre inducidas (iPS y RiPS). Cada una de ellas con sus propias características biológicas y, por lo tanto, con ventajas y desventajas de cara a su uso terapéutico.

El análisis bioético de las terapias neuroregenerativas desde la profundización antropológica se centró en las consecuencias derivadas de la obtención y el trasplante de células madre. La revisión de los distintos modelos antropológicos permite concluir que los datos aportados por la biología del desarrollo son los de mayor relevancia al hacer una valoración de tales consecuencias. Estos datos, a diferencia de los que aportan otras áreas de conocimiento, responden a condiciones intrínsecas y distintivas del ser humano. A partir de estos datos se concluye que la existencia de una corporalidad autónoma e individual del ser humano, condición *sine qua non* de un estatuto antropológico, empieza a existir a partir de la fecundación. En consecuencia, aquellos tratamientos que suponen un riesgo para la integridad de la vida de un ser humano, sea en estado embrionario o adulto, plantean objeciones antropológicas insalvables de cara a su aplicación experimental o terapéutica.

Del análisis a partir de los dos principales modelos éticos actualmente existentes, el cognitivista y no cognitivista, se concluye que la valoración de las terapias neuroregenerativas desde un modelo cognitivista permite un análisis más objetivo y por ende de mayor precisión respecto de uno no cognitivista. Por otra parte, el estudio evidencia la necesidad de un referente antropológico capaz de jerarquizar los principales principios bioéticos a fin de evitar juicios equívocos, confusos o contradictorios.

En el campo legal, el análisis de la normativa internacional y nacional especialmente dedicada a este tema pone en evidencia el peligro que supone el uso de un modelo basado en el consenso y en un minimalismo normativo, ajenos a la referencia de un estatuto antropológico sólido. En la gran mayoría de los casos, esta opción ha conducido al desarrollo de normativas polisémicas, laxas o con pobre capacidad vinculante.

En su conjunto, del análisis bioético de las terapias neuroregenerativas basadas en el uso de células madre se concluye que las células madre adultas, las derivadas del cordón umbilical y ciertos tipos de células inducidas (iPS) ofrecen las posibilidades más realistas y seguras de aplicación terapéutica. Las demás células están asociadas a objeciones biológicas, médicas y bioéticas insalvables que las hacen no aptas para este tipo de terapias. Estos hechos han de ser tener tenidos en cuenta al momento de desarrollar un ordenamiento jurídico especializado en la materia.



## II. El hecho biomédico

---

### 1. Definiciones y conceptos generales

#### 1.1. Las células madre

Hace casi cien años atrás, Alexander Maximow sugirió, partiendo de la observación experimental de los distintos tipos de células que constituyen la sangre, un modelo que se ha demostrado como correcto para el proceso fisiológico de la *hematopoyesis* (1). Maximow predijo que debía existir una población de *células madre*, responsable del reemplazo de los distintos tipos celulares que constituían la sangre (2). Sin saberlo con precisión, Maximow introdujo un nuevo concepto y con ello una idea innovadora, la cual necesitó casi cincuenta años antes de que pudiera ser comprobada (3) y otros más antes de que pudiera encontrar algún tipo de aplicación en la práctica clínica (4).

En la misma década en la que se verificaba experimentalmente la idea propuesta por Maximow aparecían los primeros estudios demostrando la existencia de este tipo de células a nivel neuronal (5, 6). Sin embargo, estas investigaciones fueron objeto de cierto escepticismo por parte de la comunidad científica debido a la fuerte influencia de la idea de que la neurogénesis o auto-regeneración celular era una condición ausente en las células del tejido neuronal de mamíferos adultos, idea que propuso en su momento Santiago Ramón y Cajal (7). No obstante, a mediados de los 80 y entrados los 90 el tema debió ser revisado después de que varios estudios confirmaran la existencia de procesos neurogénicos post-embriónicos (8, 9). En la actualidad, están bien descritas dos regiones cerebrales donde se observa la presencia

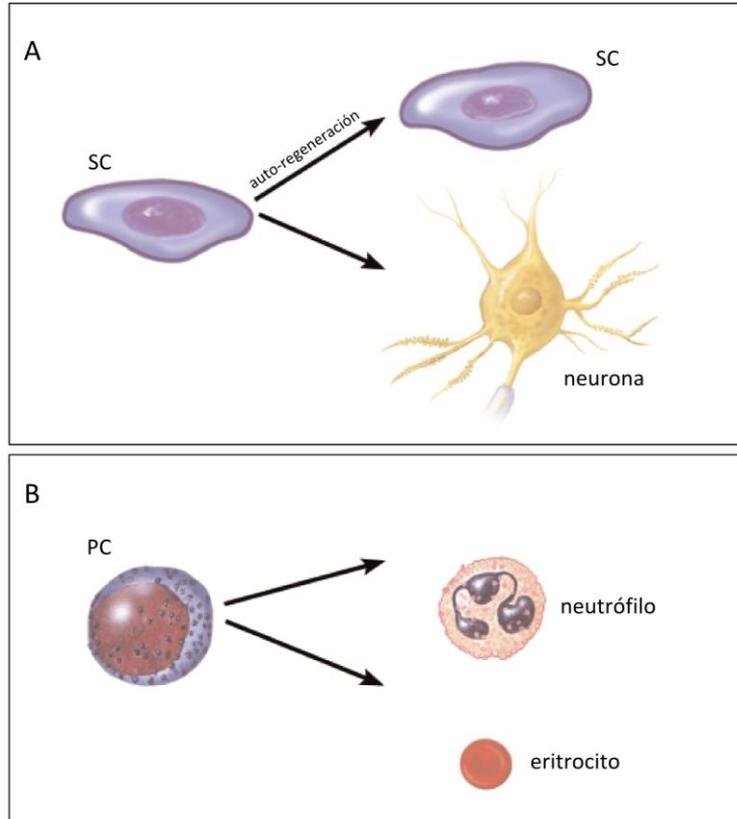
de varias poblaciones de células madre adultas: la capa sub-ependimal de las paredes que recubren los ventrículos laterales, también llamada zona subventricular (*sub ventricular zone*, SVZ), y la zona subgranular del giro dentado del hipocampo (*subgranular zone*, SGZ) (10, 11).

En términos generales se puede decir que dos son las condiciones *sine qua non* para que una célula pueda ser considerada como una célula madre (*stem cell*, SC): (i) la auto-regeneración (*self-renewal*), esto es, la capacidad de producir generaciones infinitas de células semejantes a sí misma; y (ii) la potencialidad (*potency*), entendida como la capacidad de producir linajes celulares capaces de dar lugar a células diferenciadas con características morfológicas y funcionales distintas respecto a la célula original. En el proceso de formación de estas células diferenciadas se han descrito una serie de tipos celulares intermedios con la característica de poseer una alta capacidad proliferativa. En relación a la nomenclatura de estos tipos celulares no hay un consenso definitivo, así algunos autores han optado por llamarlas poblaciones celulares transitorias (*transient amplifying populations*, TAPs) (10), otros por su parte las llaman células precursoras (*precursor cells*) o progenitoras (*progenitor cells*) (12). Para efectos de este estudio se ha optado por distinguir sólo dos grupos: las células madre propiamente dichas y un amplio grupo de subtipos de células progenitoras, que cuando sean derivadas del neuroectodermo serán identificadas como células neuroprogenitoras (**Figura 1**).

Las células progenitoras agrupan un amplio conjunto de células en un estado intermedio entre el no diferenciado de las células madre y el especializado de las células somáticas. En estados menos diferenciados será mayor la semejanza con las células madre de las cuales provienen. A lo largo del proceso de diferenciación celular, se observa que las células intermedias en proliferación presentan ciclos celulares mucho más cortos que los de las células madre. Así por ejemplo, mientras que un ciclo celular de las células madre en el tejido neuronal puede tomar una media de 15 días o más –algunas incluso presentan un estado quiescente temporal (13)–, las células neuroprogenitoras presentan ciclos no mayores de 12 horas antes de entrar en la siguiente división mitótica (10). Asociado a este hecho se observa que conforme avanzan en su desarrollo, las células progenitoras van perdiendo su capacidad regenerativa a diferencia de lo observado en las células madre que siempre lo mantienen. En consecuencia, sus divisiones celulares siempre se orientan a progenes más diferenciadas. El estudio de los procesos moleculares responsables de estas diferencias es un campo que viene siendo intensamente estudiado y en el que participan diversos tipos de factores tanto a nivel de la matriz extracelular (10) como intracelular (11). Entre todos ellos merecen especial atención la vía de

los receptores Notch (14), y las señales de la ruta Wnt y  $\beta$ -catenina (15), que se desarrollarán en mayor detalle en apartados posteriores.

**Figura 1. Células madre y células progenitoras. (A)** A lo largo de los ciclos mitóticos las SC dan origen a uno o más tipos de células especializadas y otras SC. La auto-regeneración consiste en la capacidad, por parte de estas células, de producir generaciones sucesivas de SC. **(B)** Las PC, si bien pueden producir uno o más tipos de células especializadas, carecen de la capacidad de auto-regeneración. [SC: stem cells; PC: progenitor/precursor cells]. Adaptado de NIH, 2001. Ref. (16).



En resumen, el intenso estudio de las células madre a lo largo de los últimos años ha llevado al descubrimiento de nuevos aspectos de un cuadro de alta complejidad. Este hecho ha llevado a continuas redefiniciones de las propiedades que caracterizan a estas células y del papel que cumplen dentro de la naturaleza (17). Por otro lado, las dificultades –alguna veces insalvables– que supone su estudio en condiciones *in vivo* supone un serio obstáculo al momento de definir criterios de clasificación de los tipos y subtipos reales que integran este mundo celular. La misma sensibilidad y plasticidad de estas células a ambientes artificiales ha llevado en muchos casos a errores de interpretación debido a las dificultades de reproducibilidad en el laboratorio de entornos naturales a fin de poder extrapolar potenciales aplicaciones biomédicas.

## 1.2. Auto-regeneración y potencialidad

Dos criterios, auto-regeneración y potencialidad, son fundamentales de cara a una mejor comprensión de la biología que define a las células madre. Razón por la cual se describe brevemente lo que caracteriza a cada uno de ellos.

### 1.2.1 Auto-regeneración

La auto-regeneración se define como la capacidad de que una célula madre dará lugar a células idénticas que mantengan sus mismas características fenotípicas. Se han descrito dos mecanismos que pueden explicar cómo las células madre ejercen esta capacidad auto-regenerativa: por mitosis asimétricas, y por ciclos mitóticos diferenciados.

El primer mecanismo se basa en la presencia de una cinética mitótica de tipo asimétrico (*asymmetric cell kinetics*, ACK). Según este mecanismo, cada vez que una célula madre sufre una división mitótica da origen a dos células hijas con características fenotípicamente distintas: una de ellas mantiene la misma condición no diferenciada de la célula de origen, la otra, por su parte, se orienta a la proliferación de subtipos intermedios que darán origen a células diferenciadas. El mecanismo fue propuesto a partir del estudio de la embriogénesis de *D. melanogaster* y *C. elegans*. En mamíferos se ha observado un patrón similar en células madre de tejido adulto (*adult stem cell*, ASC) (18). Estudios con ASC en condiciones *in vitro* han demostrado la existencia de factores reguladores de este proceso tanto a nivel intracelular como extracelular (19), lo que pone en evidencia la importancia de una continua comunicación con las demás células vecinas.

El segundo mecanismo propuesto es el de la diferenciación estocástica (*stochastic model*). El modelo fue desarrollado a partir del estudio de células madre hematopoyéticas (20) y de células madre tumorogénicas (21). Las células madre que siguen este mecanismo se dividen “en saltos”: mientras una célula da origen a dos células hijas orientadas a la diferenciación celular, otra célula da origen a dos células hijas con características semejantes a la célula madre original. De este modo, a nivel poblacional, se mantiene una proporción estable de uno y otro tipo de células.

A fecha de hoy se desconoce si, en condiciones naturales, estos mecanismos son exclusivos para ciertos tipos de poblaciones celulares, si lo son para todos, o en su defecto, cuáles son los mecanismos moleculares que llevan a una célula a optar por alguno de ellos.

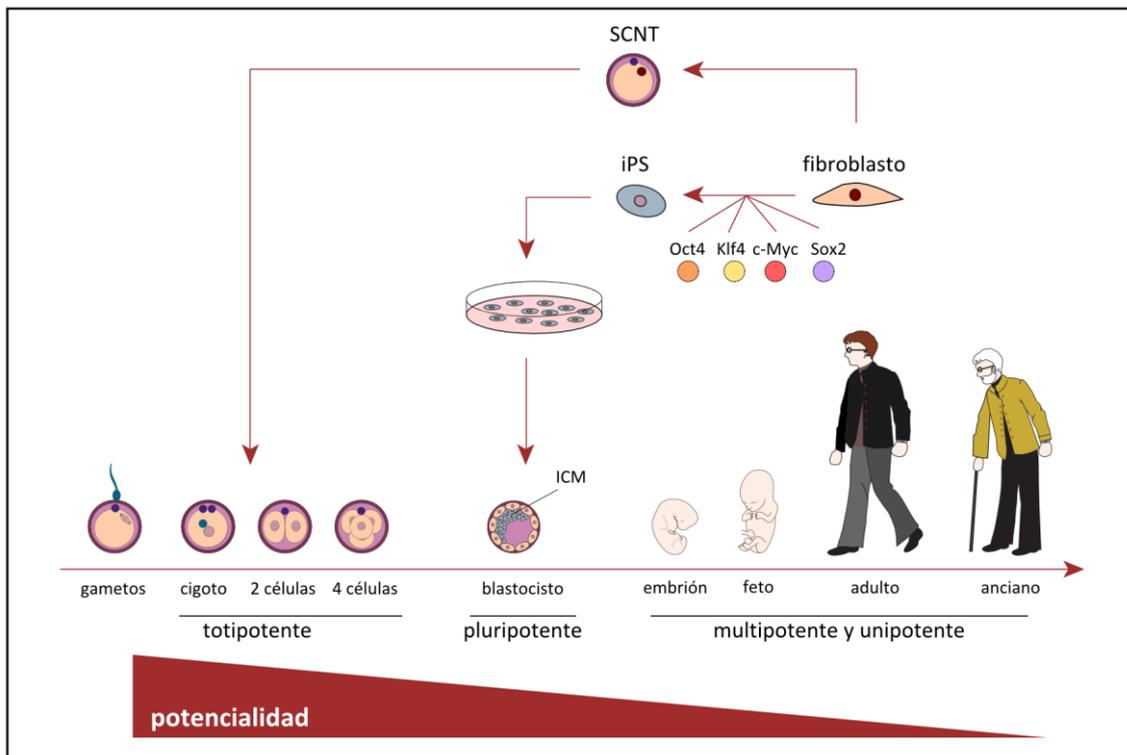
### 1.2.2 Potencialidad

La potencialidad es la capacidad de una célula de dividirse y producir células con características morfológicas y funcionales distintas a la célula original. Se sabe que no todas las células madre presentan esta condición de igual manera pudiendo variar en función de la célula y del ambiente en el cual se encuentre. Se trata de un fenómeno complejo y no bien entendido y que ha llevado a cierta controversia sobre los criterios de clasificación que se han desprendido a partir de él (22). En la literatura científica, por ejemplo, es posible encontrar hasta cinco niveles de clasificación: (i) totipotencia, (ii) pluripotencia, (iii) multipotencia, (iv) oligopotencia, y (v) unipotencia (**Figura 2**). Conforme la potencialidad disminuye resulta más difícil encontrar un criterio sólido de diferencia entre un nivel y otro. Ciertamente, no es casualidad que en el MeSH (*Medical Subject Headings*) del MEDLINE/PubMed sólo se reconozcan los tres primeros de los cinco órdenes de clasificación aquí presentados.

#### A. Células totipotentes

En condiciones naturales, la totipotencialidad es la capacidad que tienen ciertas células para generar a partir de sí mismas todos los tipos celulares que constituyen el organismo adulto del cual derivan (23). El término aparece en el glosario del MeSH donde se define como la capacidad que tiene una célula aislada para formar un organismo entero. Una célula totipotente, afirma esta fuente, tiene la capacidad de especializarse en las membranas extraembrionarias y tejidos, el embrión, y todos los tejidos y órganos postembrionarios.

En todos los mamíferos, incluido el hombre, la totipotencialidad es una condición presente en las células que forman el cuerpo del embrión desde el estado de cigoto hasta antes de la formación del embrioblasto o masa celular interna (*inner mass cell*, ICM), esto es, en estado de mórula (23). A partir de ese momento esta condición desaparece de manera definitiva. Sin embargo, en las plantas esta condición se conserva incluso en el estado adulto siendo la explicación celular a la reproducción asexual, tan común en vegetales.



**Figura 2. Desarrollo y potencialidad.** En el cuadro se representa la disminución de la potencialidad a lo largo del ciclo vital del ser humano. La ontogenia humana se inicia con la fecundación. Tanto el cigoto como las células derivadas de las primeras divisiones mitóticas son células totipotentes, esto es, capaces de dar origen a un individuo adulto. Esta condición se pierde una vez que el embrión adquiere la morfología de blastocisto. En este estado las células de la ICM mantienen una condición pluripotente, es decir, son capaces de dar origen a los tres linajes celulares primordiales del organismo humano. En etapas más avanzadas del desarrollo e incluso en la vida adulta esta potencialidad se va perdiendo e incluso desaparece. Sólo algunas regiones específicas del organismo adulto mantienen esta condición. En condiciones *in vitro* ha sido posible obtener células madre pluripotenciales a partir de embriones en estado de blastocisto, por inducción celular, y por transferencia nuclear. [ICM: inner cell mass; SCNT: somatic cell nuclear transfer; iPS: induced pluripotent stem cells]. Adaptado de Mitalipov, 2009. Ref. (23)

Comprender los mecanismos que gobiernan la permanencia o pérdida de la totipotencialidad viene siendo un tema de mucho interés en el estudio de células madre y células germinales (responsables de la formación de los gametos). Estudios en *C. elegans* y en *D. melanogaster* parecen indicar que existe una asociación entre el mantenimiento de esta condición y la inhibición transitoria de la transcripción de RNA mediada por factores tales como: la GLD-1, una proteína producida en las gónadas y que es responsable de la activación del RNA, y la MEX-3, un regulador de traducción del RNA. En estos organismos, se ha asociado la alteración de estas proteínas con una pérdida de totipotencialidad (24). Por su parte, en seres humanos se ha logrado describir las que podrían ser algunas de sus proteínas homólogas: las *Quaking* (QKI) y la *Sam68* (KHDRBS1), de la familia STAR (*Signal Transduction and Activation of RNA*, STAR); y la MEX-3D (25). Sin embargo, aún resta mucho por estudiar a este nivel (26).

En condiciones *in vitro* se ha logrado obtener células con características totipotentes a partir de células ya diferenciadas gracias a la extracción y transferencia del núcleo de una célula adulta ya diferenciada en el citoplasma de un ovocito. Un proceso conocido como clonación artificial por transferencia de núcleo y que ha permitido el nacimiento de clones a partir de ciertos tipos de mamíferos adultos como sucedió con la oveja Dolly (27).

## B. Células pluripotentes

Durante los primeros estados de la embriogénesis, el embrión pasa de mórula a blástula. En esta etapa de desarrollo se hacen visibles dos zonas de distinto crecimiento celular: una envoltura externa (trofoectodermo) y el embrioblasto o masa celular interna (*inner mass cell*, ICM). Las células que forman parte de la ICM tienen la capacidad de dar origen a cualquiera de las tres líneas germinales precursoras de las distintas partes del organismo adulto: el endodermo, el ectodermo y el mesodermo. Sin embargo, estas células no tienen la capacidad de dar origen a un individuo adulto por sí mismas puesto que han perdido la capacidad de formar los tejidos extraembrionarios, derivados del trofoectodermo, que son necesarios para la formación del mismo durante el desarrollo embrionario y fetal. Por tal razón, se dice que estas células son pluripotentes (23). De hecho, el glosario de términos del MeSH define a las células pluripotentes como aquellos tipos celulares que dan origen a células de cualquiera de las tres líneas germinales.

Como ocurre con la totipotencialidad, la pluripotencialidad también puede ser inducida en condiciones *in vitro*. Un complejo proceso que se explicará en detalle más adelante y que lleva a la formación de células madre con pluripotencialidad inducida (*induced pluripotent stem cells, iPS*) (28).

## C. Células multipotentes

Durante el proceso de embriogénesis y como consecuencia de la formación de las tres capas germinales antes mencionadas, se observa la formación de tres poblaciones distintas de células. Estas células presentan el potencial de dar lugar a los múltiples linajes celulares que constituyen la línea germinal de la cual derivan. En este grupo de células se incluyen las células progenitoras tales como las células madre hematopoyéticas (*hematopoietic stem cells, HSCs*) y mesenquimales (*mesenchymal stem cells, MSC*), derivadas del mesodermo, y que son

responsables de dar origen a los distintos tipos de células que forman parte del tejido sanguíneo, pero que en condiciones naturales no dan lugar a tejidos derivados de otras líneas germinales. La definición que da el MeSH para este tipo de células resulta ya un poco ambigua. En el glosario se afirma que las células madre multipotentes son un tipo de células madre especializadas comprometidas en el desarrollo de células con funciones particulares. Pone, como ejemplo, los mioblastos y las células progenitoras mieloides, y las células madre de la piel.

No obstante, el concepto mismo de multipotencialidad ha sido profundamente reconsiderado a partir de la observación de la plasticidad celular y la transdiferenciación. La plasticidad hace referencia a un fenómeno que se presenta también de manera natural y que se define por la capacidad de las células multipotentes para dar origen a tejidos derivados de líneas germinales distintas a la suya. La plasticidad sucede, por ejemplo, en el proceso de cicatrización y regeneración de la piel (de origen ectodérmico) donde se ha comprobado una activa participación de células madre de origen mesodérmico (29). La transdiferenciación, por su parte, hace referencia a la capacidad de inducir en el laboratorio la diferenciación de células multipotentes en células de líneas germinales distintas a la suya. Un ejemplo de ello ha sido la generación de hepatocitos a partir de MSC (30).

#### D. Células oligopotentes

La oligopotencialidad es una condición que ya no aparece en el glosario del MeSH, sin embargo es un concepto aún presente en la literatura científica aunque a veces con sentidos equívocos o ambiguos (31, 32). En términos generales, la oligopotencialidad se puede definir como la capacidad que presentan ciertos tipos de células madre o progenitoras para dar lugar a unos pocos tipos celulares.

#### E. Células unipotentes

La unipotencialidad se puede definir como la capacidad que tiene una célula para dar origen a un único tipo celular o tisular. Algunos autores usan el término precursor para referirse a ellas, sin embargo, su uso resulta ambiguo pudiendo llevar a equívocos. Muchos tipos de células intermedias encajan en este grupo, no obstante no todas las células unipotentes son intermedias. Es el caso de las células germinales que son responsables de la formación de

gametos masculinos (*germline stem cells*, GSCs) y que suelen ser el principal ejemplo de unipotencialidad. Estas células presentan una permanente capacidad auto-regenerativa mientras que por otra manifiestan una capacidad de diferenciación unidireccional para un tipo muy específico de células, los espermatozoides. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que incluso este tipo de células no está ajeno a la posibilidad de inducción en células pluripotentes (*germline-derived pluripotent stem cells*, gPS) (33). En relación a las células germinales de óvulos, hasta la fecha no se ha podido demostrar la existencia de un fenómeno semejante al observado en sus contrapartes masculinas. De hecho la presunción de la ausencia de tal fenómeno en las hembras de los mamíferos es uno de los conceptos más sólidos de la endocrinología del presente siglo. Lo cual, sin embargo, para algunos autores no necesariamente contradice la posibilidad de que puedan existir este tipo de células aunque en un estado de “dormancia” continuada (34).

### **1.3. Fuentes de obtención**

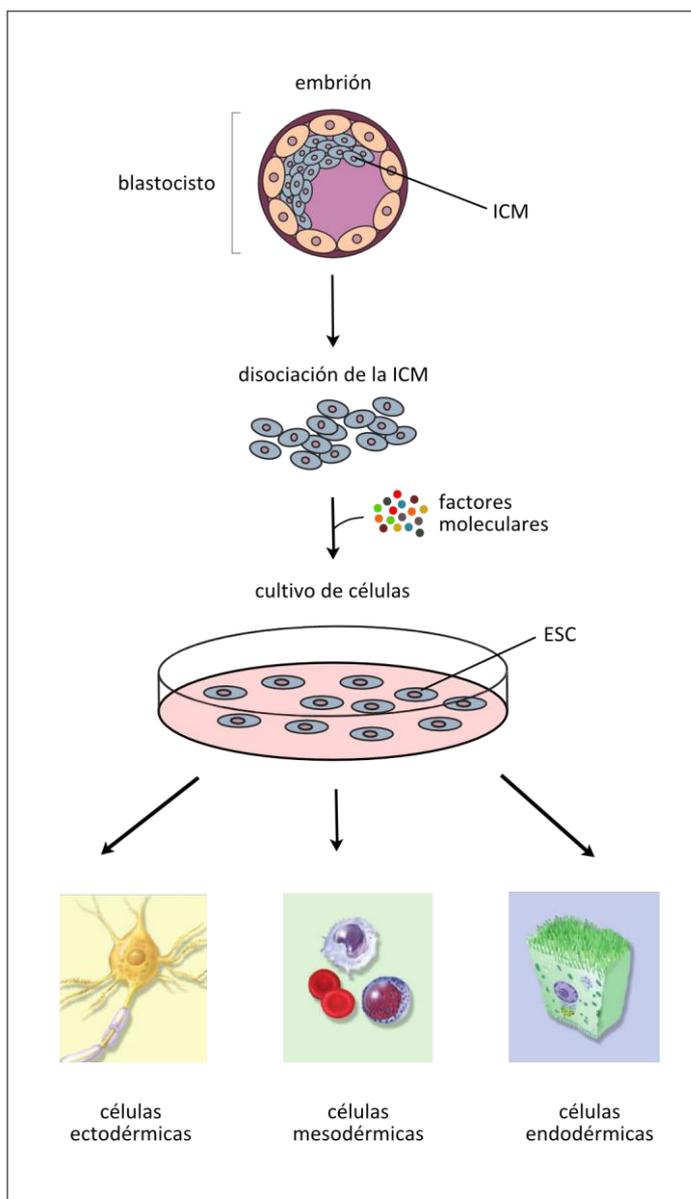
Según la fuente de obtención las células madre pueden ser de tres tipos: embrionarias, adultas, y de cordón umbilical.

#### **1.3.1 Células madre embrionarias**

Las células madre embrionarias (*embryonic stem cells*, ESC) fueron descritas por primera vez en 1981 como un tipo de células pluripotentes obtenidas a partir de la ICM de blastocistos de ratón. Una característica fundamental de las ESC, y que las diferencia de hermanas teratocarcinogénicas (*embryonal carcinoma cells*, ECC), es que presentan un cariotipo normal y estable en condiciones de cultivo *in vivo* e *in vitro* (35). Las ECC son la contraparte maligna de las células madre embrionarias. Estas células derivan de teratocarcinomas de origen embrionario que se desarrollan principalmente a partir de células germinales primordiales (*primordial germ cells*, PGC), derivadas de la ICM. Las ECC se caracterizan por presentar cariotipos aberrantes y ser altamente proliferativas (36).

A nivel molecular, se sabe que numerosos factores de transcripción, incluidos los factores Oct3/4 (37), Sox2 (38), y Nanog (39), participan en el mantenimiento de la pluripotencialidad tanto de las ESC como de las ECC. Varios genes cuya sobre-expresión puede derivar en el

desarrollo de ECC, tales como Stat3 (40), E-Ras (41), c-Myc (42), Klf4 (43), y Wnt/ $\beta$ -catenina (44), también contribuyen en el mantenimiento a largo plazo del fenotipo de las ESC y en la rápida actividad proliferativa de estas células en condiciones *in vitro*. Por último, se sabe que ciertos genes de la familia Sox actúan específicamente en el mantenimiento de la pluripotencialidad de las ESC (45). Como se verá más adelante, se ha observado que varios de estos factores fueron necesarios para la generación de las células iPS (46), lo que confirma la estrecha asociación entre las células iPS, las ESC y las ECC (47). De allí el temor por la potencial capacidad tumorigénica que pueden presentar ciertos tipos de células ESC e iPS, un tema que se tratará más adelante.



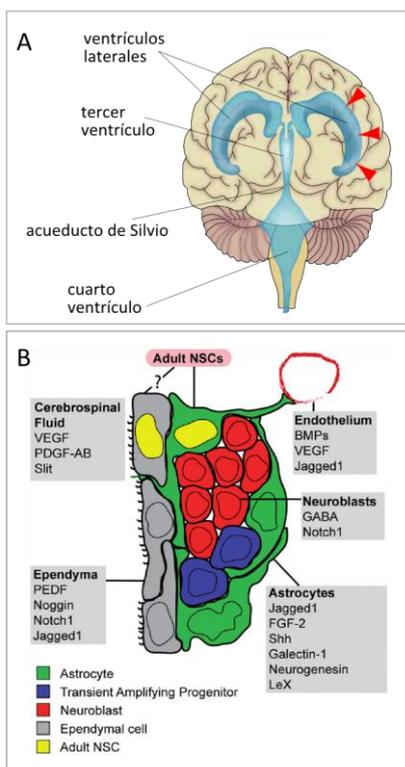
**Figura 3. Generación de células madre embrionarias.** Las ESC se obtienen a partir de la ICM de embriones en estado de blastocisto. Durante el proceso de extracción y cultivo celular es necesaria la aplicación de un cóctel de factores moleculares que permitan la diferenciación de estas células en células especializadas derivadas de las tres capas germinales. [ICM: inner cell mass; ESC: embryonic stem cells]. Adaptado de NIH, 2006. Ref. (48)

La principal característica que diferencia a las ESC de otro tipo de células madre es que se obtienen de la ICM de embriones (**Figura 3**). Estas células, como el resto de células madre, mantienen una capacidad auto-regenerativa. En cuanto a su potencialidad, las ESC son células pluripotentes (**Figura 2**). La obtención de las ESC supone la destrucción de embriones lo que en sí mismo plantea un grave problema ético. Estas células, además, corren el riesgo de transformarse en tumores altamente agresivos. Se ha descrito el caso de pacientes que han desarrollado tumores a partir de implantes con este tipo de células (49). De hecho la semejanza entre las ESC y sus contrapartes tumorales, las ECC, es muy estrecha dado que ambas tienen el mismo origen embrionario (50). Finalmente, y dado que su uso siempre es en un contexto alogénico, se presenta la posibilidad de rechazos inmunitarios en los pacientes. A diferencia de lo que ocurre con las células madre adultas y las células madre derivadas de cordón umbilical, a la fecha sólo existe un único ensayo clínico en curso de Fase I con este tipo de células en un paciente con una lesión en la médula espinal, el cual se inició en octubre del 2010. El estudio está a cargo de la compañía Geron Corporation en colaboración con el Shepherd Center de Atlanta y con el permiso de la FDA (Clinical Trial: NCT01217008). La escasez de ensayos en humanos no es de extrañar considerando los serios problemas que este tipo de células presentan.

### **1.3.2 Células madre de cordón umbilical**

El cordón umbilical se forma a los 26 días de la gestación. Está compuesto por dos arterias y una vena umbilical, el principal reservorio de sangre umbilical. El cordón está recubierto por la gelatina de Wharton (*Wharton jelly*, WJ), una matriz rica en proteoglicanos. La sangre de cordón umbilical (*umbilical cord blood*, UCB) se encuentra principalmente en el cordón umbilical aunque también se puede encontrar en los anejos placentarios en momentos después del parto. Tradicionalmente todos estos productos han sido considerados como materiales de desecho siendo eliminados en el pasado una vez concluido el alumbramiento. Sin embargo, en años recientes, el cordón umbilical ha empezado a ser aceptado como una fuente rica en células madre. Estas células se pueden extraer a partir de la vena umbilical y de la WJ (51). Entre los tipos de células madre que allí se encuentran están las células madre hematopoyéticas (*hematopoietic stem cells*, HSC), las células madre mesenquimales (*mesenchymal stem cells*, MSC) y otros tipos de importante utilidad médica.

Dos son las principales ventajas que presentan estas células: la primera es que son una fuente de fácil obtención de células madre con potencial uso autólogo (aunque también se usan en trasplantes alogénicos). La segunda está en que su obtención no supone ningún tipo de intervención invasiva en el cuerpo del donante. Ambas características hacen de este tipo de células las candidatas éticamente más idóneas para un trasplante. Además, se sabe que el cordón umbilical contiene MSCs de reconocida plasticidad y capaces de sufrir transdiferenciación en tipos celulares de distinta línea germinal, lo que supone amplias posibilidades clínicas (30). A lo largo de los últimos años, muchas han sido las intervenciones clínicas con este tipo de células, siendo la más antigua un trasplante con éxito en un niño con anemia de Fanconi en 1988. En la actualidad se estima que existan alrededor de 600.000 unidades de UCB distribuidas a nivel mundial, de ellas unas 20.000 han sido o están siendo utilizadas en el tratamiento de enfermedades de diverso tipo (52).



**Figura 4. Nicho de células madre adultas.** (A) Las flechas rojas indican la zona subventricular de los ventrículos laterales del cerebro humano donde se localiza uno de estos nichos celulares. (B) El diagrama muestra la distribución de las células en una de estas regiones. Adaptado de Basak, 2009. Ref. (10)

### 1.3.3 Células madre adultas

Las células madre adultas (*adult stem cells, ASC*) son células madre, principalmente multipotentes, que se encuentran distribuidas en distintas partes del cuerpo humano de un individuo adulto. Se localizan en regiones específicas del cuerpo que toman el nombre de **nichos celulares**. (Figura 4) Estas células son las responsables de mantener el equilibrio homeostático del cuerpo humano, siendo responsables del recambio de las células que son destruidas por apoptosis, necrosis o exfoliación.

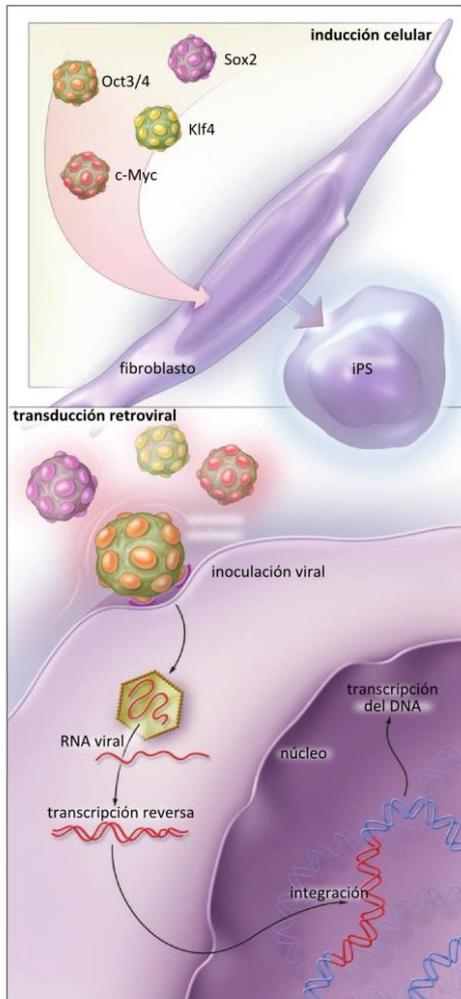
El interés médico y científico en estas células deriva de su capacidad de auto-regeneración, su potencialidad, y su plasticidad y transdiferenciación en distintos tipos celulares. Por otra parte y a diferencia de las ESC, las ASC no plantean objeciones éticas dado que se pueden obtener por biopsias y procedimientos invasivos de bajo riesgo de distintas

regiones corporales sin causar daño en el donante. A nivel molecular, se vienen estudiando los mecanismos responsables del control de la auto-regeneración y potencialidad celular de estas células. Entre los factores asociados a este control están los receptores asociados a la ruta de señalización de Notch (53), de Wnt (54), de Shh (55), y ciertos tipos de TGFs. En todos los casos se trata de factores muy importantes durante la embriogénesis como se verá en la sección siguiente dedicada a la neurogénesis embrionaria.

Dentro de los diversos tipos de ASC, una de las primeras en ser estudiadas han sido las células madre hematopoyéticas (HSC), presentes en la médula ósea. Además de ellas, se han descrito las células madre mesenquimales (MSC), presentes en la placenta, tejido adiposo, pulmonar, en la médula ósea, y en el cordón umbilical, la gelatina de Wharton, e incluso en las pulpas dentarias; las células madre mamarias (*mammary stem cells*, MaSC); y las células madre neuronales responsables de la neurogénesis, entre otras. Hoy se presume que este tipo de células pueda estar presente, aunque en menor tamaño, en prácticamente cualquier parte del cuerpo. Como viene ocurriendo con las células madre de cordón umbilical, las ASC han mostrado beneficios reales en la práctica clínica siendo numerosos los casos de trasplantes autólogos con éxito a partir de este tipo de células. En este sentido, el primer trasplante completo de la sección de un órgano gracias a la combinación de este tipo de células y el uso de bioingeniería fue posible en el 2008. En esa oportunidad se pudo reconstituir una sección completa de la tráquea de una mujer a partir de MSC que luego fue injertada en la paciente sin problemas de respuesta inmunológica (56). Un dato interesante se ha derivado del estudio de estas células y sus contrapartes carcinogénicas (57): parece que en muchos casos las células madre pueden encontrarse en un estado de “dormancia”, semejante al que presentan las semillas, y que frente a estímulos externos “despiertan” a un estado activo como células madre. Se ha visto que la hipoxia puede actuar como uno de tales factores (54, 58).

#### **1.3.4 Células madre inducidas (iPS)**

En el 2006, un grupo de investigación liderado por el Dr. Yamanaka logró reprogramar células somáticas a un estado similar al embrionario (28). Ello fue posible gracias a la acción de factores inductores específicos. Las nuevas células madre se llamaron células pluripotentes inducidas (*induced pluripotent stem cells*, iPS).



**Figura 5. Inducción de células madre pluripotentes a través de transducción retroviral.** La técnica consiste en la transformación de una célula ya diferenciada (en el ejemplo es un fibroblasto) en una célula madre pluripotente. Esto es posible mediante la transducción retroviral, esto es, la introducción de los genes que expresan factores moleculares concretos en el fibroblasto a través de retrovirus genéticamente modificados, los cuales son utilizados en calidad de vectores. Adaptado de Gearhart, 2007. Ref (59)

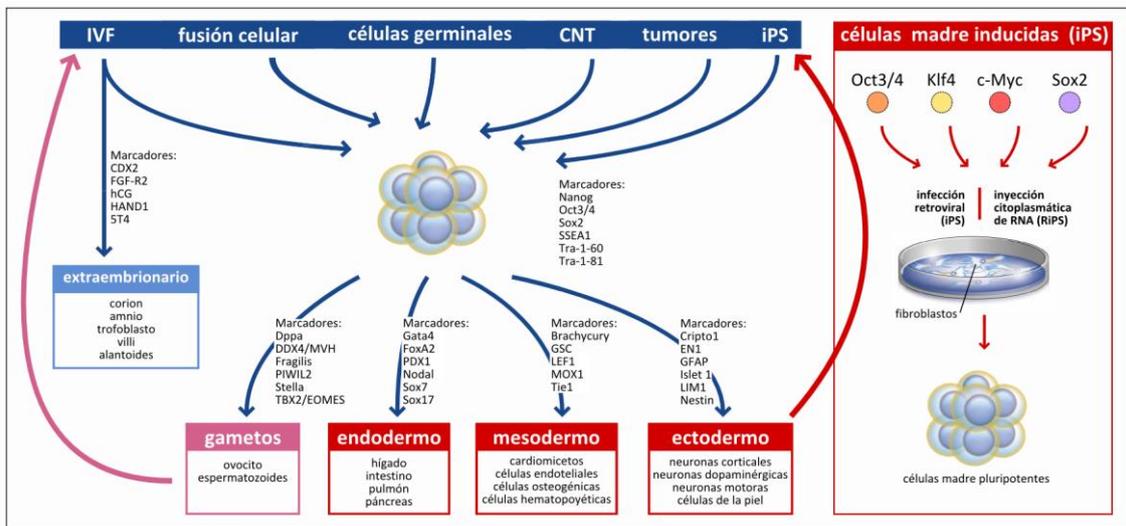
Las iPS presentan características similares a las ESC en cuanto a su auto-regeneración y pluripotencialidad, lo que las coloca como unas fuertes candidatas en terapias regenerativas. Por otra parte, las iPS, a diferencia de las ESC, parecían no plantear los problemas éticos asociados a su obtención como sí lo presentaban sus contrapartes embrionarias (60). Sin embargo, las iPS de Yamanaka plantean sus propias complicaciones tal como se verá enseguida. El equipo japonés partió del conocimiento adquirido a partir de la transferencia nuclear y de la acción inductora que ejercen las ESC sobre células somáticas. Supusieron que así como el citoplasma de un ovocito o el contacto con una ESC podía inducir la transformación de un núcleo somático o de una célula ya diferenciada, debían existir factores liberados en la matriz extracelular de las ESC capaces de inducir esta transformación en las células somáticas ya diferenciadas. Para ello escogieron un conjunto de 24 genes como candidatos potenciales para tal inducción en fibroblastos de ratón. Utilizando infecciones retrovirales con plásmidos fue posible seguir cada uno de los genes escogidos con el fin de ver cuales de ellos disparaban procesos de transformación y des-diferenciación celular. Subsecuentes análisis permitieron demostrar el papel crítico que jugaban los factores Oct3/4, Klf4, Sox2, y c-Myc en la generación de células con un fenotipo similar a las ESC a partir de fibroblastos de ratón (28) (Figura 5). Finalmente, para determinar la pluripotencialidad de estas células, el equipo las inoculó en ratones observando la formación de teratomas. En los injertos se comprobó la formación de células pertenecientes a las tres líneas germinales. Estos resultados permitieron confirmar la capacidad auto-regenerativa y pluripotencial de las iPS, sin embargo también

pusieron en evidencia ciertas similitudes con formas oncogénicas tales como las encontradas en las ECC. De los cuatro factores esenciales para promover la inducción celular, dos corresponden a factores naturales de la embriogénesis (Oct3/4 y Sox2). Sin embargo, el papel de c-Myc y Klf4 resulta controversial, no tanto porque no sean necesarios sino por los efectos colaterales que estas proteínas puedan jugar. Se sabe, por ejemplo, que c-Myc tiene más de 25.000 sitios de unión en el genoma de mamíferos a nivel de las histonas, esto es, alrededor del 15% de todos los genes (59); muchos más que los que presentan Oct3/4 y Sox2. También se sabe que c-Myc es un potente proto-oncogén cuya alteración se traduce en uno de los más fuertes inductores carcinogénicos hasta ahora conocidos. Por su parte, de Klf4 se sabe que reprime la acción de p53, un importante supresor tumoral ampliamente conocido (61). En otras palabras, si bien es cierto que las células inducidas podrían superar la objeción ética en cuanto a la fuente de obtención, por otro lado plantean un serio problema a nivel de los efectos nocivos que puede derivarse de una transformación no deseada en células altamente tumorales. Además, tanto en el modelo de Yamanaka como en el desarrollado posteriormente por Thomson (62), el principio parte de la manipulación genómica con genes comunes que pueden transformar las células en carcinógenas.

Estos hechos han llevado a que varios grupos de investigación orienten sus principales esfuerzos al desarrollo de métodos alternativos más seguros que no supongan un potencial riesgo para los futuros pacientes. Entre ellos dos grupos merecen especial atención. El primer grupo observó que las células somáticas (en este caso fibroblastos de ratón) presentan una expresión basal de Oct4, Sox2, y Nanog, la cual se traduce en una concentración mínima de RNA mensajeros para estos genes. Sobre esta base se buscó inducir una mayor expresión de estos genes por efecto de un cambio en las condiciones de cultivo. Como ya se dijo, la hipoxia parece ser un inductor epigenético de la activación de células madre. Estos investigadores redujeron las concentraciones de oxígeno y además cambiaron las concentraciones de FGF-2, un factor de crecimiento de fibroblastos. A partir de sus ensayos observaron una mayor expresión de estos genes que se tradujo en una mayor producción de las proteínas codificadas por estos genes. Sin embargo, esto no se tradujo en un cambio en la morfología de las células o en la aparición de pluripotencialidad (63). El segundo grupo dio un paso más allá. En sus estudios optaron por administrar mRNA sintético para dichos factores a las células somáticas. Partiendo del mismo principio desarrollado por el grupo anterior, este equipo buscó una “chispa molecular” lo suficientemente fuerte como para disparar todo el mecanismo de

inducción sin alterar el genoma celular. En efecto, en un trabajo de reciente publicación (64) demostraron que ello fue posible obteniendo una célula inducida por mediación de RNA (*RNA-induced pluripotent stem cells*, RiPS). Estas células han mostrado ser auto-regenerativas y pluripotenciales. De hecho, en el estudio lograron dar lugar a células miogénicas.

Aún queda mucho camino por recorrer. Sin embargo, estos avances ponen en evidencia la gran complejidad que subyace a los procesos naturales que determinan la formación y el mantenimiento de células madre y la compleja red responsable de su control en el ser humano, como se podrá ver a lo largo de la exposición de la neurogénesis embrionaria y adulta del ser humano (Figura 6).



**Figura 6. El ciclo de desarrollo de la potencialidad.** En azul se muestran los principales mecanismos descritos en el laboratorio para la obtención de este tipo de células: a partir de fecundación *in Vitro*, de fusión celular o formación de quimeras, de células germinales, de transferencia nuclear, de tumores, y de inducción celular. En rojo se describen las tres líneas germinales derivadas a partir de estas células: endodermo, mesodermo y ectodermo. En el recuadro de la derecha se resume el procedimiento de inducción celular, tanto por vía de infección retroviral, descrito por Yamanaka en el 2006 (28), como por inyección citoplasmática de RNA, descrito por Warren en el 2010 (64). Como se puede observar son numerosos los marcadores moleculares que intervienen en cada uno de los procesos. [IVF: in Vitro fertilization; CNT: cell nuclear transfer; iPS: induced pluripotent stem cells]. Adaptado a partir de *The cycle of developmental potency*. Designed by Abcam® 2008.

## 2. El sistema nervioso humano

Tradicionalmente se ha dividido el sistema nervioso en dos partes principales: (i) el sistema nervioso central (*Central Nervous System, CNS*), formado por el encéfalo y la médula espinal; (ii) el sistema nervioso periférico (*Peripheral Nervous System, PNS*), formado por los nervios que unen tanto el encéfalo y la médula espinal con todas las demás estructuras del cuerpo humano. Tradicionalmente, los autores subdividen este último en tres: (i) el sistema nervioso somático (*somatic nervous system, SNS*) o de control voluntario, (ii) el sistema nervioso autónomo (*autonomic nervous system, ANS*) o de control involuntario, y (iii) el sistema nervioso entérico (*enteric nervous system, ENS*). Esta división, aunque puede resultar didácticamente útil, no deja de ser artificial dado que biológicamente el sistema nervioso, como el resto del cuerpo humano, funciona como un todo en continua comunicación con el resto del cuerpo y no como la suma de estructuras aisladas e independientes entre sí.

En esta sección se tratará de hacer una breve revisión del proceso de formación y desarrollo del sistema nervioso haciendo especial énfasis en los procesos neurogénicos que son de central interés para este estudio. En el desarrollo de estos complejos procesos se ha optado por hacerlo a partir de un enfoque ontogénico desde la fecundación hasta la formación y el desarrollo temprano del sistema nervioso humano siguiendo el enfoque didáctico clásico antes mencionado. No obstante, y dada la importancia que supone la neurogénesis para este estudio, se dedica un apartado más exhaustivo a la misma al final de todo el capítulo.

### 2.1. Formación y desarrollo temprano

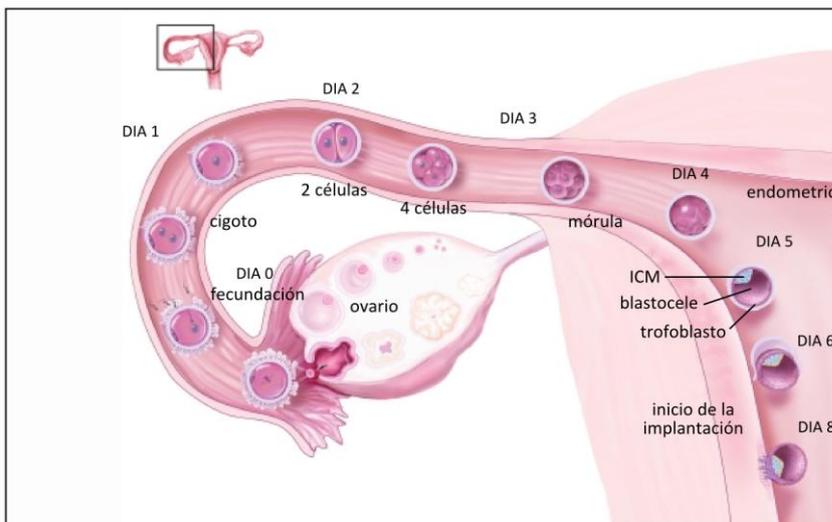
El desarrollo humano se inicia con la fecundación en el momento en que un espermatozoide y un ovocito se unen para formar un embrión unicelular o cigoto. Como ya se mencionó en el apartado anterior, el cigoto es una célula totipotente capaz de conducir a la formación de todas las estructuras constitutivas del cuerpo de un ser humano adulto. En condiciones *in vivo*, la fecundación da lugar al inicio de un intenso proceso de división celular que llevará a lo largo de la vida a la transformación de un organismo unicelular, el cigoto, en uno multicelular, el ser humano adulto. Esta transformación es posible gracias a complejos procesos de migración, crecimiento y diferenciación celulares que en el desarrollo embrionario y fetal se traducen en la formación de los diversos tejidos, órganos y sistemas que constituyen un cuerpo con

apariencia humana. Para el caso del sistema nervioso, estos cambios empiezan a ser visibles a partir de la tercera y cuarta semana de desarrollo, no obstante y como se verá a continuación, esta génesis sólo es posible gracias a los cambios que se vienen sucediendo desde el momento mismo de la fecundación.

### 2.1.1 El comienzo del desarrollo embrionario: las primeras dos semanas

#### A. La fecundación

En condiciones *in vivo*, la fecundación suele ocurrir en el tercio más distal de la trompa uterina, la trompa de Falopio, que es la porción más ancha y larga de la misma. La fecundación es en sí misma un proceso altamente complejo el cual escapa del objeto de este estudio. Por tanto, bastará decir que se da a través de una compleja sucesión de reacciones moleculares que se inician como consecuencia de la unión de los dos gametos y que termina con la mezcla de sus cromosomas a nivel de la metafase durante la primera división mitótica del cigoto. Un proceso que en conjunto requiere poco menos de 24 horas (65) (**Figura 7**). Al cabo de ese tiempo es posible encontrar trazas de una proteína inmunosupresora en el suero materno, el factor temprano del embarazo (*early pregnancy factor*, EPF) (66, 67). Se presume que el EPF es una señal molecular que permite al embrión evitar la barrera inmunológica materna (68).



**Figura 7. Formación y desarrollo del embrión humano hasta el inicio de la implantación.** [ICM: inner cell mass]. Adaptado de NIH, 2001. Ref. (16)

## B. Segmentación y desarrollo de la mórula

En los primeros días que continúan a su formación, el embrión experimenta una serie de divisiones mitóticas que conducen a un rápido aumento en el número de sus células. Como consecuencia de este hecho, las células embrionarias resultantes o blastómeros son de menor volumen respecto a sus progenitoras aunque no de iguales proporciones entre sí. A partir de la cuarta división mitótica, se observa una serie de cambios espaciales a nivel de la distribución de los blastómeros de modo tal que un grupo de ellos se alinean estrechamente dando lugar a una masa celular compacta. Este proceso de compactación es la antesala a la formación del embrioblasto o masa celular interna (*inner cell mass*, ICM) de la ahora mórula.

## C. Formación del blastocisto

Poco después de la entrada de la mórula en el útero, hacia el cuarto día, empieza a aparecer un espacio interior lleno de líquido, el blastocele. A medida que ingresa líquido en esta cavidad aumenta su volumen. Como consecuencia de este hecho y de la proliferación celular se observa la formación de dos regiones: una capa externa muy delgada, el trofoblasto, responsable de dar origen a la porción embrionaria de la placenta; y la ICM, a partir de la cual se forma el cuerpo del embrión. Después de un lento proceso migratorio, el embrión inicia la anidación en la pared endometrial hacia los seis días de desarrollo. La anidación se produce a nivel del polo embrionario del blastocisto. Una vez fijado, el trofoblasto comienza a proliferar con gran rapidez invadiendo las paredes del endometrio hasta alcanzar los vasos sanguíneos maternos. En este proceso el trofoblasto da origen a dos capas celulares: una interna, el citotrofoblasto; y otra externa y más voluminosa, el sincitiotrofoblasto, que es la encargada de invadir el tejido materno propiamente dicho. Mientras esto ocurre y hacia el final de la primera semana, el embrioblasto adquiere la forma de una capa bilaminar de células compuesta en la cara que mira al endometrio por el epiblasto y en la opuesta por el hipoblasto.

## D. Formación del disco embrionario bilaminar

El proceso de implantación del blastocisto termina hacia el final de la segunda semana con la inmersión completa del mismo dentro de la pared endometrial. Para este momento el

sincitiotrofoblasto ha logrado alcanzar los capilares y las glándulas endometriales más profundas. Una vez que las paredes de los capilares han sido alcanzadas, las células del sincitiotrofoblasto empiezan a liberar una hormona al torrente sanguíneo materno, la gonadotropina coriónica humana (*human chorionic gonadotropin*, hCG). Es frecuente que con la hCG también algunas de estas células entren en el torrente circulatorio pudiendo ser luego localizadas en la sangre de la mujer. En el blastocisto en implantación aparece un primordio de la cavidad amniótica que posteriormente dará origen al amnios. El desarrollo de esta segunda cavidad está acompañado por una serie de cambios morfológicos en el embrioblasto. Los más notorios son el aplanamiento del mismo y la formación de la placa bilaminar y casi circular de células que hace que adquiera el nombre de disco embrionario. En el disco embrionario la lámina de células adyacente al amnios es el epiblasto, en su cara opuesta se desarrolla una lámina de células cúbicas más pequeñas y que por su disposición resultan adyacentes a la cavidad del blastocisto, ahora cavidad exocelómica. Esta segunda lámina es el hipoblasto. (Figura 7)

### 2.1.2 De la gastrulación a la neurulación embrionaria: tercera semana

La gastrulación tiene lugar en la tercera semana del desarrollo embrionario. En condiciones *in vivo*, esto suele coincidir con la semana siguiente a la ausencia del primer ciclo menstrual. Como consecuencia de la gastrulación se generan las tres capas germinativas que darán origen a la formación de todas las estructuras corporales del ser humano (Figura 8). Por otro lado empieza a ser visible una orientación axial en el cuerpo del embrión en desarrollo.

#### A. Formación de la línea primitiva

El primer signo de la gastrulación es la formación de la línea primitiva en el extremo caudal del plano medial del epiblasto, bajo la forma de una pequeña banda que va engrosándose longitudinalmente. La línea primitiva surge como consecuencia de un continuo proceso de proliferación y migración celular desde el epiblasto hacia el plano medial del disco embrionario. A medida que la línea primitiva se alarga por la adición de células a su extremo caudal, su extremo craneal prolifera hasta formar un nódulo primitivo. Este paulatino engrosamiento de la línea primitiva va a derivar en la formación de un surco primitivo fruto de la invaginación de las células que van siendo añadidas.

Entre el hipoblasto y el activo epiblasto en desarrollo, un grupo de células, derivadas de éste último, van agrupándose en una zona mesenquimatosa intermedia dando origen a lo que luego será el mesodermo embrionario. Otras células, por su parte, migran hasta alcanzar el hipoblasto desplazándolo para dar lugar al endodermo embrionario. Por su parte, las células remanentes que permanecen en el epiblasto darán lugar al desarrollo del ectodermo. Se sabe que dos tipos de señales inductoras participan en la formación del mesodermo durante la gastrulación: el factor de crecimiento de fibroblastos (*fibroblast growth factor*, FGF) y ciertos tipos de factores de la superfamilia del factor de crecimiento transformante  $\beta$  (*Transforming growth factor  $\beta$* , TGF- $\beta$ ), como el factor Nodal (69). En consecuencia, fruto de todo este proceso, el epiblasto da origen a las tres capas germinales: el ectodermo, el mesodermo y el endodermo. Las células pluripotentes que constituyen estas capas son la base celular para el desarrollo de todas las estructuras corporales.

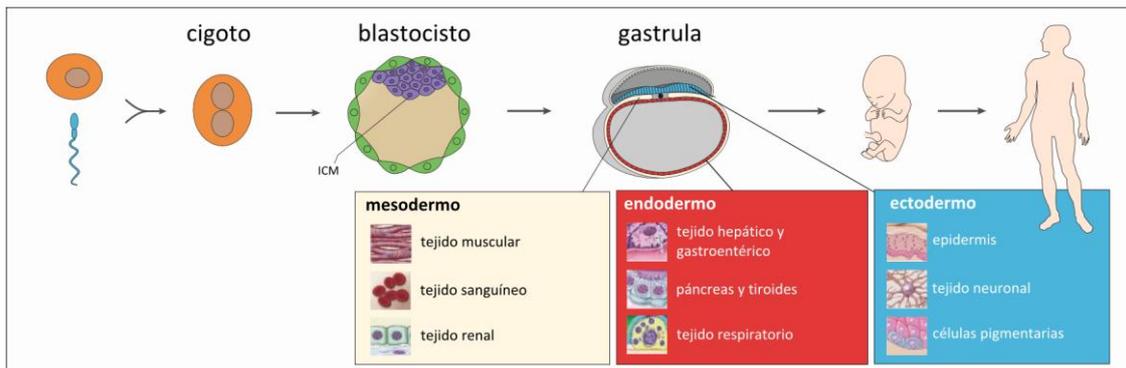
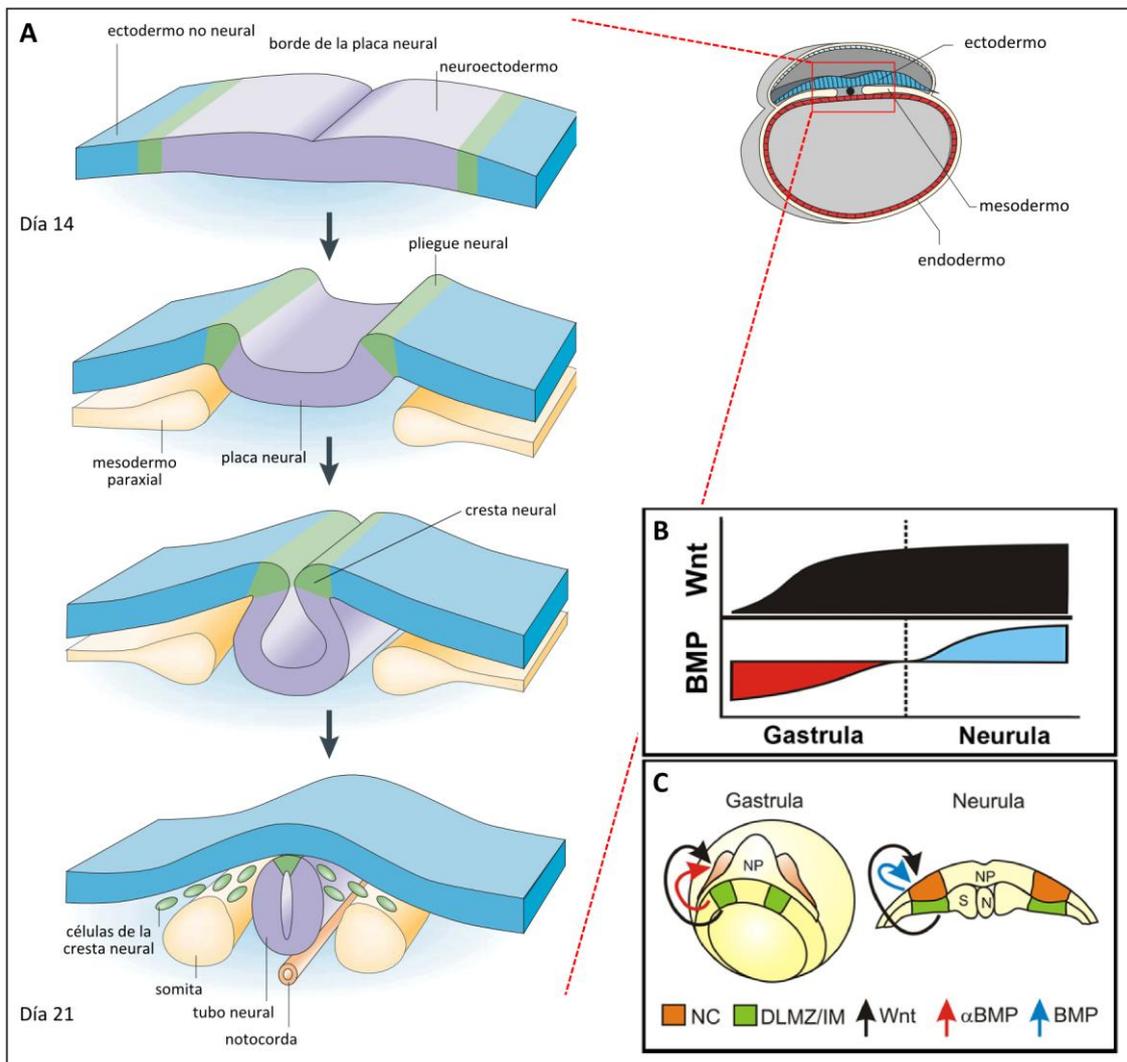


Figura 8. Desarrollo de las capas germinativas. [ICM: inner cell mass]. Adaptado de O'Connor, 2006. Ref. (70)

Finalmente, en los últimos estadios de la gastrulación, en el cuerpo del embrión se hacen visibles los polos antero-posterior y dorso-ventral a partir de los cuales se organizarán todas las futuras estructuras anatómicas y funcionales del cuerpo humano. Estudios recientes han demostrado la participación de señales inductoras de tipo Wnt (*Wingless Integration*, Wnt) como principales responsables de este proceso inductor (71). No obstante, resulta paradójico que a pesar de su importancia y de la complejidad de su desarrollo, la línea primitiva presenta una vida relativamente efímera dentro del desarrollo del embrión llegando a desaparecer a finales de la cuarta semana.

## B. Formación de la notocorda e inducción neural

Algunas células de la región mesodérmica migran en sentido craneal formando una prolongación celular por debajo de la línea primitiva. Esta prolongación sufrirá una progresiva transformación hasta dar lugar a una especie de varilla longitudinal, la notocorda (**Figura 9**). En los seres humanos, la notocorda se reduce hasta quedar vestigios de ella en los discos intervertebrales, no obstante, cumple una función importante en el desarrollo temprano del sistema nervioso y más tardíamente como guía para la formación de la futura columna vertebral.



**Figura 9. Neurulación embrionaria.** (A) Al término de la tercera semana el ectodermo embrionario sufre una serie de cambios muy drásticos, que en poco menos de una semana llevarán a la formación del tejido neuroectodérmico en el que se irán formando la notocorda, el tubo neural, y las células de la cresta neural.

**(B)** En el esquema se representa la inducción ejercida por el mesodermo y por la propia cresta neural en su desarrollo y posterior mantenimiento. Durante la gastrulación, se produce una inhibición de BMP (rojo); por el contrario, durante la neurulación la propia cresta promueve la activación de BMP (azul). Por su parte, la activación de Wnt aumenta progresivamente a lo largo de la gastrulación hasta alcanzar su nivel más alto en el inicio de la neurulación, el cual se mantendrá a lo largo de todo el proceso gracias a la acción conjunta del mesodermo adyacente y de la propia cresta neural. **(C)** El mismo proceso, antes descrito, es visto desde un enfoque espacial en el que se puede apreciar la acción inductora coordinada del mesodermo adyacente (DLMZ/IM) y de la propia cresta neural (NC). [NC: neural crest; DLMZ: dorsoventral marginal zone; IM: intermediate mesoderm; BMP: bone morphogenetic proteins; Wnt: Wntless Integration]. Adaptado de Gammill, 2003. Ref. (72); Steventon, 2009. Ref. (71)

A nivel molecular, se ha demostrado que la vía mediada por Nodal y ciertas Wnts están involucradas en su formación y posterior sostenimiento (73). Estudios recientes también han permitido aclarar el papel exacto y necesario que cumplen las BMPs (*bone morphogenetic proteins*) como reguladores de su desarrollo y función (71). Una vez formada, la notocorda es la principal responsable de la inducción neural. A través de ella dirige la formación de células neuroectodérmicas derivadas del ectodermo. A partir de estas células se dará origen a la formación de la placa neural, del tubo y de la cresta neural, dentro de un complejo proceso conocido como neurulación. A nivel molecular se sabe que la inducción neural es posible gracias a la liberación de señales tales como la cordina (*Chordin*, Chd) (74), noggina (*Noggin*) (75), y folistatina (*Follistatin*) (76). Las dos primeras, junto con FGF-8, inhiben la actividad de la BMP-4 en la zona dorsal del ectodermo (77), por su parte, la folistatina inhibe a la activina (*Activin*) actuando como agonista de ésta (76). BMP-4 y activina son proteínas que forman parte de la familia de TGF- $\beta$  y que actúan como inductoras de la diferenciación celular. Su inhibición a nivel del ectodermo permite mantener una proliferación localizada que da lugar a la formación del tejido neuroectodérmico.

### C. Neurulación

Conforme la notocorda se desarrolla mantiene su acción inductora sobre el ectodermo situado sobre ella. Esto provoca una continua proliferación celular de esta zona que da lugar a la formación del neuroectodermo. Las células del neuroectodermo se distribuyen dorsalmente respecto a la notocorda hasta adquirir la forma de una lámina celular llamada placa neural (**Figura 9**). Este crecimiento provoca un ensanchamiento de la placa incluso mayor que la misma notocorda. Fruto de este crecimiento se produce una invaginación de la placa a lo largo de su eje central. Esta invaginación es el surco neural, el cual presenta pliegues celulares a cada uno de sus lados. Estos pliegues se hacen especialmente prominentes en el extremo

craneal del embrión y son el primer esbozo del desarrollo encefálico. Al final de la tercera semana el crecimiento de estos pliegues lleva a la fusión de los mismos lo que da origen a la formación del tubo neural, precursor del encéfalo y de la médula espinal, y de la cresta neural, precursor de las estructuras que constituyen el resto del sistema nervioso humano, tejido conectivo de las estructuras cráneo-faciales y células pigmentarias de la piel. En el proceso de formación del tubo neural; éste se separa del ectodermo dorsal provocando una rápida reorganización del tejido ectodérmico comprometido que posteriormente se diferenciará en tejido epidérmico. Mientras ello ocurre, un grupo de células neuroectodérmicas migran en sentido dorso-lateral a ambos lados del tubo neural hasta formar la cresta neural como una masa irregular y aplanada que se ubica entre el tubo neural y el ectodermo dorsal. A partir de allí se extenderá en diversas direcciones dentro del tejido mesodérmico. Se sabe que Wnt también es uno de los principales responsables a lo largo de todo este proceso. Sin embargo, está lejos de ser el único. La temprana inhibición de BMP, necesaria para el crecimiento del tejido neuroectodérmico, se detiene con la aparición de la cresta neural. Por el contrario, su activación ahora resulta necesaria para el sostenimiento de la neurulación (71) (**Figura 9**).

## **2.2 Formación del sistema nervioso central**

El tubo neural recién formado tiene el aspecto de una estructura cilíndrica y longitudinal con una abertura, el neuroporo craneal y el neuroporo dorsal, en cada uno de sus extremos. Estas aberturas se mantendrán hasta el establecimiento de la circulación vascular necesaria para la alimentación del tubo. El tubo neural es la estructura primordial sobre la cual se configuran las dos porciones constitutivas del CNS, esto es, el encéfalo, derivado a partir de la región más craneal del tubo, y la médula espinal, derivada a partir del resto del tubo.

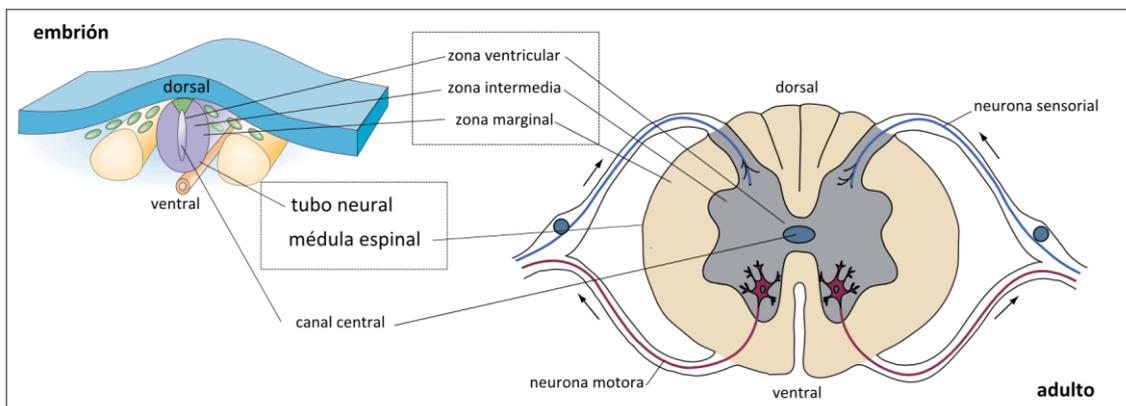
### **2.2.1 La médula espinal**

#### **A. Distribución de las zonas ventricular, intermedia y marginal**

Una vez el tubo neural se ha constituido, éste sufre un paulatino engrosamiento de sus paredes laterales que trae como consecuencia, en la porción precursora de la médula, una progresiva reducción del canal central hasta la configuración, entre la novena y décima semana, de un reducido canal central. Este cambio morfológico obedece a un complejo

proceso de proliferación y diferenciación celular a nivel del tubo neural en el cual se sabe que la notocorda juega un importante papel inductor (78).

La capa celular más adyacente al canal central es la **zona ventricular**. Las células neuroprogenitoras de esta región presentan una intensa actividad mitótica. Precisamente, es en esta zona donde se generarán las neuronas, células de la glía y el epéndimo ventricular, un fino epitelio en contacto directo con el **canal central**. Cubriendo la zona ventricular, se extiende una amplia **zona intermedia** compuesta principalmente por neuroblastos postmitóticos en un lento proceso de diferenciación. Las neuronas ya diferenciadas se van agrupando a lo largo de una tercera y más periférica capa celular, la **zona marginal**. (**Figura 10**) En estas neuronas se observa la presencia de prolongaciones nerviosas, axones y dendritas, mielinizadas o en proceso de serlo. Consecuencia de esta mielinización es la característica coloración blanquecina de esta zona respecto a la tonalidad más opaca de la zona ventricular e intermedia. Histológicamente a la zona desprovista de mielina se le denomina sustancia gris, por el contrario, la zona mielinizada toma el nombre de sustancia blanca.



**Figura 10. Desarrollo de la médula espinal.** Los dos gráficos corresponden a secciones transversales del tubo neural embrionario y de la médula espinal adulta. Se puede observar el proceso de engrosamiento de las paredes del tubo y la subsecuente progresiva reducción del canal central. En el corte de la médula se muestra en gris la zona correspondiente a la sustancia gris y en crema la que corresponde a la sustancia blanca. También se pueden observar los haces nerviosos motores (azul) y sensoriales (rojo) de la médula adulta. Adaptado de Gammill, 2003. Ref. (72)

## B. Crecimiento asimétrico y diferenciación celular inducida

Fruto de la proliferación celular, la médula sufre un progresivo ensanchamiento. Sin embargo, se observa que éste no es igual en todas las regiones de la médula, siendo mayor en las regiones laterales en comparación con las regiones dorso-ventrales a lo largo de la médula. Se

sabe que esta diferencia obedece a que las células de la zona ventricular siguen una proliferación asimétrica inducida tanto por la notocorda como por el ectodermo adyacente a ella. A nivel de la región ventral de la médula, la notocorda juega un importante papel inductor gracias a la liberación del factor Shh (*Sonic hedgehog*) (79). El Shh liberado en esta región de la médula dispara una cascada de señales que inhiben la proliferación celular de la zona ventricular. Como consecuencia de este cese, las células inician un proceso de diferenciación que lleva a la formación de los nervios asociados a dicha región (80). Posteriormente, el proceso se mantiene gracias a que las mismas células en diferenciación empiezan a producir y liberar la señal Shh (81). Por su parte, el ectodermo epidérmico no neural hace lo propio en la región dorsal de la médula donde su acción inductora es mediada principalmente por la liberación de ciertos tipos de BMPs (82) y Wnts (83).

Se sabe que la formación de las células de la médula es un proceso escalonado en el que las células neuroprogenitoras primero dan lugar a la formación de los neuroblastos y luego a los glioblastos. Los neuroblastos son los precursores de los distintos tipos de neuronas, por su parte, los glioblastos se diferencian en astrocitos y oligodendrocitos. También se sabe que una vez que la formación de unos y otros ha cesado, las células remanentes de la zona ventricular empiezan a diferenciarse en células del epéndimo. Shh fue una de las primeras señales inductoras asociadas a este proceso, sin embargo, recientes estudios han demostrado que su acción lejos de ser aislada es mediada de manera indirecta por algunas proteínas de la vía Wnt, las cuales influyen en establecer un gradiente a nivel de la médula, determinante para la diferenciación escalonada de los distintos tipos celulares en formación (84).

### 2.2.2 El encéfalo

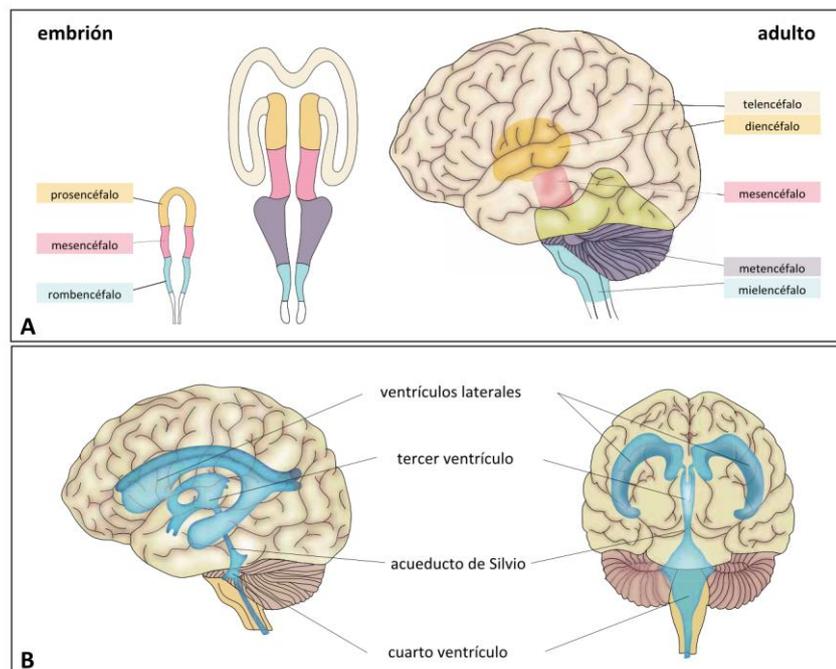
En la región más craneal del tubo neural, el ensanchamiento de las paredes del tubo y del canal central lleva a la formación de un encéfalo primitivo constituido por tres vesículas cerebrales: el prosencéfalo, el mesencéfalo, y el rombencéfalo. Hacia la quinta semana de desarrollo, dos de estas vesículas, el prosencéfalo y el rombencéfalo, se subdividen en el telencéfalo y el diencéfalo, y en el metencéfalo y el mielencéfalo, respectivamente. De modo tal que el encéfalo pasa de tener tres a tener cinco vesículas (**Figura 11-A**). Esta transformación es mediada por una serie de señales inductoras producidas principalmente a nivel del organizador ístmico, una región localizada entre la unión del mesencéfalo y el metencéfalo. Se sabe que Wnt en asociación con FGF-8 están involucradas. Shh también participa en este

proceso de transformación actuando sobre la región ventral del prosencéfalo (85). Finalmente, algunos factores de la familia Pax también coparticipan en la formación de ciertas regiones encefálicas (86). Sin embargo, ciertas regiones encefálicas también tienen un papel protagonista a lo largo del proceso a través de la liberación de factores inductores en regiones organizativas específicas, tal como se verá a continuación.

#### A. Mielencéfalo

La región encefálica más caudal y que es adyacente a la médula espinal es el mielencéfalo. Morfológicamente, se puede decir que es una estructura de transición entre el encéfalo y la médula espinal, existiendo varias similitudes entre su organización funcional y ésta última. De hecho, durante su desarrollo, la configuración dorso-ventral es muy similar respecto a la de la médula. La principal diferencia a este nivel está en la presencia de una marcada expansión dorsal. Esta expansión se hace particularmente delgada por encima del conducto central dando origen al cuarto ventrículo (65) (**Figura 11-B**). Esta configuración permite que gran parte del mielencéfalo sirva como sistema de conducción de las vías que unen el encéfalo con la médula espinal y en el tránsito del líquido cefalorraquídeo (*cerebrospinal fluid*, CSF). No obstante, no todo el mielencéfalo es conectivo, una parte de él cumple funciones de regulación de ciertas funciones vitales, como el control cardiaco y la respiración.

**Figura 11. Desarrollo del encéfalo.** (A) En el diagrama se observa el desarrollo del encéfalo embrionario humano hasta alcanzar su forma adulta. El tubo neural en esta región se cierra y da origen a tres vesículas cerebrales que posteriormente darán origen a cinco regiones bien definidas. (B) En el diagrama se observa la distribución de los ventrículos cerebrales, derivados del canal central, en el encéfalo adulto. Adaptado de Portell, 2010. Ref. (87)



## B. Metencéfalo

La segunda división del rombencéfalo es el metencéfalo. El metencéfalo está formado en su parte más ventral por la protuberancia o puente, en continuidad directa con el bulbo, y en su parte más dorsal por el cerebelo. La protuberancia deriva de la zona ventral. Por ella pasan los haces de las fibras nerviosas que conectan los centros encefálicos superiores con la médula espinal. Esta región morfológicamente presenta una estructura organizativa similar a la observada en el mielencéfalo. Por su parte, el cerebelo –muy importante en el control del equilibrio, de la coordinación, y de los reflejos visuales y auditivos– se desarrolla a partir de la zona dorsal gracias a la acción inductora de BMP-4 (88).

## C. Mesencéfalo

El mesencéfalo o cerebro medio es la porción filogenéticamente más conservada del encéfalo. Poco se sabe sobre el papel que éste cumple en el CNS adulto salvo que en él se concentra una población importante de células dopaminérgicas. Se sabe que *Shh* actúa como un importante inductor del crecimiento de este tipo de neuronas durante el desarrollo embrionario (89). En el proceso de la regionalización cerebral, el mesencéfalo juega un papel de gran importancia dado que en él se localiza el principal centro organizador encefálico: el organizador ístmico, ya citado. Varios estudios han demostrado que la supresión de los genes de Wnt (90), de  $\beta$ -catenina (91), o de FGF-8 (92) en ratones KO no sólo conducen a la ausencia del desarrollo del mesencéfalo y del cerebelo, sino que además provocan el desarrollo de configuraciones estructurales aberrantes a nivel de todo el encéfalo, la mayoría de ellas de carácter letal.

## D. Diencefalo

El diencefalo es la cuarta división encefálica. Se forma a partir del prosencéfalo con una orientación craneal respecto al mesencéfalo. Esta zona sufre cambios estructurales tan drásticos que resulta difícil asociar su morfología final con la disposición dorso-ventral inicial (93). Incluso algunos autores han llegado a considerar que el prosencéfalo en su conjunto es un derivado muy modificado de la zona dorsal sin que participen significativamente las células de la zona ventral (65). El diencefalo primitivo da origen a dos pares de engrosamientos en las

paredes laterales del tercer ventrículo, que irán creciendo hasta fusionarse a través de una conexión intermedia dando origen al tálamo, futuro responsable de la recepción de los estímulos auditivos y visuales. Otro par de engrosamientos de menor tamaño y en disposición ventral respecto del tálamo, dará lugar al hipotálamo, responsable de las funciones homeostáticas. Hacia la octava semana de desarrollo, aparece un tercer par de engrosamientos dorsales que conducen a la formación del epitálamo, responsable de coordinar la masticación y deglución. Otra porción del diencefalo, la más caudal de todas, da lugar a la formación de la epífisis o glándula pineal, responsable del control de los ritmos circadianos y de la secreción de melatonina (94). Finalmente, un par de regiones laterales del diencefalo se diferencian en el sistema óptico. Poco se sabe sobre los mecanismos que intervienen en cambios tan drásticos, aunque algunos estudios parecen confirmar que la acción coordinada de Shh (95) y FGF-8 (96) es imprescindible para el correcto desarrollo de todos estos procesos.

#### E. Telencéfalo

Finalmente, el telencéfalo es la porción más craneal y más extensa del encéfalo. Consta de una parte media y de dos divertículos laterales, las vesículas telencefálicas, primordios de los futuros hemisferios cerebrales (**Figura 11-A**). En la porción media de la cavidad interna del telencéfalo se forma el extremo anterior del tercer ventrículo que se comunica a través del agujero interventricular con los dos ventrículos laterales asociados a sus respectivas vesículas telencefálicas en formación. Este agujero interventricular se irá angostando en la medida que ambas vesículas sufran un proceso de crecimiento. La transformación de estas vesículas en los hemisferios cerebrales se da como consecuencia de un drástico proceso de expansión en el que se llega a recubrir el diencefalo, el mesencefalo, el mielencefalo y parte del metencefalo hasta darle al cerebro su forma característica. El continuo engrosamiento de ambos hemisferios conduce al encuentro de ambas estructuras a la altura de la línea media. Como consecuencia de dicho encuentro se da un proceso de aplanamiento a nivel de sus superficies internas adyacentes. El tejido atrapado a la altura de la línea media da lugar a una zona llamada hoz del cerebro. Por debajo de este tabique, ambos hemisferios permanecen conectados a nivel del techo ependimario del tercer ventrículo por el cuerpo caloso y los plexos coroideos. Si bien es cierto que a lo largo del desarrollo embrionario se observa un progresivo aumento de las vesículas telencefálicas, sus superficies externas permanecen

estando lisas hasta la semana catorce del desarrollo. A partir de ese momento la corteza cerebral empieza a plegarse dando origen al desarrollo de los primeros surcos cerebrales. El desarrollo de las circunvoluciones es incluso más tardío pudiendo visualizarse al octavo mes de desarrollo. Esta transformación cortical también se produce a nivel de las regiones internas del telencéfalo. Así, la base de cada vesícula se engrosa hasta formar el cuerpo estriado, una estructura en forma de coma echada con una orientación ventral respecto de los ventrículos laterales (65). En las regiones telencefálicas internas adyacentes al techo dorsal del diencéfalo surgen los plexos coroideos responsables de la secreción del líquido cefalorraquídeo (*cerebrospinal fluid*, CSF) (**Figura 12**). Adyacente a cada uno de ellos se forma una región que, por su morfología tan característica, adquiere el nombre de hipocampo. Finalmente, también en la región interna, aunque más rostral respecto de la anterior, se forma un par de evaginaciones muy características: los bulbos olfatorios. Como se verá más adelante ambas regiones, el hipocampo y los bulbos olfatorios, adquieren un valor importantísimo dentro del proceso de neurogénesis cerebral.

### 2.2.3 Estructuras complementarias

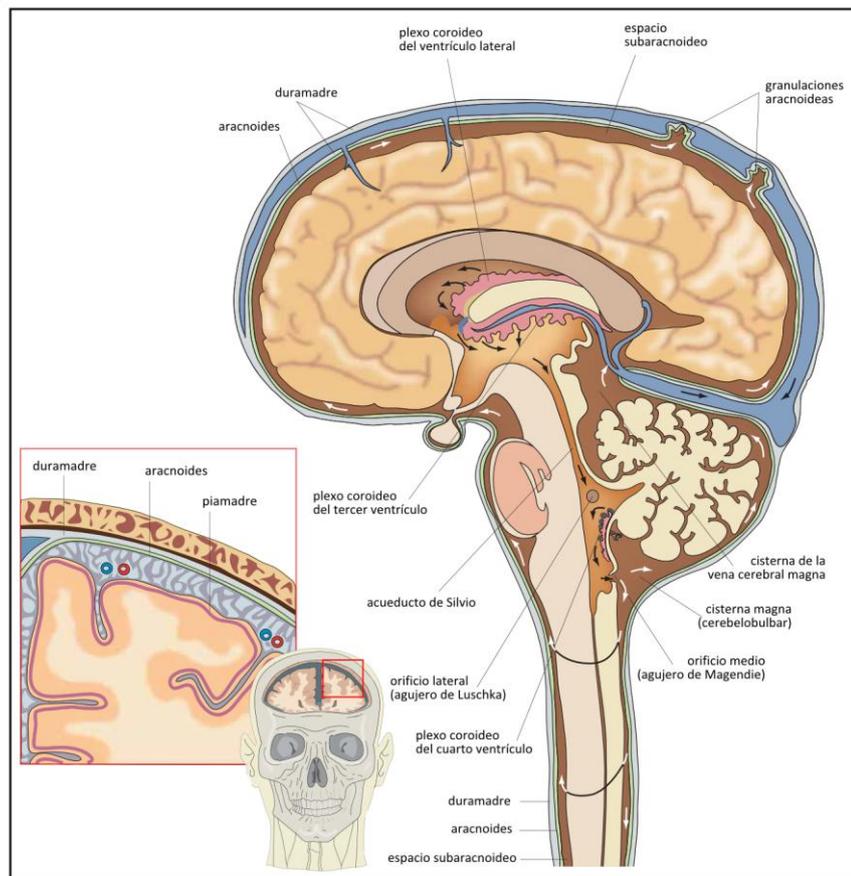
El buen funcionamiento del CNS requiere el desarrollo de un sistema de protección que garantice un microambiente estable y altamente protegido frente a cualquier tipo de agente tóxico. En esta tarea, es necesaria la formación de una coraza ósea, el cráneo y la columna vertebral. Además, se desarrolla un fino sistema de protección, lubricación y aislamiento respecto al resto del cuerpo. Este sistema está constituido por tres estructuras especiales: el líquido cefalorraquídeo, las meninges, y la barrera hemato-encefálica.

#### A. El líquido cefalorraquídeo

Durante el desarrollo de los ventrículos encefálicos se constituye un fino tejido epitelial que reviste los mismos. Este tejido, derivado de las células neuroprogenitoras remanentes de la zona ventricular, es el epéndimo. Un grupo de células del epéndimo, que se localizan en las paredes de los ventrículos laterales, forman el plexo coroideo y para ello sufren un proceso de diferenciación que las lleva a transformarse en células secretoras del líquido cefalorraquídeo (**Figura 4**). El CSF fluye a través de los ventrículos hasta alcanzar el canal central de la médula espinal donde parte del mismo continúa su recorrido a lo largo del canal de la médula,

mientras que otra porción es drenada desde el cuarto ventrículo al exterior del CNS donde es recogido en el espacio subaracnoideo (**Figura 12**). Se sabe que el CSF es responsable de la protección, la flotabilidad, y la estabilidad homeostática del CNS. Se sabe que el CSF cumple un importante papel tanto como un medio de transporte como un inductor de la neuroregeneración celular (97). Estudios recientes parecen indicar que el CSF actúa en células neuroprogenitoras como un fuerte inhibidor de la neurogénesis pero como un importante inductor de la gliogénesis (98).

**Figura 12. Meninges y circulación del líquido cefalorraquídeo.** En el diagrama se observa un plano sagital del encéfalo en el que se muestra la circulación del CSF alrededor del CNS. En el recuadro inferior se amplía una sección frontal del encéfalo en el que se observa la distribución de las meninges que cubren el encéfalo. [CNS: central nervous system; CSF: cerebrospinal fluid] Adaptado de Portell, 2010. Ref. (87)



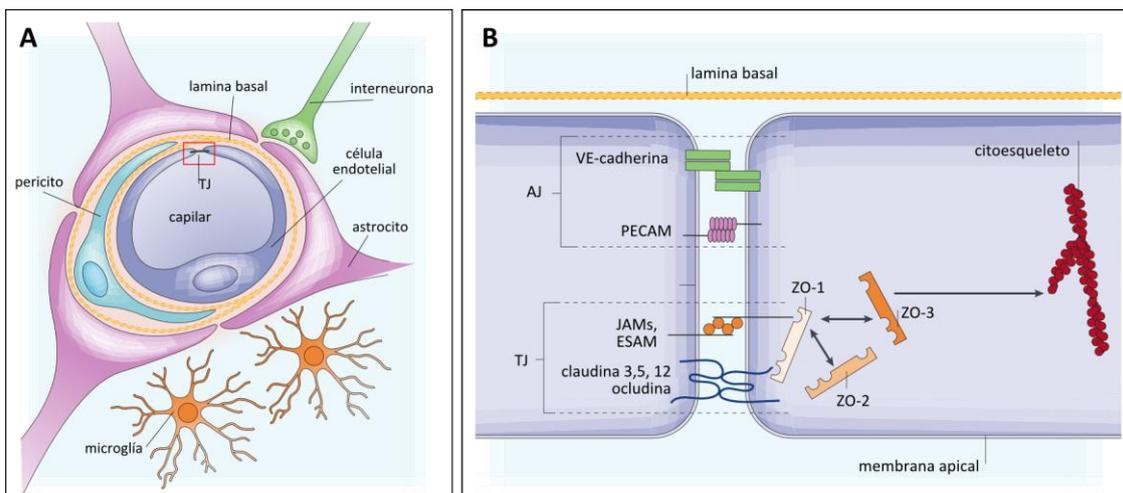
## B. Las meninges

Al inicio del desarrollo fetal surgen dos capas celulares que cubren el encéfalo y la médula espinal. La más externa y gruesa, de origen mesodérmico, constituye la duramadre, la cual está unida a las estructuras óseas en desarrollo. Por su parte, la más interna, y en contacto con la zona marginal del encéfalo y médula, surge a partir de la cresta neural. Durante el desarrollo, esta capa se subdivide en dos: la piamadre, más interna y en contacto directo con la zona marginal del encéfalo y la médula; y el aracnoides, localizada entre las otras dos (**Figura 12**).

Entre el aracnoides y la piamadre se extiende el espacio subaracnoideo donde se deposita el CSF que es drenado a partir del cuarto ventrículo para luego ser reabsorbido por las células granulares aracnoideas (99). En conjunto, estas capas cumplen un importante papel protector y regulador de la homeostasis del CNS.

### C. La barrera hemato-encefálica

Durante el desarrollo fetal se empieza a establecer una barrera celular entre la sangre y los componentes neurales del CNS. Se trata de la barrera hemato-encefálica (*blood-brain barrier*, BBB) (100). La BBB cumple un papel fundamental en el mantenimiento de las condiciones iónicas necesarias para el óptimo funcionamiento de las comunicaciones sinápticas, en la protección del CNS frente a sustancias potencialmente neurotóxicas presentes en el plasma sanguíneo, y en el mantenimiento de un ingreso selectivo de nutrientes desde los capilares sanguíneos (101). Se sabe que la formación de la BBB está mediada a nivel molecular por la liberación neuroectodérmica de Wnt/ $\beta$ -cat (102). La BBB está compuesta por las células endoteliales de los vasos sanguíneos, los pericitos, y los podocitos de los astrocitos, junto a sus membranas basales que en su conjunto establecen varios niveles de cobertura de los vasos sanguíneos constituyendo una barrera prácticamente impermeable a la gran mayoría de las sustancias que pueden ser transportadas a través de la sangre. A nivel molecular, las células endoteliales establecen fuertes uniones intercelulares (*tight junctions*), en las que juegan un lugar preponderante las JAM (*junctional adhesion membrane*), y dos tipo de proteínas integrales de membrana: las ocludinas (*Occludin*) y las claudinas (*Claudin*) (103) (**Figura 13**).



**Figura 13. La barrera hemato-encefálica. (A)** Constitución celular de la BBB. **(B)** Estructura molecular de las uniones adherentes. [BBB: blood brain-barrier; TJ: Tight junctions] Adaptado de Abbott, 2006. Ref. (104)

## 2.3. Formación del sistema nervioso periférico

### 2.3.1 Organización y funcionamiento

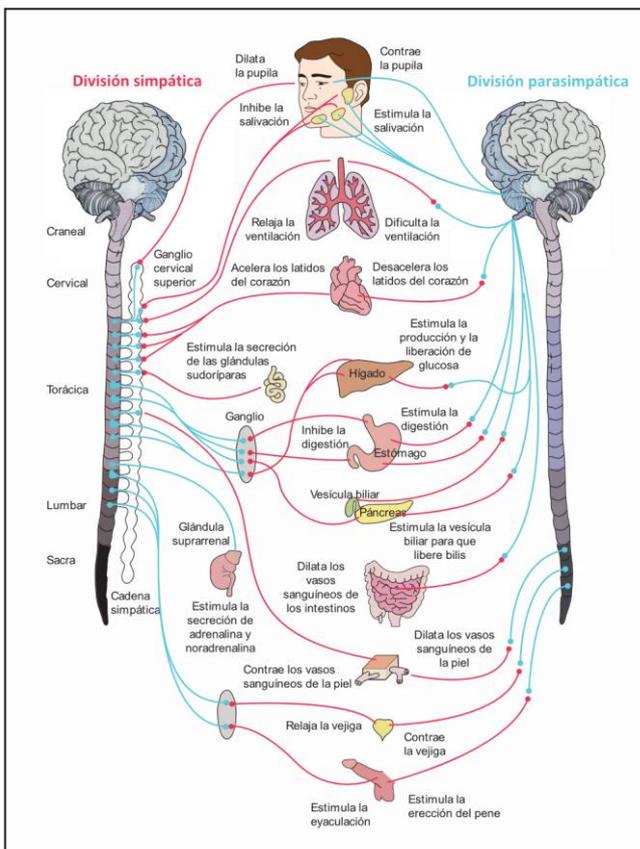
Como se dijo al inicio de este capítulo, el sistema nervioso periférico (*peripheral nervous system*, PNS) incluye todos los nervios que asocian el CNS con el resto de estructuras del cuerpo humano. Estas prolongaciones nerviosas se extienden desde diversas regiones del CNS y de los ganglios o agrupamiento de cuerpos neuronales, derivados de la cresta neural, a prácticamente todas las demás estructuras que componen el cuerpo humano.

A diferencia del CNS en el que existe la BBB, el cráneo y la columna vertebral, gran parte de las regiones que conforman el PNS están desprovistas de estructuras complementarias de protección y regulación homeostática. Esta diferencia lo hace más susceptible a la acción de agentes neurotóxicos. Por otro lado, las prolongaciones nerviosas del PNS pueden estar o no recubiertas de mielina. Cuando ello ocurre, las células de Schwann –un tipo de células de la glía derivadas de la cresta neural– son las responsables de producir la mielina. Un hecho interesante es que a diferencia de lo que ocurre con los oligodendrocitos en el CNS, en el PNS cada célula de Schwann recubre una única porción de un axón (105). Esta cobertura de mielina funciona no sólo como una cubierta protectora sino que además permite una mayor velocidad en la transmisión del impulso eléctrico a lo largo de dicha prolongación nerviosa.

Funcionalmente, el PNS puede ser de tres tipos: somático (*somatic nervous system*, SNS), autónomo (*autonomic nervous system*, ANS), y entérico (*enteric nervous system*, ENS). El primero es responsable de inervar estructuras sensoriales y motoras; el segundo es responsable del control visceral del cuerpo humano; y el tercero es el responsable del control gastrointestinal. No obstante, estos sistemas funcionan con cierto grado de asociación. Así, por ejemplo, en algunas regiones el ANS permite un control parcial desde el SNS, como es el caso de la respiración.

En el SNS adulto se observan dos tipos de prolongaciones nerviosas: las vías aferentes, responsables de la recepción de los estímulos sensoriales externos, y las vías eferentes, responsables del control voluntario de los músculos esqueléticos del cuerpo. Las primeras se componen de neuronas sensoriales, un tipo especializado de neuronas derivadas de la cresta

neural, capaces de recibir estímulos no neuronales a partir de las células de los órganos de los sentidos. Las neuronas sensoriales extienden largas dendritas cubiertas de mielina desde los órganos aferentes hasta sus somas agrupados en ganglios localizados en una región dorsal respecto de la médula. Desde allí, estas neuronas extienden cortos axones, también cubiertos de mielina, que penetran en la médula a nivel de la zona dorsal de la misma. Dentro de la médula, unas neuronas especializadas de pequeño tamaño, las interneuronas, funcionan como intermediario celular entre el axón de las primeras y las dendritas de un tercer tipo de neuronas, las neuronas motoras, localizadas en la región ventral de la médula. Estas últimas extienden largos axones, también cubiertos por mielina, desde la zona ventral de la médula hasta las estructuras efectoras motoras. Esto constituye la base anatómica del reflejo espinal. Fuera de la médula, ambas vías nerviosas –aferentes y eferentes– siguen caminos independientes hasta la altura de los ganglios dorsales, a partir de allí ambas vías se extienden en agrupaciones nerviosas compartidas, semejantes a autovías de doble calzada.



**Figura 14. Sistema nervioso periférico simpático y parasimpático.** Tomado de Portell, 2010. Ref. (87)

A nivel funcional, el ANS se divide en dos subsistemas: uno para el control visceral en estado de reposo, el sistema nervioso parasimpático, y otro para disparar un estado de alerta involuntario ante una situación de estrés, el sistema nervioso simpático (Figura 14). Estas diferencias funcionales también se aprecian a nivel estructural en la disposición de las neuronas que constituyen ambos sistemas.

En el sistema simpático las neuronas se localizan en el CNS, reciben el nombre de neuronas pre-ganglionares, y se distribuyen en diversas regiones de la médula desde donde extienden axones recubiertos

con mielina hasta los ganglios ventrales vecinos a la médula donde establecen uniones sinápticas. Las neuronas de estos ganglios, llamadas neuronas post-ganglionares, extienden a su vez axones, desprovistos de mielina, hasta las regiones donde establecen sus dianas. En el sistema parasimpático no existen ganglios de este tipo y con esta disposición. Los ganglios parasimpáticos se localizan en regiones adyacentes a los órganos diana, lo que conlleva que las neuronas pre-ganglionares recorran, en la mayoría de los casos, largas distancias. Molecularmente, estas particularidades se observan incluso a nivel del uso diferenciado de dos tipos principales de neurotransmisores: la acetilcolina (*acetylcholine*, ACh) y la noradrenalina (*noradrenaline*, NA). Las células parasimpáticas y las células pre-ganglionares simpáticas usan ACh, adquiriendo el nombre de colinérgicas; por su parte, las células post-ganglionares simpáticas usan NA, por lo que se les conoce como adrenérgicas. A nivel molecular, se sabe que el proceso de diferenciación en neuronas colinérgicas o adrenérgicas es una acción mediada por ciertos tipos de neurotrofinas (*neurotrophins*) (106). Dentro de ellas, una de las más importantes es el factor de diferenciación colinérgico ó también llamado factor inhibidor de leucemia (*Leukemia inhibitory factor*, LIF), responsable de este tipo de diferenciación neuronal por inhibición de la inducción proliferativa liderada por las FGFs (107).

El ENS no sólo es responsable del control visceral entérico sino que incluso asume el control de funciones reflejas a este nivel. Compuesto por más neuronas de las que se encuentran en la médula espinal, el ENS, a diferencia de los otros sistemas del PNS, deriva ontogénicamente de la cresta neural (108). Se sabe que ello se logra por un proceso de colonización poco conocido en el que las células neuroprogenitoras de ciertas regiones de la cresta neural migran a la zona entérica durante el desarrollo embrionario. Sin embargo, estudios recientes han permitido identificar la acción inductora del mesodermo y del endodermo, mediada por Shh a lo largo de este proceso (109). Estas células se establecen en el revestimiento entérico donde siguen un proceso de diferenciación hasta constituir el ENS. Las células que lo componen se agrupan en dos tipos de ganglios localizados en el sistema digestivo. Su gran complejidad le permite funcionar con un alto grado de autonomía aunque sin perder una comunicación con el CNS a través del ANS. Dentro de sus estructuras se incluyen neuronas aferentes, eferentes, interneuronas, células de la glía, e incluso desarrollan una barrera semejante a la BBB anteriormente descrita (110).

### 2.3.2 Desarrollo de las prolongaciones nerviosas

Como se ha visto, el PNS cubre prácticamente todas las regiones del cuerpo. Ello supone el desarrollo de extensas prolongaciones nerviosas por parte de las neuronas en desarrollo. La comprensión de los procesos moleculares responsables de este proceso se plantea como todo un reto tanto para la ciencia como para el desarrollo de futuras tecnologías neuroregenerativas.

Se sabe que en una neurona en proceso de diferenciación unas de las zonas con mayor actividad citoplasmática son las neuritas. Esto es, el axón y las dendritas en desarrollo. Estas neuritas aparecen conducidas por conos de crecimiento (111). Un cono de crecimiento es una región ampliada de citoplasma en cuya superficie se observa la presencia de filopodios compuestos principalmente por microfilamentos de actina. La interacción de los filopodios con el medio adyacente va dirigiendo el crecimiento del cono y por ende de la neurita en su conjunto. Así, en un medio favorable el cono se extiende, por el contrario, condiciones adversas lo retraen. A nivel molecular, este movimiento ha sido muy estudiado lo que ha permitido determinar un amplio grupo de factores responsables del mismo. Es el caso de la acción coordinada de las netrinas y las semaforinas (112); los factores tenascina, fibronectina y laminina que son liberados en la matriz extracelular desde la cresta neural y las células de Schwann (113); o más recientemente, la acción inductora de  $\beta$ -catenina dependiente de la ruta Wnt (114) y de ciertos tipos de cadherinas (115), liberadas desde las células de Schwann y que actúan tanto en el proceso de elongación del axón como en la adhesión del cono.

Al proceso de prolongación sigue la formación de la sinapsis. Esto es, el proceso por el cual la neurita alcanza su célula diana donde empieza a establecer una unión funcional. Estas sinapsis pueden ser establecidas entre neuronas o entre una neurona y una célula muscular (unión neuromuscular). Este proceso conlleva modificaciones en las zonas sinápticas tanto de la neurona presináptica como de su célula diana. Se ha visto que en este proceso uno de los cambios más drásticos se observa principalmente en éstas últimas, en las que la adecuada configuración de los receptores postsinápticos resulta fundamental. En las uniones neuromusculares, el proceso es mediado por la proteína postsináptica MuSK y el factor neuronal agrina (*Agrin*) (116).

En el proceso de formación de las prolongaciones nerviosas, las células precursoras de las células de Schwann también sufren un drástico proceso de selección que lleva o bien a la diferenciación funcional o a la muerte celular. Uno de los responsables moleculares de este proceso son las neurorregulinas. Se ha observado que los precursores de las células de Schwann que se asocian a los axones en desarrollo reciben por parte de estos una dosis continua de neurorregulinas, las cuales inducen la formación de mielina. En cambio, las células que no lo hacen no sólo carecen de estos factores sino que además entran en apoptosis. Estos hechos han llevado a suponer que las neurorregulinas son una de los responsables moleculares de la asociación entre el número de células de Schwann y el número de axones (117). La muerte celular no sólo afecta a las células de Schwann, sino también a las neuronas en desarrollo. Durante el desarrollo del PNS se establecen más prolongaciones nerviosas que las existentes en estado adulto, esto se debe a que durante el proceso de establecimiento de las conexiones sinápticas se da un proceso de apoptosis que permite corregir aquellos tipos de empalmes nerviosos que no son adecuadamente eficientes (118). En este mecanismo parecen estar involucradas células de la microglia (119).

#### **2.4. Neurogénesis y migración celular**

Detrás de todos los complejos procesos de desarrollo antes descritos subyace uno de semejante o mayor magnitud de complejidad a nivel celular. Se trata del proceso de neurogénesis, el cual no sólo da origen al desarrollo embrionario de los diversos linajes celulares que conforman el sistema nervioso humano sino que además se mantiene, aunque en menor medida, a lo largo de la vida adulta del individuo.

La neurogénesis celular, como ya se ha dicho, es un proceso de alta complejidad y que aún no es del todo entendido. Se sabe que está regulado desde los estados más tempranos del desarrollo nervioso manteniéndose incluso, aunque de manera más localizada, a lo largo de la vida del individuo adulto. También se sabe que esta regulación se da tanto intracelular como extracelularmente. A nivel intracelular, se regula tanto por la temprana expresión genética de factores responsables del control mitótico, como por la apoptosis controlada responsable de reducir la sobreproducción inicial de células hasta alcanzar una población adulta funcionalmente activa. Entre los genes descritos como responsables de estos procesos se encuentran varios oncogenes y otros que actúan sobre el control del ciclo celular de estas

células, es el caso de Myc, Max, Mad, y p27 (120, 121). A nivel extracelular, esta regulación se da por la acción inductora de factores mitógenos, responsables de promover la proliferación en células neuroprogenitoras, o bien inhibidores mitóticos, responsables de inducir la diferenciación en neuroprogenitores intermediarios que posteriormente darán lugar a diversos tipos de células especializadas. El grupo de factores involucrados resulta notablemente grande, baste mencionar el caso de los FGFs, EGFs, TGFs, y factores Wnt entre otros que se verán más adelante (71, 122). Además, algunos estudios vienen poniendo en evidencia que ambos niveles de regulación actúan en estrecha comunicación entre sí, lo que plantea un mayor grado de complejidad a la comprensión de todo el proceso.

#### **2.4.1 Regulación de la neurogénesis embrionaria**

La neurogénesis se inicia con la formación del tubo neural, el cual en su estado más temprano está constituido por una capa individual de células. A medida que avanza la neurogénesis, las células neuroprogenitoras experimentan un número considerable de divisiones celulares que lleva a la formación de un tubo mucho más grueso en el que se observa la formación de una zona adyacente al ventrículo o zona ventricular, una zona intermedia, y una zona marginal más periférica. Las células localizadas en la zona ventricular son las precursoras de las neuronas y de las células de la glía. Estas células experimentan entre uno y dos ciclos celulares diarios al inicio de la neurogénesis. Las divisiones que sufren estas células en algunos casos son simétricas pero en otros son asimétricas. Esta diferencia está asociada con la orientación del huso mitótico de la célula en división respecto a la superficie del canal central. Así, se ha observado que si el plano de división durante la metafase es perpendicular al canal, es decir que el huso mitótico es paralelo a la superficie del canal, las dos células hijas mantienen la condición neuroprogenitora de la célula madre (división simétrica). Si por el contrario, el plano de división va en paralelo a la superficie del canal, es decir, la orientación del huso mitótico es perpendicular, el destino de las células hijas será como sigue: la célula orientada a la zona ventricular mantendrá la condición neuroprogenitora de la madre, en cambio aquella que resulta orientada a la zona marginal abandonará el ciclo e iniciará un rápido proceso de migración en dirección a dicha zona donde se diferenciará (división asimétrica). Se sabe que esta célula post-mitótica, a diferencia de su hermana neuroprogenitora, hereda una alta concentración de receptores de gran importancia en la neurogénesis, son los receptores tipo

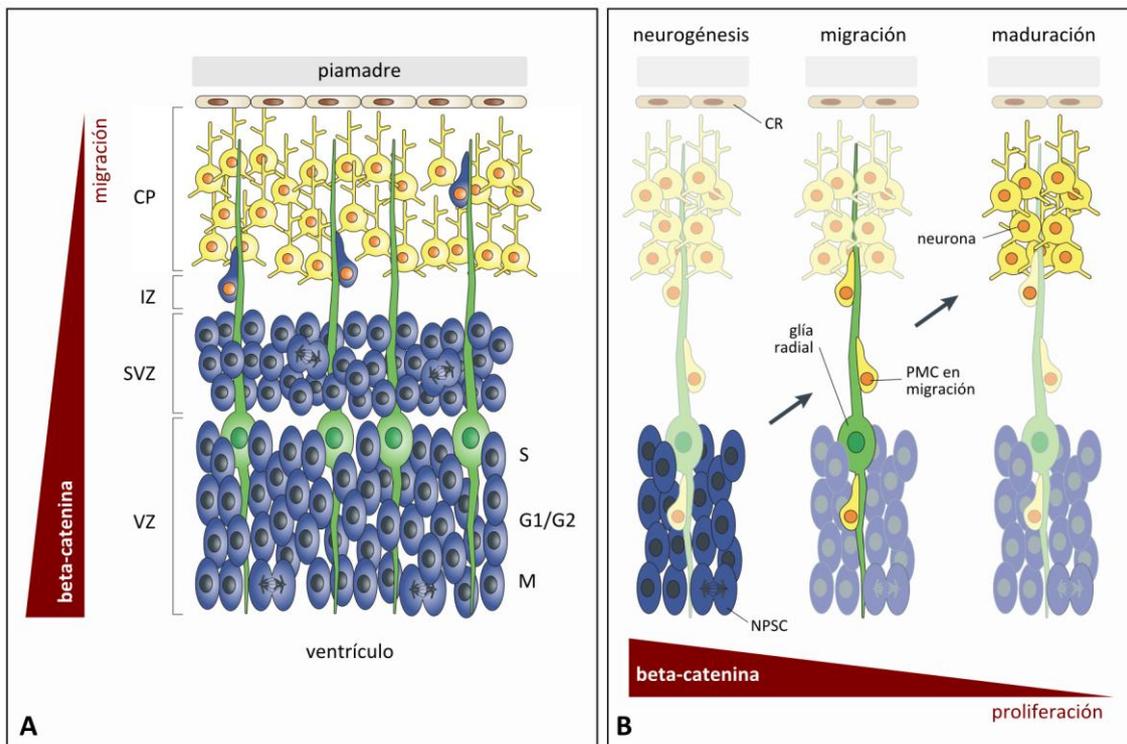
Notch presentes en su membrana celular debido a una distribución asimétrica de los mismos en los estados mitóticos previos a la citocinesis (123).

Diversos modelos experimentales han permitido saber que el número de células generadas por una célula neuroprogenitora de la zona ventricular está en relación directa tanto con la fase de desarrollo como con la región del tubo en la cual se encuentre. Del mismo modo, se sabe que la duración del ciclo celular de estas células es mayor conforme avanza el estado de desarrollo embrionario debido a un aumento en el tiempo transcurrido en la fase G1. Todas estas observaciones han llevado a considerar la necesaria participación de factores reguladores dentro de la neurogénesis (124). Uno de estos factores son las señales de la ruta Wnt/ $\beta$ -catenina, cuya concentración es menor en la zona intermedia respecto a la zona ventricular en la porción craneal del tubo. A partir de este hecho se ha podido asociar una acción reguladora de la  $\beta$ -catenina con la proliferación de las células neuroprogenitoras (125).

#### **2.4.2 Neurogénesis en la corteza cerebral**

La fuente de la cual procede la mayor parte de las células del CNS es el conjunto de células madre multipotenciales que constituyen el neuroectodermo. Estas células experimentan continuas mitosis antes de transformarse en las células neuroprogenitoras precursoras de las células neuroprogenitoras neuronales y gliales. Se sabe que la decisión por alguno de los dos linajes obedece a un cambio en la expresión de sus genes. Uno de éstos es el gen responsable de la producción de nestina, un filamento intermedio cuya expresión se ve disminuida conforme las células avanzan en su proceso de diferenciación (126). En proceso similar a lo observado con la  $\beta$ -catenina, la reducción de la expresión de nestina ha sido asociada al paso de células neuroprogenitoras comunes a dos tipos de células neuroprogenitoras intermedias: las células neuroprogenitoras neuronales, responsables de generar los diversos tipos de neuronas, y las células neuroprogenitoras gliales, responsables de la formación de los distintos tipos de células de la glía (126). En un primer momento, las células neuroprogenitoras de la zona ventricular experimentan ciclos mitóticos simétricos en los que dan lugar a células neuroprogenitoras intermedias fenotípicamente semejantes a las primeras. En un segundo momento, algunas de las células neuroprogenitoras neuronales pasan de tener ciclos simétricos a tener ciclos asimétricos. De estos ciclos se producen células post-mitóticas que migran a la pre-placa de la zona marginal adyacente a la cara interna de la piamadre. Una

porción de estas células se diferencian, en la región más marginal, a células de Cajal-Retzius; otras en cambio lo hacen hacia neuronas que se ubican en la sub-placa más ventricular de la zona intermedia. Una vez se ha completado este proceso, algunas células neuroprogenitoras de la glía empiezan a diferenciarse a células de la glía radial. Estas células se extienden desde la zona ventricular hasta la zona más marginal de la corteza adquiriendo la forma de una especie de cables guía a través de los cuales las neuronas post-mitóticas migrarán a la placa cortical, localizada entre la zona intermedia y la ocupada por las células de Cajal-Retzius. Una vez que la glía radial se ha formado, las células neuroprogenitoras neuronales de la zona ventricular dan lugar a más células post-mitóticas, las cuales migran a lo largo de la glía radial gracias a unos finos filopodios que usan a modo de agarraderas (88) (Figura 15).



**Figura 15. Desarrollo de la corteza cerebral humana.** (A) En el esquema se observa como el proceso de migración de las células post-mitóticas (PMC) desde la VZ hasta la zona adyacente a la piamadre está acompañado de una progresiva disminución en la actividad de beta-catenina. (B) En el esquema se distinguen los tres momentos principales del desarrollo: la neurogénesis, la migración y la maduración. A este nivel, varios estudios han demostrado una disminución en la actividad de beta-catenina. [CP: cortical plate; IZ: intermediate zone; SVZ: subventricular zone; VZ: ventricular zone; S: synthesis; M: mitosis; NPSC: neuroprogenitor stem cells; PMC: post-mitotic cells; CR: Cajal-Retzius cells] Tomado de Herrup, 2007. Ref. (127); y Mutch, 2009. Ref. (128)

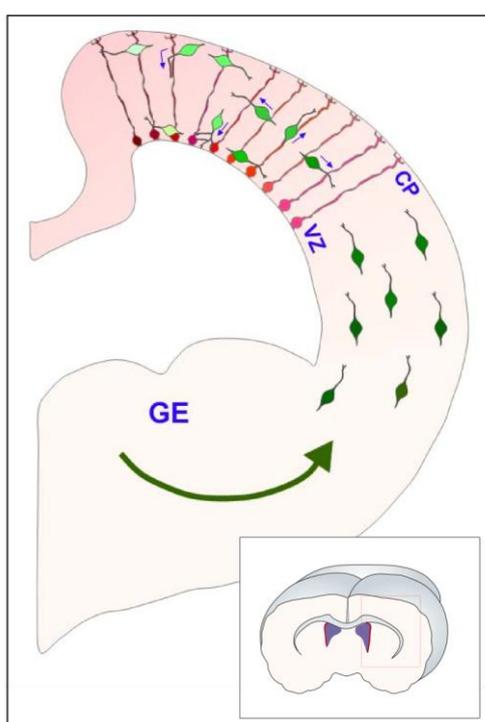
La permanente proliferación y migración de neuronas a través de la glía radial conduce a un progresivo engrosamiento de la corteza cerebral embrionaria. Poco a poco, en la corteza se

hace más visible la zona ventricular, la zona intermedia derivada de la sub-placa, la placa cortical, y la zona marginal. A medida que las neuronas migran se ubican en estratos más apicales respecto a la primera placa cortical. En consecuencia, las neuronas más jóvenes deben recorrer mayores distancias en comparación con sus hermanas mayores en un patrón migratorio “desde dentro hacia afuera” (129). Los mecanismos moleculares responsables de este complejo proceso han sido materia de amplio estudio, no obstante, al día de hoy siguen siendo muchos los puntos que aún quedan por resolver. Se sabe que la reelina, una proteína liberada por las neuronas de Cajal-Retzius, es muy importante en la regulación de la migración neuronal. La reelina es reconocida por dos receptores presentes en la membrana de la neurona post-mitótica: la VLDLR (*Very low density lipoprotein receptor*) y la ApoER2 (*Apolipoprotein-E receptor-2*). La unión de la reelina con estos receptores lleva a la formación de un complejo VLDLR/ApoER2, el cual provoca una serie de cambios intracelulares necesarios para la formación de los filopodios (130). Sin embargo, este mecanismo no es el único; la misma neurona posee un mecanismo responsable de la formación de filopodios el cual es mediado por Dab-1 (131) y C3G (132). Lo que no está del todo claro es el tipo de comunicación existente entre ambos mecanismos, no obstante se ha visto que la supresión de cualquiera de ellos compromete seriamente todo el proceso llegando a manifestar patológicamente en el desarrollo de la lisencefalia o ausencia parcial o total de los surcos y giros de la corteza cerebral (132).

En los últimos años, un tercer mecanismo regulador ha sido descrito. Se trata de la ruta Wnt/ $\beta$ -catenina, la cual parece cumplir un papel importante en la regulación de la migración cortical (128). Se ha observado que la concentración de  $\beta$ -catenina es mayor en la región más ventricular y menor en las región más cortical. Por tanto, parece que el gradiente de señalización de  $\beta$ -catenina funciona tanto como un regulador de la tasa de proliferación de las células neuroprogenitoras, como de la migración celular y de la posterior diferenciación cortical (125) (**Figura 15**).

No obstante, algunas investigaciones también han demostrado que no todas las neuronas que se forman migran en un sentido radial. Y las que lo hacen tampoco se localizan siempre en un patrón desde dentro hacia fuera. Se sabe, por ejemplo, que un grupo importante de interneuronas y neuronas GABAérgicas, una vez formadas, migran en un sentido tangencial desde las prominencias ganglionares medial y lateral (*medial ganglionic eminence/lateral*

*ganglionic eminence*, MGE/LGE) siguiendo un patrón a veces independiente y otras veces dependiente de la migración mediada por las células de la glía radial (133) (**Figura 16**). Poco se sabe de los mecanismos, intrínsecos y extrínsecos, que regulan este tipo de migraciones aunque se ha descrito un grupo de proteínas de la familia de las semaforinas involucradas en el proceso (134). El cerebelo es otro ejemplo de un modelo de migración distinto; en su estructura no sólo se observa una migración tangencial, sino que en el proceso radial el patrón termina siendo inverso al observado en el resto del encéfalo lo que se manifiesta morfológicamente en la diferente distribución de la sustancia gris presente en él (65).



**Figura 16. Migración celular durante el desarrollo de la corteza cerebral.** En el diagrama se distinguen dos patrones de migración en el cerebro de ratón: uno radial (rojo) dirigido por la glía radial, y otro tangencial (verde) de las interneuronas que provienen de la prominencia ganglionar media/lateral [GE: ganglionic eminence; VZ: ventricular zone; CP: cortical plate] Tomado de Yokota, 2007. Ref. (134)

Todo el proceso concluye cuando las últimas células neuroprogenitoras gliales de la zona ventricular dejan de producir células de la glía y ellas mismas se diferencian hacia células del epéndimo ventricular.

#### 2.4.3 Neurogénesis en la corteza cerebelar

La corteza cerebelar –al igual que la corteza cerebral– presenta un complejo proceso de migración aunque con un patrón distinto al observado en el resto del encéfalo y en el que merecen especial atención dos tipos de células dada su importancia: las células de Purkinje, neuronas de gran tamaño y las más importantes de la corteza cerebelar; y las neuronas cerebelares granulares o granos del cerebelo. El proceso de neurogénesis y distribución de estas células sigue un patrón radial y tangencial. Las células de Purkinje se forman a partir de la zona

ventricular a la altura del cuarto ventrículo de una manera similar a la descrita para las neuronas de la corteza cerebral. Tras la división mitótica estas células migran radialmente una corta distancia para ubicarse en forma de una capa irregular denominada placa cerebelar. Por su parte, las neuronas granulares se forman en dos zonas superficiales localizadas en las

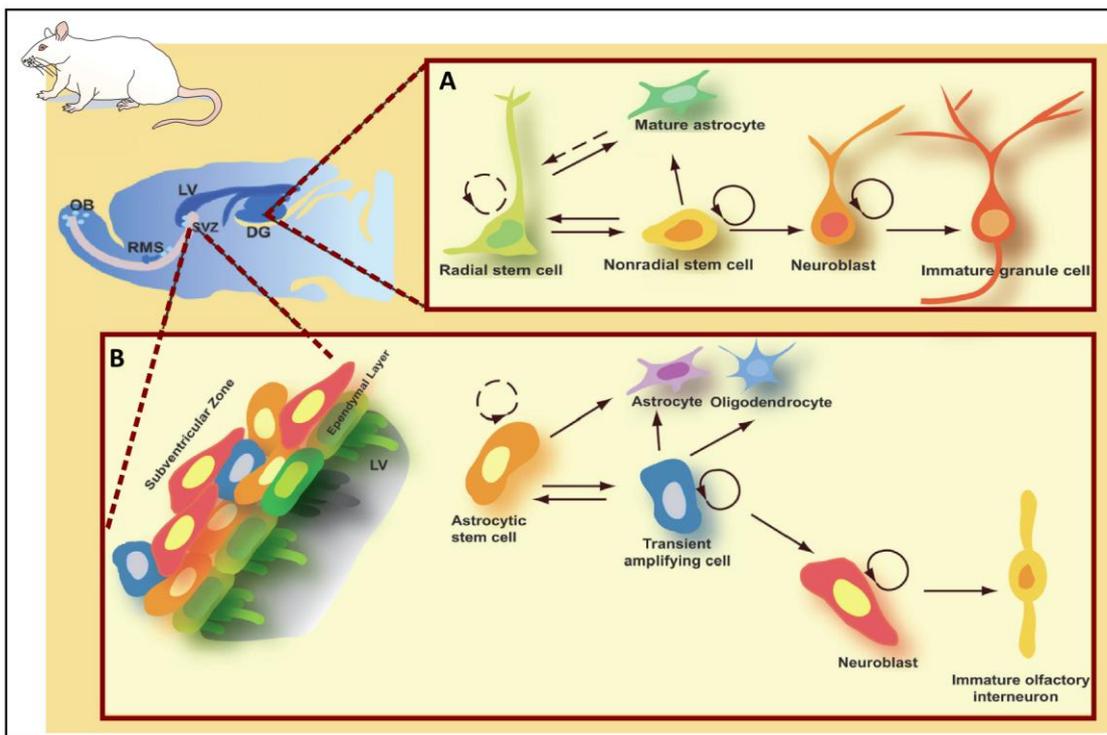
paredes laterales del cuarto ventrículo. Desde allí migran a zonas más profundas en un patrón “de afuera hacia adentro” hasta localizarse incluso por debajo de las células de Purkinje. En este proceso no sólo cambian de posición sino que también sufren un drástico cambio morfológico desde una configuración redondeada hasta adquirir una configuración aplanada y muy alargada. En el proceso de migración de las células granulares otro tipo de células derivadas de la glía radial, denominado glía de Bergmann, extiende prolongaciones haciendo las veces de guía (88). Poco se sabe del mecanismo molecular que modula este proceso, no obstante, un estudio reciente ha demostrado que la actividad del gen *Huwe1*, presente en el cromosoma X y con una reconocida influencia en la inducción de apoptosis, puede jugar un papel importante en la dirección de dicho proceso. Se ha observado que el silenciamiento parcial de dicho gen provoca la desorganización de la glía de Bergmann y en consecuencia una distribución aberrante de las células granulares de la estructura cerebelar (135).

#### **2.4.4 Migración celular y desarrollo de zonas secundarias de neurogénesis**

Como se ha visto, a veces las neuronas pueden migrar distancias considerables desde el sitio donde se originan hasta el lugar donde se diferencian definitivamente. Aunque en todos los casos descritos hasta ahora la migración ha correspondido básicamente a neuronas post-mitóticas. No obstante, hay regiones cerebrales en las que las propias células neuroprogenitoras migran desde la zona ventricular a regiones donde siguen generando neuronas. Estas regiones toman el nombre de zonas secundarias de neurogénesis. En el desarrollo del cerebro de los mamíferos existen tres zonas secundarias de neurogénesis: la zona subventricular de los ventrículos laterales, la zona subgranular del hipocampo, y la capa granular externa del cerebelo.

La zona subventricular (*subventricular zone*, SVZ) es una región especializada de la pared lateral anterior de los ventrículos laterales. La SVZ se forma como una zona neurogénica secundaria al final de la embriogénesis supra-adyacente a la zona ventricular. (**Figura 17**) En ella se siguen formando células neuroprogenitoras de neuronas y de la glía mucho después de que las células de la zona ventricular han cesado su capacidad proliferativa. De hecho, se presume que la mayoría de las células de la glía, exceptuando los oligodendrocitos que ingresan por el borde del telencéfalo, provienen de allí. También se sabe que esta zona es responsable de la formación de diversos tipos de neuronas, incluso durante la vida adulta del

sujeto. Por su parte, las células neuroprogenitoras de la circunvolución dentada del hipocampo migran, al inicio de la neurogénesis, desde la zona ventricular adyacente. La región en la que estas células se localizan toma el nombre de zona subgranular del hipocampo (*subgranular zone, SGZ*). (**Figura 17**) Desde allí estas células siguen produciendo neuronas durante el resto del desarrollo embrionario e incluso a lo largo de la vida adulta. Un proceso similar al descrito para la SGZ del hipocampo tiene lugar en el cerebelo, descrito en la sección anterior. Sin embargo, en el cerebelo, a diferencia de lo que sucede en el hipocampo, la neurogénesis cesa al término del desarrollo embrionario.



**Figura 17. Neurogénesis postembrionaria en mamíferos.** En azul se representa un plano sagital del cerebro de una ratona donde se distingue la SGZ y la SVZ. En rosado se indica la RMS que fluye en dirección a los OB. **(A)** Representa el linaje celular derivado de la SGZ. **(B)** Representa el linaje celular derivado de la SVZ. [SGZ: subgranular zone; SVZ: subventricular zone; RMS: rostral migratory stream; OB: olfactory bulbs] Tomado de Johnson, 2008. Ref. (11)

De todos los procesos migratorios de células neuroprogenitoras, sin duda alguna, el que más llama la atención es el que ocurre entre la SVZ y el bulbo olfatorio. Un fenómeno que queda representado por la corriente migratoria rostral (*rostral migratory stream, RMS*). En ella las células migran en cadenas, guiadas por una extensa red de astrocitos, en dirección caudo-rostral (136). (**Figura 17**) No obstante, estudios recientes han permitido identificar que ésta no es la única dirección que siguen las células de la RMS. De hecho, se estima que cerca del 20%

de las células presentan otro tipo de direcciones (137). Aunque inicialmente se pensó que en la RMS tenía lugar un proceso análogo al observado en las células de la glía radial, luego se ha visto que las células de la glía no funcionan como cables guía sino que actúan como orientadoras para el sentido de la corriente. Como ya se mencionó, la RMS se mantiene a lo largo de la vida adulta del individuo. Se calcula que diariamente se forman alrededor de 50.000 células en la SVZ. Sin embargo, no todas alcanzan los bulbos olfatorios; alrededor del 40% lo hace. De éstas, el 95% se diferencian a neuronas fenotípica y funcionalmente activas, de las cuales se estima que el 95% corresponden a células granulares y el 5% restantes a células periglomerulares que incluye ciertos tipos de interneuronas y células especializadas (138). Se sabe que entre las células producidas en los bulbos se encuentran células GABAérgicas, dopaminérgicas y diversos tipos de neuronas. Cuál es el papel de todas estas células en el control homeostático del resto del CNS, es una cuestión que deberá ser materia de futuros estudios.

#### **2.4.5 Neurogénesis postembrionaria y adulta**

Conforme se completa el desarrollo embrionario y fetal, el proceso de neurogénesis va disminuyendo progresivamente en la mayor parte de las regiones del sistema nervioso. De hecho, se sabe que las propias neuronas, una vez diferenciadas, ya no vuelven a ingresar en el ciclo mitótico. No obstante, también se sabe que la neurogénesis no cesa del todo e incluso es bien conocido el caso de activos procesos de neurogénesis en diversas regiones cerebrales en vertebrados tales como peces, anfibios y reptiles, en estadios post-embriónicos y adultos (139). En las aves, la neurogénesis post-embriónica está más localizada encontrándose asociada al desarrollo del canto en época de apareamiento (140). Desde hace ya varios años se sabe que los mamíferos no son ajenos a este fenómeno. Estudios de datación de nacimiento usando timidina permitieron describir en un primer momento la existencia de este tipo de neurogénesis en la SVZ y el bulbo olfatorio (5). Posteriormente se supo que se trataba de células neuroprogenitoras que migraban desde la primera región a la segunda a través de la RMS antes descrita (9). Algunas de ellas dan origen a células post-mitóticas que en el septo nasal se diferencian en un tipo especial de glía (*olfactory ensheathing cells*, OEC) que forma parte del revestimiento de la mucosa olfatoria (141). Se ha demostrado que la extracción de este tipo de células a partir del septo nasal es un procedimiento relativamente sencillo, seguro y potencialmente útil para un grupo limitado de lesiones (142). Un segundo grupo de células

de este tipo fueron descritas en la SGZ. Hoy se sabe que ambas regiones son los dos principales centros generadores de células neuroprogenitoras en el ser humano adulto. Aunque no se descarta la existencia de regiones semejantes en otras partes del cerebro, lo cierto es que hasta la fecha la existencia de tales regiones plantea cierta controversia (143). El por qué se da una neurogénesis post-embrionaria en regiones tan concretas del cerebro tiene su explicación en las funciones de las neuronas que allí se reproducen: la región del hipocampo concentra las neuronas responsables de la memoria espacial, por ende su renovación es el correlato biológico directo del aprendizaje; por otra parte, los somas de las neuronas sensoriales del olfato se localizan en el epitelio nasal, en consecuencia, están permanentemente expuestas a la exfoliación razón por la cual requieren una continua tasa de recambio.

A nivel molecular recientes estudios han demostrado que la  $\beta$ -catenina de la ruta Wnt juega un importante papel regulador en el proceso de diferenciación de las células neuroprogenitoras que migran desde las SVZ hasta los bulbos olfatorios (144). Como ya se describió previamente, la liberación de  $\beta$ -catenina disminuye conforme las células neuroprogenitoras entran en un proceso de diferenciación durante la neurogénesis embrionaria (125). Estudios recientes con ratones transgénicos deficientes en Wnt (Axin2) han demostrado este mismo comportamiento tanto en la SVZ como en la migración de estas células a los bulbos olfatorios (145). Estos y otros estudios parecen corroborar la idea de que las células madre adultas del CNS son capaces de regular el mantenimiento de su propia capacidad auto-regenerativa a través de la secreción de diversos tipos de factores que estarían actuando como señales autocrinas y paracrinas entre el SVZ y los bulbos olfatorios (146). Del mismo modo a lo observado en la SVZ, se ha descrito la acción esencial de Wnt y  $\beta$ -catenina en el mantenimiento de la neurogénesis adulta en la SGZ del hipocampo (147).

### **3. Enfermedades del sistema nervioso potencialmente beneficiarias de una terapia celular**

Los apartados previos han permitido evidenciar por qué el sistema nervioso es la estructura corporal de mayor complejidad y en consecuencia permite entender por qué presenta el mayor consumo energético, la mayor expresión genética, y la mayor gama de funciones corporales, las cuales van desde las actividades motoras más simples hasta el manejo de la conciencia y el aprendizaje. En el cerebro se concentran unos 100 mil millones de neuronas, varios miles de millones de axones y dendritas y cerca de  $10^{15}$  conexiones sinápticas. También se ha visto que las neuronas, base operativa y funcional del cerebro, viven dentro de un denso parénquima celular compuesto por células de la glía. Se estima que en el ser humano adulto por cada neurona pueda haber cerca de 10 células de este tipo. Ante este trasfondo de complejidad, los logros alcanzados por la neurociencia han sido extraordinarios aunque no por ello los retos que quedan por resolver dejan de ser igualmente grandes. Ante este panorama biológico se abre otro de semejantes proporciones: el sanitario y social.

Nuestras sociedades, cada vez más avanzadas, han permitido prolongar el tiempo de vida del ser humano. Ello ha supuesto, por un lado una mayor exposición a condiciones neurotóxicas, y por otro el aumento de condiciones patológicas asociadas al propio desgaste celular del sistema nervioso. Como consecuencia se han desarrollado nuevos trastornos neurológicos, algunos de ellos de particular interés y prioridad debido a su alta incidencia poblacional. Es el caso de la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, o la esclerosis lateral amiotrófica, entre otras. Tal como se verá a continuación, tal escenario exige a la ciencia y a la medicina el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas entre las que destacan las basadas en el uso de células madre.

#### **3.1. Enfermedad de Alzheimer**

##### **3.1.1 La enfermedad**

La enfermedad de Alzheimer (*Alzheimer disease, AD*) es una enfermedad neurodegenerativa que causa una pérdida progresiva de la memoria y de otras funciones mentales como consecuencia de la muerte celular en diferentes zonas del cerebro. Esta enfermedad, en su estado más avanzado, lleva a la demencia. En el 2007 se calcularon en España 9.941 muertes

debidas a ella. Se sospecha que alrededor del 10% de la población mayor de 70 años puede estar en alguna fase asociada a este tipo de trastorno (148). Además de los trastornos directamente derivados de la misma enfermedad, el Alzheimer impone una gran carga emocional para los parientes y cuidadores. Las causas de la enfermedad no son del todo claras y a fecha de hoy se barajan tres posibilidades principales: la disminución de la síntesis de acetilcolina, la acumulación anómala de ciertos tipos de proteínas, y trastornos metabólicos asociados con una mala absorción de glucosa en varias regiones cerebrales.

Entre las proteínas estudiadas destacan las beta-amiloides (*amyloid beta*, A $\beta$ ), cuya acumulación en ciertas regiones cerebrales parece estar asociada tanto con la degeneración neuronal como con una proliferación aberrante de la microglia y astrocitos en pacientes con enfermedad de Alzheimer (149). Se sabe que A $\beta$  es un derivado proteolítico de una proteína de transmembrana, la APP (*amyloid precursor protein*, APP), con aparente actividad neurotrópica y neuroprotectora. Los mecanismos que están detrás de su formación tanto como el tipo de acción neurotóxica que ésta cumple han sido ampliamente estudiados. Algunos estudios han permitido identificar hasta 19 mutaciones en el gen de APP asociadas con su génesis (150). Por su parte, otros estudios han logrado asociar la acumulación de A $\beta$  en el hipotálamo con una alteración en el control de los ritmos circadianos en pacientes con Alzheimer (151). Un segundo tipo de proteínas estudiadas son las Tau. Se sabe que las Tau, en condiciones normales, son responsables de la estabilización de los axones de las neuronas del CNS. Sin embargo, en pacientes con Alzheimer la hiperfosforilación de las Tau produce un cambio estructural que conlleva la pérdida de tales funciones (152).

Entre los trastornos metabólicos, la mayor parte de las investigaciones han centrado su atención en las alteraciones de la insulina. Se ha visto que la sobre-expresión, el silenciamiento, o la alteración de este péptido o de sus receptores cerebrales están asociados con la enfermedad de Alzheimer (153). Se sabe que los pacientes con esta enfermedad presentan cuadros de hiperglicemia derivados de una pobre absorción de glucosa.

En el Alzheimer, como ocurre en otras enfermedades neurodegenerativas, parte del reto está en poder alcanzar una detección temprana de la enfermedad. La determinación del cuadro clínico sigue la presencia sintomatológica, lo que puede suponer en muchos casos una detección del trastorno en etapas avanzadas. Recientes estudios han demostrado que en sus

fases más tempranas el Alzheimer produce alteraciones sobre los vasos sanguíneos. Sobre la base de estas evidencias, estudios recientes han centrado sus esperanzas en la determinación de bio-marcadores sanguíneos que permitan hacer una detección temprana de la enfermedad. La endotelina (*endothelin*, ET), la adrenomedulina (*adrenomedullin*, AM), y el ANP (*natriuretic peptide*) son algunos de estos marcadores (154). Finalmente, a nivel molecular, estudios de reciente publicación han puesto en evidencia una posible acción inhibitoria por parte de A $\beta$  sobre  $\beta$ -catenina en la SGZ, la cual podría alterar seriamente la capacidad de neurogénesis en pacientes con Alzheimer (155, 156). Este factor puede suponer un verdadero obstáculo a las terapias basadas en el uso de células madre, considerando la importancia que parece tener la ruta Wnt dentro de la neurogénesis y diferenciación cerebral.

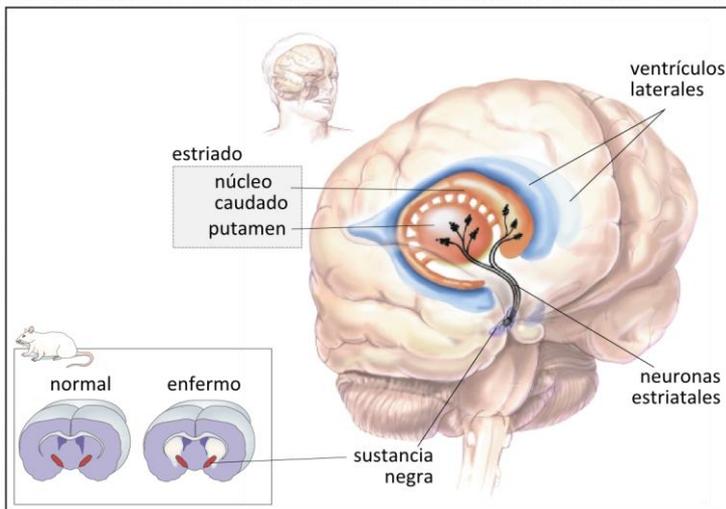
### **3.1.2 Estrategias terapéuticas y líneas de desarrollo asociadas al uso de SCs**

La mayoría de las terapias que actualmente se aplican al tratamiento del Alzheimer se centran en dos objetivos: el primero es el desarrollo de sistemas de diagnóstico más eficientes y tempranos de la enfermedad, el segundo es el desarrollo de fármacos capaces de ralentizar la sintomatología de la enfermedad. Por su parte, en el plano del tratamiento quirúrgico, muchas de las esperanzas están puestas en el desarrollo de terapias basadas en el trasplante de células madre y de la terapia génica. Sin embargo, la gran mayoría de estos estudios se encuentran aún en fase experimental y en el mejor de los casos en modelos animales. No obstante, uno de los escasos registros de investigaciones con seres humanos corresponde a un estudio clínico en Fase 1 *ex vivo* con ocho pacientes en fase intermedia de la enfermedad. En dicho estudio se realizaron implantes autólogos de fibroblastos genéticamente modificados capaces de expresar NGF (*nerve growth factor*), un tipo de neurotropina, aunque con modestos resultados (157). Sin embargo, las principales dificultades a esta estrategia terapéutica radican en el riesgo que supone la inoculación de células genéticamente modificadas. En el campo del diagnóstico se ha asociado la presencia de neurogénesis anómala con la acción inductora derivada de la presencia de A $\beta$  (155), de tal modo que este tipo de neurogénesis aberrante pueda ser aprovechado como un biomarcador del desarrollo de la enfermedad (158).

## 3.2. Enfermedad de Parkinson

### 3.2.1 La enfermedad

La enfermedad de Parkinson (*Parkinson's disease*, PD) se define como un desorden crónico severo de tipo neurodegenerativo cuya principal manifestación es la pérdida progresiva del control motor del cuerpo. Esta enfermedad representa el segundo trastorno neurodegenerativo por su frecuencia, situándose únicamente por detrás de la enfermedad de Alzheimer (148). Está extendida por todo el mundo y afecta tanto a hombres como a mujeres, siendo frecuente que aparezca a partir del sexto decenio de vida. No obstante, también se puede presentar en personas más jóvenes, posiblemente asociada a ciertos factores genéticos.



**Figura 18. Enfermedad de Parkinson.** En el esquema se muestra la región cerebral afectada por la enfermedad de Parkinson. En el recuadro inferior se indica la región comprometida en el modelo experimental de rata. Adaptado de NIH, 2001. Ref. (16); Lindvall, 2004. Ref. (159)

La enfermedad se asocia a la pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas en ciertas partes del tallo cerebral (mesencéfalo), particularmente la masa de células en media luna, conocida como sustancia negra. **(Figura 18)** Las células nerviosas en la sustancia negra envían fibras a los tejidos localizados en ambos lados del cerebro y allí las células liberan dopamina, un neurotransmisor esencial en el control del

movimiento y la coordinación. De allí que las alteraciones cerebrales no se restrinjan a esa única zona sino que se extiendan a varias regiones telencefálicas. Aunque la dopamina resulta fundamental en el control motor del cuerpo, los síntomas no se manifiestan hasta que su depleción está entre el 50 y el 70% de lo normal, lo que conlleva – en muchos casos – una detección en estados avanzados de la enfermedad. De hecho, en España se desconoce a ciencia cierta el número de personas que actualmente padecen la enfermedad aunque las cifras oscilan entre 100 y 120.000 casos. Para explicar la muerte celular se barajan diversos

tipos de causas: factores genéticos, estrés oxidativo debido a radicales libres producidos por un metabolismo aberrante de la dopamina y la melanina, disfunciones celulares, y factores ambientales, de los cuales muchos aún no han sido del todo identificados.

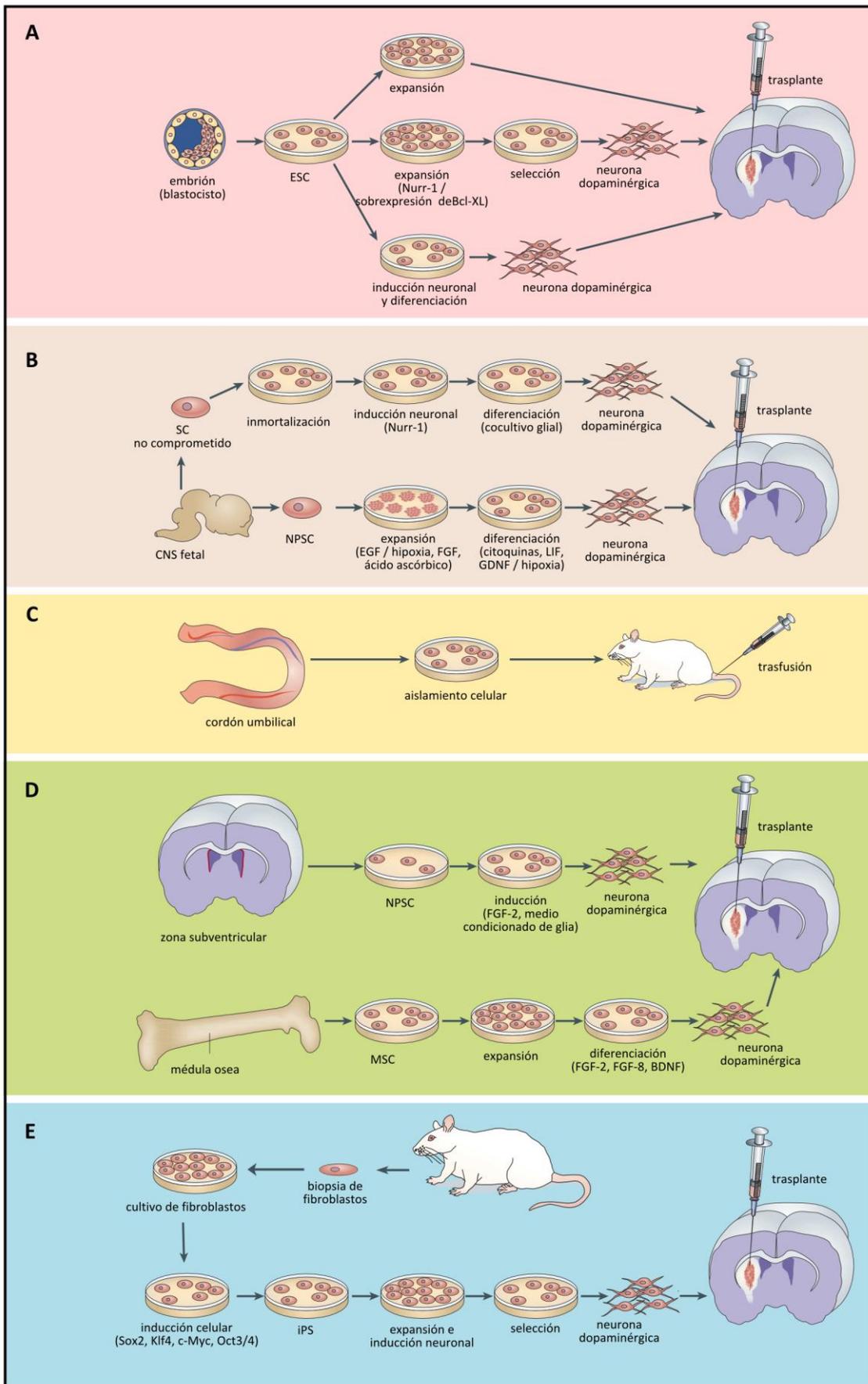
### **3.2.2 Estrategias terapéuticas y líneas de desarrollo**

En la década de los 80 se desarrolló una de las primeras estrategias celulares basada en el trasplante de células dopaminérgicas fetales de origen mesencefálico en las regiones afectadas del cerebro de los pacientes (160, 161). Tras una mejoría inicial, estos estudios revelaron una involución e incluso un detrimento de la salud de algunos de los pacientes tratados. Tampoco se observó ningún tipo de mejoría en pacientes mayores de 60 años. Estudios posteriores, también con células de origen fetal y con un número mayor de pacientes, revelaron resultados semejantes (161, 162). Incluso se observó el desarrollo de nuevas complicaciones como discinesias y reacciones inmutarias a los injertos celulares. No obstante, pruebas de resonancia y estudios post-mortem revelaron que en la mayoría de los casos los injertos lograron establecerse e incluso disparar cierto nivel de neurogénesis en las zonas tratadas (163). El uso de células madre de origen embrionario (ESCs), desde una perspectiva técnica, podría resultar prometedor en cuanto que presentan una alta indiferenciación que las hace potencialmente capaces de formar distintos tipos de células. Sin embargo, en el mismo plano técnico, su uso – además de plantear problemas éticos parecidos a los derivados de la aplicación de células fetales – ha supuesto el peligro real de que estas células deriven tumores de alta malignidad (164). Algunos estudios han ofrecido algunas alternativas a este problema a través de una pre-diferenciación en condiciones *in vitro* como un proceso preparatorio al trasplante celular. En esta pre-diferenciación los protocolos proponen el uso de un complejo coctel de factores inductores, entre los que se cuenta la FGF, Wnt, Shh, nestina, o Lmx1, con el fin de promover la diferenciación de estas células en células dopaminérgicas que luego serán trasplantadas (165). Sin embargo, este tratamiento, si bien puede atenuar un obstáculo técnico, no supera el problema ético que plantea el uso de este tipo de células (166). Otra estrategia, propuesta hace varios años, ha sido la clonación terapéutica. Según esta técnica se extrae el núcleo de una célula somática del paciente, el cual es transferido al soma anucleado de un ovocito receptor a fin de provocar la formación de un embrión (clon), el cual es mantenido en desarrollo hasta la formación de las primeras células neuroectodérmicas. Una vez que estas células se han desarrollado, el embrión es disgregado con el fin de obtener una fuente pura de

este tipo de células que son cultivadas en condiciones *in vitro* hasta alcanzar el número necesario para un trasplante. La técnica, también llamada transferencia nuclear, puede integrar pasos previos de modificación genética y transgénesis (167). Este método, sin embargo, plantea diversos problemas técnicos y principalmente éticos, los cuales han supuesto su poca aceptación dentro de la comunidad internacional. Entre este tipo de objeciones está el proceso mismo de clonación, la manipulación genética, y la manipulación de células pseudo-embriónicas modificadas. Una estrategia alternativa, pero con similares problemáticas, se plantea en el desarrollo de ESC a partir de partenogénesis inducida. Los ensayos realizados en modelos animales no han mostrado éxitos significativos (168). Sin embargo, en los últimos años, la apuesta ha girado alrededor del uso de células madre previamente inducidas (iPS) a partir de células somáticas desdiferenciadas como potencial tejido de trasplante para esta enfermedad (169). Estudios preliminares en roedores han puesto en evidencia que las iPS pueden ser una alternativa interesante a los modelos anteriormente desarrollados (170, 171).

Otras líneas de desarrollo, igualmente prometedoras, apuntan al uso de células neuroprogenitoras de origen adulto obtenidas a partir de los propios pacientes (172), de donantes adultos o incluso de cadáveres (173). Es el caso de las células derivadas de los cuerpos carotídeos (*carotid body*, CB). Se sabe que el cuerpo carotídeo actúa como un órgano secretor el cual se encuentra en la bifurcación de la arteria carótida común donde actúa como un sensor del oxígeno en sangre. La importancia del cuerpo carotídeo está en que es un órgano derivado de la cresta neural, los glomérulos que lo constituyen están formados además por células dopaminérgicas conteniendo grandes cantidades de factor neurotrófico derivado de la glía (*glial cell-derived neurotrophic factor*, GDNF). En situaciones de hipoxia el cuerpo carotídeo puede aumentar su tamaño por un incremento en la tasa proliferativa de las células progenitoras, en él presentes. En condiciones *in vitro* se ha visto que estas células dan lugar a neuroesferas formadas por células dopaminérgicas y productoras de GDNF, lo que las hace muy interesantes como potencial fuente de trasplante celular en pacientes con enfermedad de Parkinson (174, 175).

**Figura 19. Líneas de investigación de terapias regenerativas para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson basadas en células madre. (A)** Terapias basadas en el uso de células madre de origen embrionario. **(B)** Terapias basadas en el uso de células madre de origen fetal. **(C)** Terapias basadas en el uso de células madre de cordón umbilical. **(D)** Terapias basadas en el uso de células madre de origen adulto. **(E)** Potenciales terapias basadas en el uso de iPS. Adaptado de Lindvall, 2004. Ref. (159)



### **3.3. Enfermedad de Huntington**

#### **3.3.1 La enfermedad**

La enfermedad de Huntington, también conocida como Corea de Huntington, es una de las enfermedades neurodegenerativas más conocidas. Descrita por primera vez en 1872, se trata de un trastorno congénito de carácter letal con una prevalencia de 2 a 8 casos por cada 100.000 personas (148). La enfermedad es fruto de una alteración autosómica dominante debido al aumento de repeticiones de uno de los tripletes, el CAG, que codifica para la glutamina, más de 40, en el gen descrito por Huntington en el brazo corto del cromosoma 4. Este perfil permitió que fuera una de las primeras enfermedades diagnosticables en estado embrionario a través del diagnóstico genético preimplantatorio (176). En las personas que lo padecen, los primeros síntomas aparecen entre los 30 y 50 años de edad, aunque puede presentarse en etapas más tempranas de la vida. Se sabe que el número de repeticiones genéticas es directamente proporcional a trastornos más precoces. Entre los síntomas de la enfermedad se cuenta el desarrollo de progresivas alteraciones cognoscitivas, psiquiátricas (depresiones y demencias), y motoras cuyo deterioro conduce finalmente a la muerte del individuo. Debido al carácter genético de la enfermedad, la alteración se presenta en todas las células del cuerpo del paciente, sin embargo, el proceso degenerativo recae fundamentalmente en células derivadas del telencéfalo: en las neuronas GABAérgicas, productoras de encefalina y la sustancia P, del núcleo caudado, y en las interneuronas, productoras de somastina y neuropéptido Y, del cuerpo estriado (177).

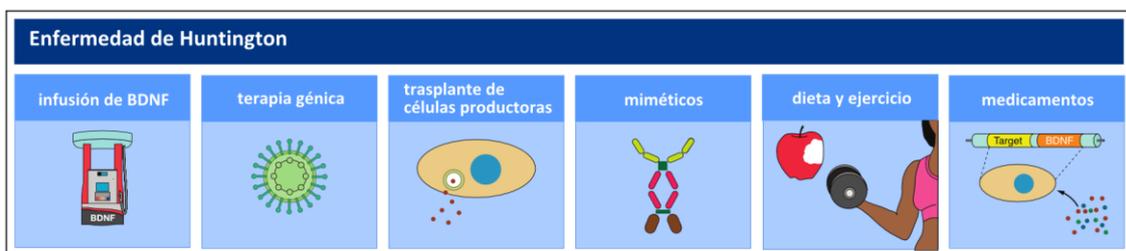
#### **3.3.2 Estrategias terapéuticas y líneas de desarrollo**

En el tratamiento de la enfermedad de Huntington, las principales líneas de investigación se han orientado al reemplazo y la reparación celular (178). Los primeros grupos en desarrollar estrategias de tratamiento lo han hecho principalmente desde dos tipos celulares, las células madre de origen embrionario y fetal, aunque con escasos resultados. En ambos casos se ha llegado a trasplantar este tipo de células a pacientes con la enfermedad de Huntington, en los que estudios a largo plazo pudieron confirmar que si bien los implantes lograron superar las barreras inmunológicas iniciales e incluso sobrevivir más de seis años, no lograron integrarse

en el cuerpo del receptor y menos aún provocar alguna mejoría significativa en la salud de los pacientes (179). El estudio con células neuroprogenitoras adultas, en modelos animales, también se ha probado en el tratamiento de la enfermedad (180). Los resultados preliminares aunque parecen mostrar ciertos beneficios a nivel funcional, son para los propios autores y sus críticos algo prematuros para poder extrapolar conclusiones sólidas.

Por otro lado, puesto que la causa principal de la enfermedad es la producción de sustancias neurotóxicas debido a una aberración genética, algunos estudios recientes apuntan al desarrollo de vías farmacológicas que bloqueen dicha producción dentro del propio paciente (181), un tratamiento cuya eficacia podría depender de la detección temprana de la misma enfermedad. También se ha descrito que la presencia de la enfermedad está asociada a la pérdida de ciertos factores moleculares entre los que resulta particularmente importante el factor neutrófico derivado del cerebro (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) necesario para el desarrollo y mantenimiento funcional de las neuronas de la espina media (*medium spiny neurons*, MSN), las más afectadas en pacientes con enfermedad de Huntington. Este hecho ha supuesto el desarrollo de distintas estrategias terapéuticas orientadas al mantenimiento de BDNF (181) (**Figura 20**).

Finalmente, otro campo de investigación que desde años atrás viene adquiriendo especial atención médica pero especialmente mediática es el desarrollo de métodos de diagnóstico temprano de la enfermedad en embriones (182). Tal diagnóstico plantea, sin embargo, serias objeciones éticas asociadas a la técnica de diagnóstico genético preimplantatorio (*preimplantatory genetic diagnosis*, PGD) y su uso como un mecanismo de cribado genético de embriones portadores de dicho trastorno cromosómico (183).



**Figura 20. Principales líneas de investigación basadas en el suplemento de BDNF.** [BDNF: brain-derived neurotrophic factor] Adaptado de Zuccato, 2010. Ref. (181)

### **3.4. Esclerosis lateral amiotrófica**

#### **3.4.1 La enfermedad**

La enfermedad de Lou Gehrig o Esclerosis lateral amiotrófica (*amyotrophic lateral sclerosis*, ALS) es una enfermedad degenerativa que afecta a las neuronas motoras. Este hecho ha llevado a que algunos autores la consideren como el prototipo de la enfermedad neuronal siendo, probablemente, el más devastador de todos los trastornos neurodegenerativos. La enfermedad se da principalmente en varones de entre 40 y 70 años de edad. A la fecha no se sabe exactamente cual es la causa de la enfermedad. Los pacientes con ALS normalmente no pierden sus capacidades sensoriales y cognitivas pero pierden el control sobre el resto de sus músculos voluntarios con excepción de los esfínteres.

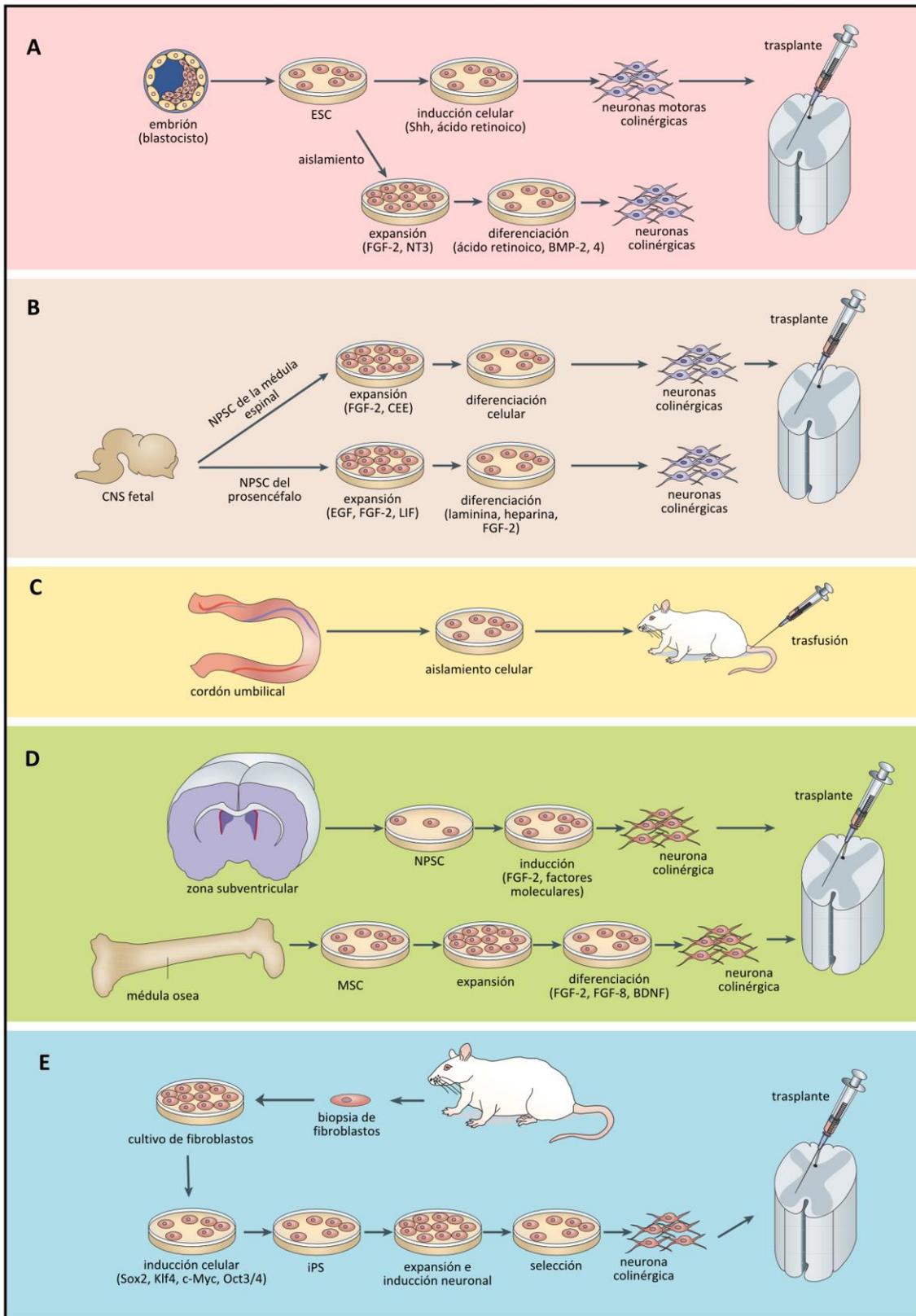
La ALS se presenta como un trastorno neurodegenerativo de las neuronas motoras del CNS a nivel de la médula espinal y el encéfalo. Al igual de lo que ocurre en algunos otros cuadros de enfermedades neurodegenerativas, el deterioro neuronal va acompañado de un aumento en la proliferación de la microglia y de la astrogliosis. La muerte de las neuronas, por su parte, conlleva la denervación y posterior atrofia de las fibras musculares correspondientes. La enfermedad conduce inexorablemente a la muerte por parálisis cada vez más progresiva, hasta afectar incluso a las vías respiratorias. Su carácter altamente agresivo se manifiesta en que una vez detectada, la esperanza de vida de los pacientes no es mayor de cinco años. La enfermedad presenta una incidencia de 1 a 3 casos nuevos anuales por 100.000 habitantes. También se ha visto que los varones suelen ser más propensos a estar afectados que las mujeres. Las causas son variadas y no están del todo definidas: se habla desde exposición a agentes neurotóxicos hasta determinadas condiciones genéticas autosómicas (148).

#### **3.4.2 Estrategias de tratamiento y líneas de investigación**

Uno de los primeros estudios se basó en el trasplante de ESC en la médula espinal de ratas con parálisis parcial (184). Tres meses después del trasplante, varias de las ratas tratadas mostraron cierta recuperación de su capacidad motora e incluso algunas llegaron a caminar con cierta dificultad. Análisis posteriores mostraron que en estos animales las células no sólo migraron a lo largo de la médula, sino que incluso iniciaron el desarrollo de ciertas

características fenotípicas similares a las neuronas motoras. Sin embargo, muy pocas alcanzaron la configuración de neuronas maduras, aún más ninguna mostró evidencias de conexiones celulares funcionales. A partir de estos resultados los investigadores supusieron que tales injertos más que reemplazar a las células dañadas, liberaron factores inductores responsables de promover la recuperación por rutas alternas aún desconocidas. Sobre la base de estos estudios, un segundo grupo aisló células neuroprogenitoras de origen fetal que luego fueron transformadas, mediante un lentivirus, con el objeto de que pudieran secretar un factor neurotrófico derivado de la glia (*glia derived neurotrophic factor*, GDNF). El GDNF es un factor, estereoquímicamente muy similar a las TGFs, que tiene una alta afinidad por las neuronas motoras en las que previene su apoptosis. Sin embargo, dado el gran tamaño de la proteína, su administración al cerebro resultaba prácticamente inviable. De este modo, la técnica supuso el uso de las células madre no tanto como un tratamiento en sí, sino como un medio de producción de un fármaco específico. Los resultados fueron prometedores debido a la recuperación celular de las zonas afectadas, sin embargo, su alta complejidad y el uso de dos vectores (uno viral y otro celular) hacen de la técnica un procedimiento complejo y con cierto nivel de riesgo (185). A partir de estos estudios pioneros, se han establecido tres líneas de estudio: una encaminada al reemplazo de las neuronas motoras perdidas como consecuencia de la enfermedad; otra encaminada al reemplazo o refuerzo de las células responsables del sostén del sistema, esto es, astrocitos y microglia; y una tercera en la que se hace uso de células madre como medio de transporte y liberación de factores vitales para el sostenimiento del tejido dañado (186, 187)

En este amplio campo de posibilidades se han probado diversas fuentes de células madre: embriones, fetos, cordón umbilical, y tejido adulto de diversas fuentes (**Figura 21**). Estas células han sido introducidas por vías también diversas, siendo las más frecuentes las inyecciones intravenosas, intramedulares e intraperitoneales (188). Sin embargo, el porcentaje de células que finalmente se diferencian en neuronas motoras funcionales está alrededor del 1%, lo que confirma que el principal papel de las células madre no está tanto en el reemplazo celular sino en la neuroprotección, sea liberando factores de sostenimiento o bien limitando la microgliosis y astrogliosis muy propia de esta enfermedad. De momento no existe un tratamiento único para pacientes con ALS, y todo parece indicar que las mejores estrategias se encaminan al uso combinado de células madre capaces de brindar un soporte a los sistemas endógenos de mantenimiento antes que orientarse al reemplazo neuronal propiamente dicho (188).



**Figura 21. Líneas de investigación de terapias regenerativas para el tratamiento de la enfermedad de ALS. (A)** Con células madre de origen embrionario. **(B)** Con células madre de origen fetal. **(C)** Con células madre de cordón umbilical. **(D)** Con células madre de origen adulto. **(E)** Con células pluripotentes inducidas. Adaptado de Lindvall, 2004. Ref. (159)

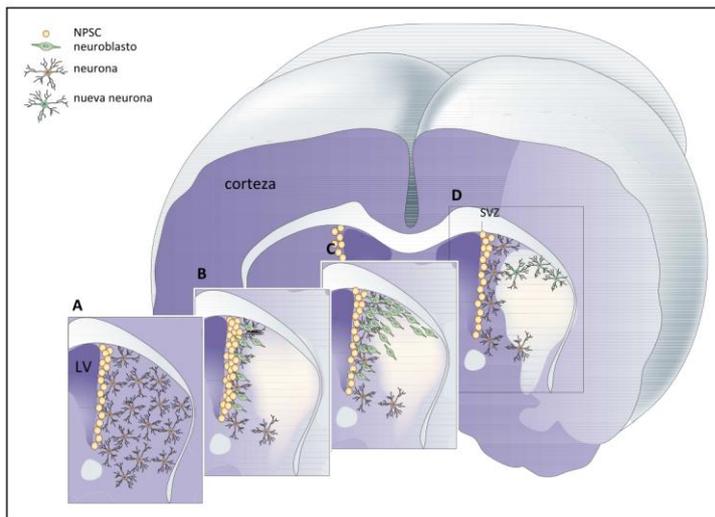
## 3.5. Enfermedades cerebrovasculares

### 3.5.1 Descripción

Las enfermedades cerebrovasculares comprenden algunos de los trastornos más frecuentes y devastadores: enfermedades isquémicas o hemorrágicas y anomalías vasculares cerebrales como aneurismas intracraneales y malformaciones arteriovenosas. Su frecuencia aumenta con la edad y se ha deducido que el número de accidentes de este tipo tienda a aumentar conforme se incremente la edad de la población. En un informe del año 2006 el Ministerio de Sanidad español indicó que las enfermedades cerebrovasculares constituían la tercera causa de mortalidad, sólo por debajo del cáncer y las enfermedades isquémicas del corazón (189). Según la misma fuente, en el 2007 la cifra de muertes debidas a enfermedades cerebrovasculares en España ascendía a 33.041 personas. Sin embargo, el problema que supone este tipo de enfermedades no sólo se da en una elevada tasa de mortalidad sino también en las secuelas que puede generar en aquellas personas que sobreviven.

Clínicamente, las enfermedades de esta categoría se caracterizan por una deficiencia neurológica focal de comienzo repentino. De hecho, la definición tradicional es la de “deficiencia neurológica repentina atribuible a una causa vascular focal” (148). Las isquemias cerebrales pueden ser de dos tipos: transitorias y permanentes. Las isquemias transitorias son causadas por la reducción del flujo sanguíneo durante un corto periodo de tiempo, en ellas los síntomas aparecen casi de manera inmediata por un intenso dolor en la región dañada. Usualmente en este tipo de isquemias se logra la pronta reanudación de la irrigación sanguínea, lo que permite una recuperación parcial o total del tejido dañado (**Figura 22**). Sin embargo, eso no evita que en este tipo de isquemias se dé cierto grado de muerte celular mediada por apoptosis a los días o semanas después de haber ocurrido el accidente vascular. Distinta es la situación en las isquemias permanentes en las que la interrupción del flujo sanguíneo puede llegar a durar largos periodos de tiempo. Este hecho normalmente deriva en un infarto o muerte del tejido encefálico con secuelas irreparables. En las isquemias se distinguen dos zonas importantes: el núcleo isquémico y la zona de penumbra. El núcleo es la zona mas interna de la isquemia y la que presenta mayor daño. Esta zona se caracteriza por la presencia de necrosis celular debido a la privación de la glucosa y del intercambio gaseoso,

necesarios para el control de las funciones vitales de la célula. La penumbra es la zona más periférica del área isquémica, las células de esta zona no mueren como consecuencia del accidente vascular aunque sus funciones vitales, a largo plazo, se ven seriamente comprometidas si no hay una asistencia rápida que permita su sostenimiento y recuperación.



**Figura 22. Recuperación celular post-isquémica.** En el diagrama se observa el proceso de respuesta celular del cerebro de una ratona frente a una isquemia localizada. Se aprecia cómo se generan neuroblastos que migran desde la SVZ hasta la región afectada (secuencia). Allí sufren un proceso de diferenciación con el objeto de recuperar la región dañada y dar soporte a las neuronas sobrevivientes. **(A)** Estado previo a la isquemia. **(B)** Daño isquémico en blanco. **(C)** Neurogénesis y migración de neuroblastos. **(D)** Neuroblastos en proceso de diferenciación. [LV: lateral ventricle; SVZ: subventricular zone] Adaptado de Lindvall, 2004. Ref. (159)

### 3.5.2 Estrategias terapéuticas y tratamientos en desarrollo

El tratamiento de isquemias cerebrales se ha basado tradicionalmente en el suministro de fármacos con propiedades anticoagulantes a fin de restaurar la perfusión vascular (190). Sin embargo, años atrás unas investigaciones pusieron en evidencia que ante la presencia de un cuadro isquémico el mismo cerebro disparaba mecanismos neurogénicos y angiogénicos capaces de contrarrestar el

daño cerebral, siempre que éste fuera localizado (191, 192). Sobre la base de estas investigaciones, un grupo de investigación inoculó FGF en el cerebro de ratas expuestas a una isquemia cerebral localizada. El ensayo demostró que la inoculación del producto favoreció una mayor producción neuronal en el hipocampo. Las nuevas neuronas, además, mostraron la capacidad de lograr conexiones con otras neuronas de las zonas dañadas (192). Estudios posteriores con células madre de origen fetal demostraron que las células neuroprogenitoras trasplantadas no sólo eran capaces de sobrevivir sino de migrar a las zonas dañadas donde establecían algún tipo de comunicación intercelular con el tejido afectado (193). En la actualidad existen diversas líneas de investigación orientadas al reemplazo y regeneración celular con células madres de distinto origen. Entre ellas, las mejores candidatas debido a su inocuidad natural son las que provienen del propio paciente. En

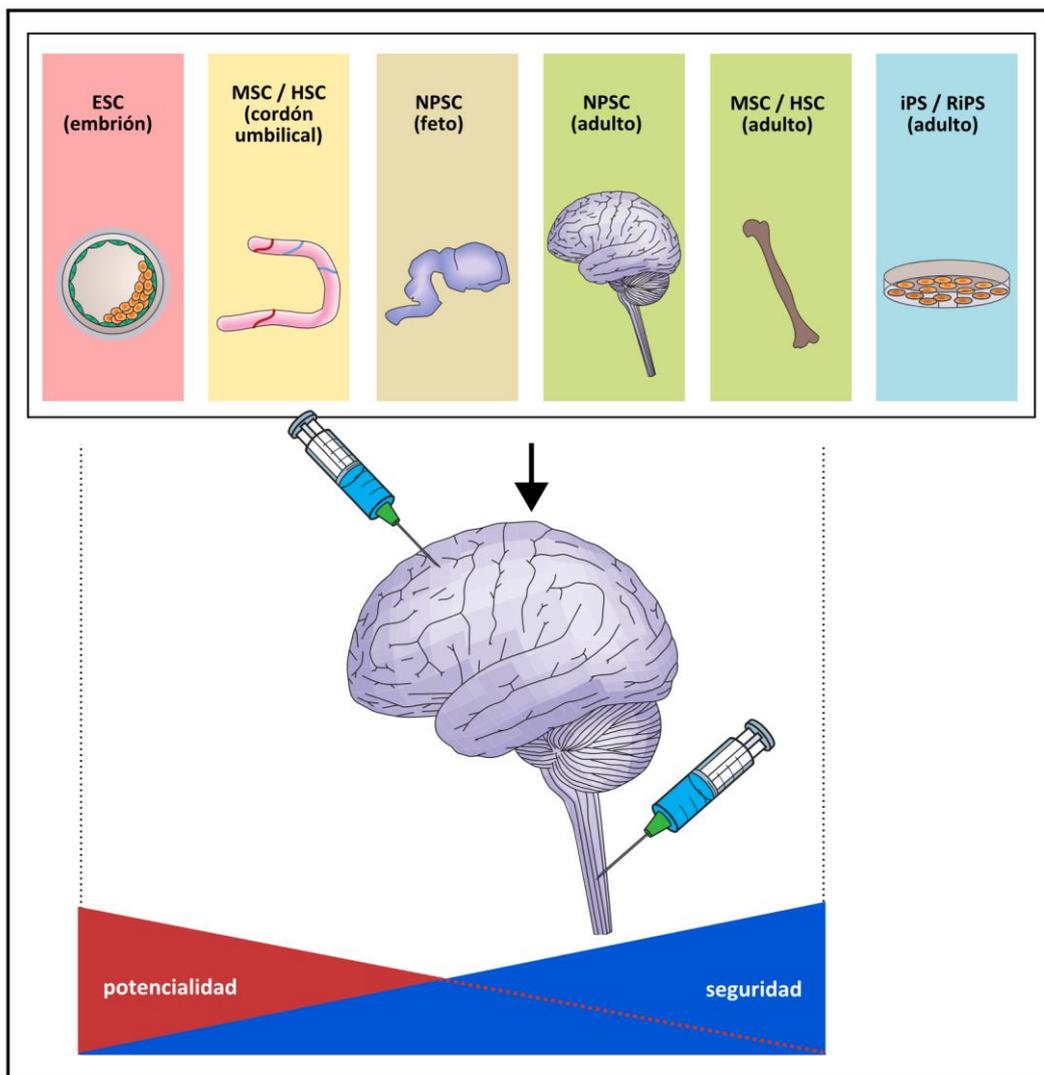
este grupo se encuentran las células madre de tejidos no nervioso (como por ejemplo, las mesenquimales y adiposas) (194) y las que se obtienen del tejido neural (como por ejemplo, las que se pueden obtener del bulbo olfatorio o del hipocampo) (195). En este segundo grupo, la principal ventaja es que se trata de células neuroprogenitoras, y en consecuencia, histológicamente más afines al tejido dañado; sin embargo, estas células plantean como principal limitación la escasez numérica. Frente a este inconveniente la opción más adecuada es el cultivo en condiciones *in vitro* hasta alcanzar el número necesario para realizar el trasplante, un proceso que puede llevar hasta 14 días contados a partir del momento en el que la biopsia es realizada (142). No obstante este hecho no supone mayor problema para cualquier otro tipo de trastorno neurodegenerativo, para el caso de una isquemia puede suponer una dificultad real debido a la celeridad con la que se debe proceder para poder sostener el tejido sobreviviente. Razón por la cual se plantea como alternativa la aplicación de estrategias combinadas que integren un tratamiento farmacológico de sostenimiento, como es el uso de eritropoyetina (*erythropoietin*, EPO) u otros (196), hasta que el autotrasplante pueda ser realizado.

Finalmente, en la búsqueda de determinar los factores neuroprotectores que forman parte de mecanismos endógenos de respuesta frente a enfermedades cerebrovasculares, y que puedan servir de base tanto en la comprensión molecular de estas enfermedades como en el desarrollo de fármacos, se han descrito dos tipos de sustancias: aquellas que están orientadas al sostenimiento y regeneración celular, es el caso de la función que cumple la ruta Wnt y sus señales derivadas (197), y aquellas que inducen la angiogénesis, como es el caso de la liberación focalizada de adrenomedulina (198) con el objeto de acelerar el proceso de reperfusión vascular en el área isquémica.

### **3.6. Consideraciones finales**

Después del análisis de los apartados previos se plantea una pregunta de manera natural, ¿Qué se puede esperar del uso de las células madre en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas? La respuesta pasa por dos tipos de consideraciones: primero, comprender adecuadamente los propios mecanismos celulares con los que cuenta el CNS para corregir daños y mantener el estado de homeostasis necesario para su adecuado funcionamiento; y segundo, potenciar estos mecanismos mediante el trasplante del tipo de células que mejor se adapten a ellos. En esta segunda consideración es claro que el mejor perfil de células, de todos los hasta

ahora existentes, es el de aquellas que: (i) no planteen respuestas inmunológicas como puede ocurrir con el trasplante de células de fuentes alógenas (199); (ii) que sean inocuas, en otra palabras, que no generen un daño mayor que el producido por la misma enfermedad. Una cuestión totalmente válida si se considera el caso de trasplantes con células madre muy poco diferenciadas, de origen embrionario y fetal principalmente, que han derivado en el desarrollo de ciertos tipos de tumores (49); y (iii) que resulten efectivas, sea porque disparen procesos neurogénicos o porque brinden algún tipo de soporte celular en las zonas afectadas (200). La confluencia de estas tres características son condiciones *sine qua non* para cualquier tratamiento basado en el uso de células madre (**Figura 23**).



**Figura 23. Terapias celulares, potencialidad y seguridad de tratamientos.** Salvando el caso particular de las iPS, las células madre pueden agruparse en función de cuatro fuentes distintas de obtención: embrión, feto, cordón umbilical, y tejido adulto. A mayor grado de desarrollo disminuye la potencialidad pero aumenta la seguridad en el tratamiento debido al menor número de pasos y la menor posibilidad de desarrollo de tumores. Adaptado de Lindvall, 2006. Ref. (201)

## III. Aspectos antropológicos

---

### 1. Trasplantes y enfermedades neurodegenerativas

Como parte del análisis bioético resulta necesaria, además del estudio de los aspectos técnicos, la valoración de los aspectos antropológicos que el desarrollo de la técnica supone. Para el caso particular de una terapia neuro-regenerativa basada en el uso de células madre esta valoración ha de enmarcarse en el campo de los trasplantes.

Es sabido que los trasplantes representan uno de los campos en los que la investigación biomédica ha progresado con mayor rapidez a lo largo de los últimos años. De ello dan fe los diversos tipos de trasplantes realizados en este tiempo. La razón se puede encontrar en varios factores como son la mejora en el equipamiento técnico, quirúrgico y procedimental, la posibilidad de experimentar con modelos animales, y el mayor conocimiento de los principios biológicos que gobiernan la anatomía, fisiología y principalmente la inmunología.

En términos generales un trasplante o injerto es una operación quirúrgica por la cual se introduce en el organismo receptor un material biológico, órgano o tejido, obtenido de un donante. Usualmente se habla de implantación cuando se trata de tejidos muertos o conservados. Es necesario considerar el hecho de si el tejido es obtenido *ex mortuo* o *ex vivo*,

no sólo por las valoraciones implicadas, sino también respecto de la posibilidad de efectuar la extracción sin que ello provoque la muerte del donante.

Asimismo, no hay que olvidar los efectos derivados de dicho trasplante que pueden ser de dos tipos: arraigamiento o incompatibilidad (148). Estos efectos se dan como consecuencia de la capacidad de supervivencia, adaptación, aceptación o rechazo del material trasplantado en el organismo receptor. El primer caso ocurre cuando el tejido injertado logra sobrevivir y se adapta a las nuevas condiciones de vida estableciendo las conexiones necesarias de supervivencia en armonía con el resto del organismo receptor. Por el contrario, cuando no se logra este proceso, suele sobrevenir la muerte celular y la desaparición, o inclusión y reabsorción del material biológico trasplantado. Una situación extrema se da en el segundo caso, cuando la incompatibilidad se manifiesta mediante una reacción propia del organismo receptor frente al tejido injertado. Finalmente, se debe mencionar el caso particular de trasplantes basados en el uso de células madre en los está latente el riesgo de que el trasplante desarrolle actividad tumorigénica, como ha sido descrito para ciertos tipos de estas células (202).

A fin de comprender mejor la complejidad del amplio campo que suponen los trasplantes resulta conveniente describir brevemente los distintos tipos de procedimientos quirúrgicos que en él se incluyen. Así, según las diferencias genéticas entre el receptor y el donante, los trasplantes se agrupan en: (i) trasplantes autogénicos o autólogos, cuando el mismo individuo es donante y receptor; (ii) trasplantes isogénicos o singénicos, cuando donante y receptor son gemelos idénticos y por tanto histocompatibles; (iii) trasplantes alogénicos, cuando donante y receptor son individuos de una misma especie aunque sin ser genéticamente idénticos; y, (iv) xenotrasplantes, cuando donante y receptor son de especies distintas. Otro modo de clasificar los trasplantes se hace teniendo como referencia la función que el material a trasplantar vaya a cumplir dentro del cuerpo del receptor (148). Según este criterio los trasplantes pueden ser: (i) ortotópicos, cuando implica la sustitución del material dañado por la del donante en cuyo caso el material nuevo ocupa la posición anatómica normal; y (ii) heterotópicos, cuando el material trasplantado sirve de apoyo al del receptor el cual no es necesariamente eliminado.

Finalmente, el progreso y perfeccionamiento técnico alcanzado en este campo plantea a lo largo de los años un reto de progresiva complejidad para la bioética. Ya no se trata de valorar simplemente si la técnica cumple con un fin terapéutico en el que baste con garantizar la

comprobación de la muerte, en caso de la obtención del material biológico de un cadáver, o la supervivencia del donante vivo. El nuevo escenario biomédico introduce nuevas variables tales como el protocolo de ejecución de la misma técnica; el aumento de las solicitudes; el consentimiento informado del receptor, la libertad del donante y de los familiares; el derecho de la sociedad a obtener material biológico de cadáveres prescindiendo del consentimiento explícito; la fuente de obtención de los tejidos, y en particular, la licitud del uso de fetos o embriones como fuente para la obtención de los mismos; la legitimidad de las recompensas; la licitud de ciertos trasplantes que pueden influir en la identidad del receptor; la legitimidad del trasplante experimental, la comprobación de la muerte para los trasplantes de cadáver *con corazón palpitante*, y, en último lugar, la determinación de los criterios con que asignar el material biológico a trasplantar entre las distintas personas en espera como consecuencia de la escasez de donantes. Todo ello ha supuesto la necesidad de una mayor profundización antropológica y ética al momento de hacer una valoración bioética de situaciones complejas, múltiples y muy recientes, ampliamente expuestos en recientes foros internacionales (203). Y por si todo esto fuera insuficiente, subsiste además el problema de fondo de toda la bioética: la relación de dominio-respeto de la persona sobre la naturaleza corpórea, la relación entre tecnología y ética. Las enfermedades neurodegenerativas no han sido ajenas a esta compleja realidad. Así lo demuestra el temprano desarrollo de estrategias basadas en el reemplazo tisular y celular que se remonta a la década de los 80 cuando se reportan los primeros casos exitosos de trasplante autogénico en pacientes con enfermedad de Parkinson (160), y los primeros casos de trasplantes alogénicos con tejido fetal también en pacientes con la misma enfermedad (204). De estas primeras experiencias hasta la actualidad son muchos los avances que se han venido desarrollando en el campo aunque, como ya se ha visto anteriormente, no siempre con resultados igualmente alentadores.

Con el fin de mantener un orden metodológico, en este apartado se hará una revisión a nivel procedimental de las distintas estrategias experimentales basadas en el trasplante de células madre y células neuroprogenitoras con el fin de analizar los aspectos antropológicos y éticos que se derivarían de sus hipotéticas aplicaciones clínicas vistas desde la óptica del trasplante puesto que la valoración sobre la pertinencia del uso de unos tipos celulares – células neuroprogenitoras adultas, células madre de origen fetal, células madre de origen embrionario, y células pluripotentes inducidas – sobre otros ya han sido analizados en el apartado anterior.

## 2. Estrategias terapéuticas actualmente en desarrollo

### 2.1. Trasplante de células neuroprogenitoras a partir de cadáveres

En este caso se trataría de trasplantes alogénicos a partir de tejido *ex mortuo*. Este tipo de estrategia plantea dos obstáculos: uno de orden técnico y otro de orden ético. El primero corresponde al tiempo máximo que puede transcurrir tras la muerte del donante para que la extracción del tejido a trasplantar no sufra un deterioro en su calidad. El segundo corresponde al cumplimiento de los tiempos exigidos para la determinación de la muerte cerebral del potencial donante.

En relación al primer punto, se han descrito protocolos para el aislamiento de células neuroprogenitoras a partir de la zona sub-ventricular (*sub ventricular zone*, SVZ) de los ventrículos laterales (8), del giro dentado del hipocampo (205), y de los bulbos olfatorios (206) del cerebro humano, lo que por lo general supone la realización de necropsias cerebrales de cadáveres humanos. En consecuencia, resulta necesario garantizar que la extracción del tejido se realice en los plazos de tiempo adecuados para garantizar la buena calidad del material biológico. Al respecto, se ha reportado la obtención de células neuroprogenitoras en buenas condiciones de conservación a partir de necropsias realizadas entre 3 y 24 horas posteriores a la declaración de la muerte clínica del potencial donante (206).

El segundo punto busca garantizar una correcta determinación de la muerte clínica del donante antes de iniciar un procedimiento de extracción de tejido cerebral. Tradicionalmente se ha definido la muerte como el cese de todas las funciones corporales, inclusive la respiración y el latido cardíaco. No obstante, el alto progreso técnico desarrollado en el campo de Cuidados Intensivos y sostenimiento vital llevó en las décadas pasadas al replanteamiento de los criterios necesarios para la determinación de la muerte y a la introducción del concepto de muerte cerebral o muerte encefálica (207). Según este criterio, la muerte se determina por el cese irreversible de la actividad vital de todo el encéfalo, incluido el tallo cerebral, el cual se comprueba mediante protocolos clínicos neurológicos ampliamente descritos (208-211). En España, los criterios que rigen la determinación de la muerte encefálica han quedado establecidos en el Real Decreto 426/1980, de 22 de febrero, por el que se desarrolla la Ley

30/1979, de 27 de octubre, sobre extracción y trasplante de órganos. Según el artículo 10º de dicha normativa se establece que los órganos para cuyo trasplante se precisa la viabilidad de los mismos sólo puedan extraerse del cadáver previa comprobación de la muerte cerebral, basada en la constatación y concurrencia, durante treinta minutos, al menos, y la persistencia seis horas después del comienzo del coma (212). En consecuencia y siempre que la extracción de las células sea respetando los lineamientos planteados para la extracción de tejidos trasplantables antes señalados no se plantean objeciones antropológicas o éticas para este tipo de procedimiento. Cuanto más porque los periodos de tiempo establecidos para ambos casos, la determinación de la muerte y la extracción de las células, no plantean contradicción alguna entre sí.

Por tanto, la principal objeción que plantea un trasplante de este tipo es la que corresponde a cualquier otro tipo de trasplante alogénico: la capacidad de aceptación del tejido trasplantado en el organismo receptor, y el beneficio real que el tratamiento puede suponer en la mejora de la salud y la calidad de vida del paciente trasplantado.

## **2.2. El trasplante a partir del tejido del propio paciente**

Se trataría de trasplantes de tipo autogénico. En consecuencia, a diferencia del modelo anterior, este tratamiento no plantearía ningún tipo de incompatibilidad histológica. Este modelo surge a partir de estudios recientes en los que se ha descrito la posibilidad de obtención de células neuroprogenitoras a partir de biopsias del septum nasal (142) o de los cuerpos carotideos (174, 175).

En ambos casos el procedimiento no plantea ninguna objeción antropológica o ética sino una de tipo técnico: la insuficiente cantidad de células que pueden ser extraídas a partir de dicho procedimiento (141, 175). Por tanto, el reto a este nivel estaría en la optimización de la técnica a fin de poder garantizar un mínimo número de células aisladas y conservadas en cultivos *in vitro*, los cuales deberían ser posteriormente mantenidos en condiciones de proliferación celular hasta obtener la cantidad mínima requerida para un trasplante (175). De lograrse, esta estrategia podría significar la mejor alternativa frente a diversos tipos de enfermedades neurodegenerativas.

### **2.3. El trasplante a partir del tejido de un donante vivo**

Se trataría de trasplantes de tipo alogénico a partir de tejido *ex vivo*. Este tipo de procedimiento se podría aplicar en el caso de que el tejido haya sido obtenido a partir de intervenciones quirúrgicas en potenciales donantes. Hace algunos años se describió por primera vez la extracción de células neuroprogenitoras obtenidas a partir de una lobectomía temporal en pacientes con cuadros severos de epilepsia (122).

El procedimiento, sin embargo, abre tres consideraciones técnicas: La primera se refiere a la posibilidad de desarrollo de algún tipo de incompatibilidad entre el tejido trasplantado y el tejido receptor como bien puede ocurrir con cualquier otro trasplante de tipo alogénico. La segunda se refiere a la calidad celular del tejido a trasplantar. Aunque en el estudio no se reportó ningún tipo de alteración significativa en el comportamiento de las células neuroprogenitoras extraídas a este tipo de pacientes frente a otras de origen fetal, no es posible descartar la posibilidad que dichas anomalías no se puedan presentar (122). Finalmente, la tercera y principal consideración a tener en cuenta es que sólo entre el 2 al 3% de los pacientes con cuadros epilépticos focales se puedan ajustar al perfil de un potencial donador de este tipo de tejidos lo que en la práctica supone un grupo muy reducido de pacientes (177).

A nivel ético el tratamiento, sin embargo, no plantea problema alguno puesto que se trataría de un tratamiento derivado de un procedimiento terapéutico éticamente validado para cierto grupo de pacientes. Otro sería el juicio si este procedimiento se pretendiese aplicar en potenciales donantes sanos en los que la extracción de este tipo de tejidos supondría un daño injustificado en su propia salud y que no se subordinaría al principio fundamental exigido para toda acción terapéutica que es *la defensa de la vida física*, en este caso, del donante (213).

### **2.4. El trasplante de cordón umbilical**

Este tipo de tejido es posiblemente el que menos problemas biológicos, éticos y legales plantee en cuanto al proceso de obtención se refiere. Las razones son relativamente simples: se trata de un tejido cuya utilidad biológica concluye con el parto. Por lo tanto, su uso después del parto no supone daño físico alguno para el recién nacido o para la madre. El tejido puede

ser fácilmente aislado, criopreservado y tratado para extraer a partir de él células madre hematopoyéticas y/o mesenquimales. Por último, en el campo de aplicación neurobiológico se ha demostrado la generación *in vitro* de células de Schwann (214) y células neuronales (215) a partir de células de origen umbilical. En lo que respecta al tipo de trasplante en el que pueden ser utilizadas, las células de cordón – al igual que las células madre adultas – pueden utilizarse en alotrasplantes o autotrasplantes. Actualmente, diversos estudios se encaminan a la modulación de la tasa de proliferación y diferenciación de estas células con el objeto de optimizar su eficacia, que en algunos casos ha mostrado ser menor respecto a la observada en células madre derivadas de la médula ósea adulta (216).

Un hecho curioso es que si bien el uso de las células derivadas del cordón umbilical está regulado de modo semejante tanto en el ámbito europeo (Directiva 2004/23) como en el español (Real Decreto 1301/2006), como se verá en más detalle en el apartado dedicado a este punto, la situación resulta distinta en lo que se refiere a la administración de los bancos de almacenamiento de dichos tejidos. Así, las muestras preservadas en bancos privados españoles y que hayan sido legalmente autorizados están sujetas a disposición universal; por el contrario, las muestras preservadas en bancos privados europeos y legalmente autorizados por la Unión Europea no están sujetas a disposición universal salvo que lo estipule la normativa nacional de los países en donde dichos bancos estén localizados. En consecuencia, estas muestras son consideradas como depósitos privados no donables.

## **2.5. El trasplante a partir de tejido fetal**

Se trataría de trasplantes de tipo alogénico a partir de tejido *ex mortuo* o *ex vivo*. Este tipo de procedimiento fue uno de los primeros en ser descritos en pacientes con enfermedad de Parkinson (204). Básicamente el procedimiento supone la obtención de células neuroprogenitoras a partir de fetos abortados.

Resulta importante aclarar que cuando se habla de tejido fetal, esto es, tejido obtenido a partir de fetos abortados suele referirse al feto fuera del útero materno, independientemente de si está vivo – viable o no – o muerto, de allí la precisión en que la fuente de obtención del tejido pueda ser *ex vivo* o *ex mortuo*. Una situación que eventualmente puede plantear una objeción antropológica, y por ende ética, insalvable (217). Por ejemplo, cuando el aborto se produce

por expulsión o histerectomía, algunos fetos sobreviven al procedimiento y a veces están vivos. Por consiguiente, si los fetos abortados viven todavía, sean viables o no, deberían valer las indicaciones dadas respecto de las intervenciones intrauterinas y los menores de edad. Por el contrario, la práctica de mantener con vida fetos, *in vivo* o *in vitro*, en este caso con fines experimentales resulta totalmente contraria a la dignidad humana (213).

Por lo que se refiere a los fetos ya muertos – condición que debe ser oportunamente comprobada –, resulta necesario distinguir entre fetos de un aborto voluntario y fetos de un aborto espontáneo. En el primer caso, el uso de células y tejidos sólo sería lícito en la medida que se pueda verificar la no existencia de *vínculo* alguno entre el equipo profesional que hace uso de tales tejidos y quienes participaron en el procedimiento abortivo a partir del cual se pudo obtener el material biológico en cuestión. Sin embargo, varios autores coinciden en que una situación de este tipo es prácticamente impensable. Childress, por ejemplo, precisa que el uso del término *vínculo* hace referencia no sólo a una participación directa sino también a cualquier tipo de acuerdo previo que pueda suponer una coparticipación en la realización del aborto (218). Sólo a nivel logístico se requiere necesariamente algún tipo de coordinación entre el equipo del centro abortivo y el equipo del centro experimental. En consecuencia, resulta natural suponer que el primero adecue el procedimiento de trabajo a fin de cubrir los estándares mínimos de calidad que el segundo requiera. En la práctica ello puede suponer la utilización de un feto vivo, aunque no viable, con el fin de obtener tejidos biológicamente óptimos (217). Por otro lado, la misma solicitud de un consentimiento informado de la mujer que procura un aborto plantea ya una situación ética insalvable puesto que sin duda puede suponer un elemento psicológicamente condicionante o incluso determinante para que la mujer opte por un aborto. (217, 218). En el segundo caso – el de fetos provenientes de abortos espontáneos –, además de la comprobación de la muerte, se debería requerir el consentimiento de los padres o de la madre, debiéndose excluir cualquier forma de especulación o incluso de compensación de tipo comercial; al tiempo que se debería obtener un razonable provecho previsible de tal procedimiento en el plano humano, en orden al tratamiento de la enfermedad. Sin embargo, lo cierto es que las condiciones que a menudo envuelven estos abortos tanto a nivel técnico (situaciones intempestivas o de inadecuadas condiciones de limpieza), biológico (pobre calidad genética, genómica o baja cantidad útil de tejido fetal), o psicológico (estrés mental de la mujer debido a la pérdida), hacen poco probable su utilización médica.

En relación al uso de células neuroprogenitoras de origen fetal, como ya se ha comentado en el apartado dedicado a este punto, la ventaja de su uso respecto del tejido adulto parece enmarcarse en el hecho de que estos tejidos presentan un desarrollo celular más rápido respecto de las primeras. En consecuencia, se esperaría que pudieran tener un mejor resultado terapéutico además de ser menos susceptibles de reacciones inmunitarias debido, tal vez, a su más temprano estado de desarrollo. No obstante, las objeciones anteriormente expuestas (213, 217-219) plantean obstáculos, en la mayoría de los casos, insalvables al uso de estos procedimientos. Cuanto más si con el fin de encontrar tejidos que estén lo menos alterados posibles y que, por tanto, sean capaces de regenerarse, se busquen fetos vivos contactando con mujeres dispuestas a abortar o a clínicas donde se realice este tipo de práctica (220). Intentos de este tipo han sido ampliamente descritos y denunciados como un tráfico de fetos humanos (217). Igualmente, debe excluirse moralmente la utilización de fetos vivos no viables para obtener tejidos en el periodo que precede al aborto o que le sigue inmediatamente, porque el que se prevea la muerte no cambia la ilicitud del acto lesivo que supone el uso de fetos vivos como fuente de material biológico.

A nivel europeo existe la Recomendación Nº 1046/1986 sobre el uso de embriones y fetos humanos con fines de diagnóstico, terapéuticos, científicos e industriales. En dicho documento se afirma la existencia de una vida humana desde el momento de la fertilización, razón por la cual embriones y fetos deberían ser tratados en todas las circunstancias con el respeto debido a la dignidad humana. En consecuencia, el documento prohíbe cualquier intervención en fetos vivos aunque estos no fueran viables, promoviendo que las legislaciones nacionales de los Estados miembros sigan dichas indicaciones. Con posterioridad a dicho documento, el Consejo de Europa, en la Recomendación 1100/1989 ha reiterado esta pauta en materia de utilización de embriones con fines de investigación. Sin embargo, la Convención europea sobre los derechos del hombre y la biomedicina del 25 de enero del 2005, que desde el punto de vista legal tiene mayor valor, ha debilitado esta indicación en su artículo 18º, como se desarrollará más adelante en el apartado legal de este estudio.

## 2.6. El trasplante a partir de tejido embrionario

En este caso se trataría de trasplantes de tipo alogénico a partir de tejido *ex vivo* en tanto que la extracción se hace a partir de embriones conservados *in vitro*. Se trataría de embriones en estado de blastocisto en fase de pre-implantación de entre 3 y 5 días de desarrollo los que serían disgregados con el fin de aislar las células madre a partir de la masa celular interna. El procedimiento supone la destrucción de los embriones humanos (221). No obstante, algunos autores discreparían respecto a considerar que se trata de una extracción *ex vivo* puesto que para ellos el embrión en sí mismo no podría ser considerado como un ser humano en tanto que carece de dicho estatuto antropológico (222). Varios de estos autores han llegado a hablar de una condición pre-humana según la cual el embrión en un temprano estado de desarrollo debería ser considerado únicamente como un sistema biológico no individualizado llamado *pre-embrión* (223). Una cuestión que ha sido materia de uno de los debates más espinosos en el campo bioético y que bien puede resumirse en el planteamiento de dos preguntas fundamentales: ¿Es el embrión un individuo de la especie humana? Y si lo es, ¿puede considerársele persona humana? El reconocimiento de un estatuto antropológico conlleva necesariamente el reconocimiento de un estatuto moral respecto a la manipulación, experimentación o uso de embriones con fines de experimentación o como fuente de células. Se trataría, por lo tanto, de un punto de inflexión respecto de la valoración ética de un procedimiento de este tipo. Así, el reconocimiento de un embrión como un ser humano supondría la valoración de este procedimiento como un acto discriminatorio respecto de un ser humano en condiciones de total vulnerabilidad (224), por el contrario, si al embrión no se le reconoce un estatuto antropológico la moratoria legal de este procedimiento sería expresión de una normativa represora respecto a la libertad de investigación y de la práctica profesional sanitaria (225). Resolver correctamente esta cuestión es fundamental a fin de hacer un juicio bioético que respete tanto la libertad del ejercicio profesional del médico e investigador como las obligaciones que se derivan del mismo en tanto procurar el bienestar de la vida del ser humano al cual sirve.

La presencia de posturas antagónicas respecto al embrión pre-implantatorio sólo se explica desde la existencia de ópticas contrapuestas que se toman como referencia al momento de valorar el estatuto antropológico del ser humano. No obstante, la lógica deductiva ha establecido desde el tiempo de Aristóteles tres principios *a priori* que hoy siguen en plena

vigencia y que permiten la aceptación de sólo una de ambas posturas (226): (i) el *principio de identidad*, según el cual toda identidad es idéntica a si misma; (ii) el principio de no contradicción, según el cual una proposición y su negación no pueden ser ambas verdaderas al mismo tiempo y en el mismo sentido; y (iii) el principio del tercero excluido, según el cual la disyunción de una proposición y su negación es siempre verdadera. En consecuencia, no cabe duda que, para el caso del embrión, la existencia de dos juicios antagónicos que pretendan describir una misma realidad conduce al hecho de reconocer que uno de ellos sea falso. Un cuarto principio filosófico (227), el *principio de razón suficiente*, según el cual todo lo que ocurre tiene una razón suficiente para ser así y no de otra manera exige una breve pero necesaria revisión de dichas posturas y los criterios que las sustentan a fin de dilucidar aciertos y errores:

- El criterio de la adquisición de racionalidad

Según este criterio el elemento determinante que da inicio a la vida de un ser humano es la presencia de un alma racional, cuya existencia tiene como condición *sine qua non* la presencia de una estructura corporal y sensorial que la soporte. En consecuencia, al embrión, carente de dicha corporeidad, no se le podría atribuir dicha condición. Se trata de un argumento derivado de la *teoría de la animación tardía* la cual toma como fuente ciertas reflexiones de Tomás de Aquino y Aristóteles. Según Aristóteles la animación del embrión humano se daba en el varón hacia el día 40 de gestación, mientras que para el caso de la mujer debía ocurrir hacia el día 80. Donceel (228), Mathonat (229), McCormick (230), y Ford (222) han abogado por la vigencia de esta teoría al momento de determinar la ausencia de una humanidad en el embrión en fase de pre-implantación.

- El criterio de la presencia de capacidad relacional

Según este criterio, lo distintivo del ser humano no es tanto la capacidad racional como la capacidad relacional. Esta capacidad ha de manifestarse tanto por las relaciones que el individuo establece con otros de su misma especie, como por las que los demás establecen con él. En consecuencia, según este criterio el inicio de una vida humana se da en un momento posterior al estado pre-implantatorio debido a la ausencia de las condiciones mínimas necesarias para la existencia de algún tipo de relación.

El criterio de la relacionalidad encuentra su principal fundamento en la antropología estructuralista desarrollada por Levi-Strauss e inspirada en el pensamiento de Ferdinand de Saussure. Los defensores de esta argumentación en el campo bioético son Bruno Ribes, Jacques Marie Pohier y Philippe Roqueplo, quienes definen una *teoría de la humanización* según la cual los aspectos biológicos no son ni los únicos ni los más importantes a tener en cuenta en el momento de determinar el inicio de la humanidad en un no nacido (231).

– El criterio de la identidad cerebral

Según este criterio la vida de un ser humano se da a partir del despliegue de la conciencia psicológica, como consecuencia del ejercicio de las facultades racionales y relacionales (232). El criterio toma como principal argumento la *teoría de la identidad*, desarrollada desde una óptica antropológica de fuerte contenido dualista en la que se separa el *ser* – naturaleza biológica – del *hacer* – ejercicio de las funciones derivadas de dicha naturaleza. McMahan, uno de sus principales exponentes, define según este principio que la humanidad depende de la capacidad física y funcional del cerebro como órgano de soporte de dicha conciencia (232). En consecuencia, ante la ausencia de dicho soporte resultaría imposible hablar de conciencia y por ende de un ser humano. A partir de ello, McMahan no duda en justificar una intervención clínica y experimental en un feto anterior al séptimo mes de desarrollo. No obstante, la postura más radical que se deriva de esta argumentación la tienen Engelhardt (233) y Singer (234) para quienes las funciones cognitivas, en caso de adquirirlas, sólo se alcanzan en un momento posterior al nacimiento. En cualquier caso, según este principio un embrión que aún no ha desarrollado su sistema nervioso central no podría ser considerado como un ser humano propiamente dicho.

– El criterio de la viabilidad de desarrollo

Según este criterio la individualidad de un ser humano se adquiere a partir del momento en el que exista una *posibilidad de desarrollo*. Esta capacidad de desarrollo depende tanto de la capacidad autonómica y teleológica como de la capacidad de asegurar la propia sobrevivencia. Para el caso de un embrión en condiciones *in vivo* la viabilidad de desarrollo se determinaría tanto por la capacidad receptiva endometrial como por la capacidad anidatoria y de autosostenimiento del embrión a lo largo de la gestación. Respecto a la primera se sabe que la

ingesta de determinadas sustancias (235), la intervención de factores mecánicos, el estrés, y ciertas anomalías anatómicas y fisiológicas en el endometrio materno pueden provocar condiciones adversas al desarrollo embrionario hasta el punto de provocar un aborto (236, 237). En relación a la segunda, se sabe que la tasa de abortos naturales en seres humanos fruto de anomalías embrionarias es alta en comparación con otros mamíferos. Algunos estudios han determinado que ésta puede estar alrededor del 30% entre la implantación (238) y la organogénesis (239), esto es hacia la semana 5 del embarazo. Un hecho que aparentemente plantearía una objeción fuerte frente a la existencia de una viabilidad de desarrollo en el mismo embrión. En cambio, en condiciones *in vitro* esta viabilidad es nula o por lo menos muy limitada dada la ausencia de un sistema natural de soporte en el cual el embrión pueda anidarse. Según el actual grado de conocimiento se garantiza la supervivencia embrionaria en el laboratorio de entre 7 y 10 días como máximo, al término de los cuales el embrión degenera y muere salvo que sea transferido a un endometrio materno. En cuyo caso vuelven a jugar las condiciones exigidas para un embrión *in vivo*.

Algunos autores ven en todo ello razones suficientes para objetar un estatuto antropológico en el embrión. Otros llegan a proponer tres tipos de embriones: los que nunca tendrán posibilidad de desarrollo (inviabiles) sea porque han sido generados en el laboratorio con fines de experimentación o porque carecen de la capacidad de autosostenimiento debido a anomalías constitutivas; los que, siendo generados con fines reproductivos, podrían tener alguna posibilidad de desarrollo en caso de ser transferidos; y los que se desarrollan hasta alcanzar el nacimiento (240). Vista así, la viabilidad sólo podría determinarse al momento del nacimiento, la misma que puede depender tanto de las cualidades intrínsecas del embrión como de factores externos a él y que incluso pueden incluir el juicio de terceros, sean estos progenitores, médicos o investigadores (241).

– El criterio del reconocimiento legal

Se trata de una argumentación derivada del derecho positivo según la cual la humanidad de un individuo se adquiere en la medida que el Estado reconoce tal estatuto a través de la ley.

Para el caso del embrión, el reconocimiento de un estatuto antropológico dependería más de si en la formulación de la norma que sustente el estatuto legal se valoren argumentos bioantropológicos asociados a su constitución ontogénica o no. En el caso español, por

ejemplo, la adopción del término *pre-embrión* (242) supuso no sólo no tener en consideración tales argumentos sino además hacer una relectura de la ontogénesis humana al margen de los conocimientos ofrecidos por la embriología que en la práctica derivó en la configuración de un ordenamiento jurídico contrario a otorgarle un estatuto antropológico al embrión y en consecuencia favorable a su uso dentro de la práctica clínica y experimental.

– El criterio de la independencia corporal

Al igual que en el caso anterior, la independencia corporal es un criterio de naturaleza jurídica según el cual un ser humano lo es sólo en la medida que se evidencia una independencia corporal y metabólica respecto a otro.

Este criterio se soporta sobre la *teoría del portio mulieris* derivada de una valoración que supuestamente se sigue del derecho romano. Quienes objetan en contra de un estatuto antropológico en el embrión basándose en este criterio consideran que el embrión es una porción del cuerpo de la mujer y no un individuo autónomo. (231)

– Gametogénesis y fecundación humana

Este criterio tiene como punto de apoyo el conocimiento aportado por la embriología o la biología del desarrollo. El elemento determinante, según esta disciplina, es la diferencia que introduce la meiosis respecto de la mitosis dentro del ciclo de vida del ser humano, la cual permite determinar con claridad el porqué el inicio de la ontogenia humana se presenta en la fecundación. En consecuencia, según éste criterio el embrión debería ser valorado como un individuo humano en razón a la nueva condición biológica que adquiere fruto de la fecundación y que es determinante de la definición de su propia identidad. (243) Se trata del argumento más sólido de entre todos los hasta ahora expuestos, no sólo por el conocimiento que ésta disciplina ha alcanzado respecto de la ontogénesis humana, sino porque se trata de la ciencia que, por definición, la tiene como objeto de su estudio.

La embriología define la gametogénesis como el proceso biológico que genera las células germinales (gametos), es decir, espermatozoides y ovocitos (243). Los gametos son un tipo especializado de células que se producen en las gónadas, testículos y ovarios, respectivamente y que son clave para la fecundación. Estas células se diferencian de las demás células del

cuerpo humano, llamadas somáticas, porque surgen por sucesivas divisiones de una línea celular específica a partir de un complejo proceso de división conocido como meiosis en el que de una célula germinal diploide (con dos copias de cromosomas, al igual que las demás células somáticas) se generan gametos haploides (con la mitad del número de cromosomas respecto a la célula germinal). Dentro del proceso meiótico, los gametos en formación sufren además un proceso de recombinación genética (*crossing over*) en el cual se intercambian piezas del genoma entre sí. De este modo se asegura que cada gameto sea único y diferente respecto a cualquier otro incluso a pesar de proceder originariamente de una misma célula germinal. Una característica particular de los seres humanos es que, a diferencia de los varones en la que la gametogénesis de una única célula germinal lleva a la formación de cuatro espermatozoides, en las mujeres el mismo proceso lleva a la formación de un único ovocito mientras que las otras tres células se expulsan como cuerpos polares que no tienen ninguna función actualmente conocida.

Recientes estudios han demostrado un fino mecanismo de coordinación celular dentro del cuerpo del embrión preimplantatorio el cual incluye mecanismos de polarización celular como parte del proceso de diferenciación de su tejido trofoectodérmico (244); procesos de movimiento y reubicación celular que lleva a la formación de la masa celular interna y sus tejidos derivados (245); y la acción coordinada de factores genéticos – genes Oct4, Sox2, Nanog, Cdx2 y los de la familia Par – y epigenéticos como principal soporte de todos estos eventos (246). En resumen, una maquinaria altamente compleja a través de la cual el embrión preimplantatorio alcanza la configuración de su estructura corporal e histológica definitiva, capaz de garantizar su supervivencia.

En consecuencia, y como resultado de la fecundación, se observa una serie de características determinantes de la identidad: (i) el restablecimiento del número diploide de cromosomas; (ii) la determinación de una identidad genética única y distinta en razón a la fuente de la cual deriva y que se manifiesta en la presencia de un genoma embrionario; (iii) el restablecimiento de un sexo cromosómico (44,XX ó 44,XY); (iv) el restablecimiento de todos los componentes citoplasmáticos (246); y (v) al menos en el caso de los modelos animales estudiados, la activación del cigoto como una unidad autónoma y coordinada capaz incluso de emitir (247) y recibir (248) señales moleculares con el organismo materno estableciendo de este modo un primer pero eficiente sistema de relación con su entorno.

- El criterio de la indivisibilidad

Según este criterio el inicio de la vida de un ser humano se determina por la pérdida de toda capacidad para generar otro idéntico a él. Se trata de una objeción derivada de la observación de un fenómeno biológico muy particular que puede presentarse dentro de la embriogénesis humana: la gemelación monocigótica.

Los gemelos monocigóticos (*monozygotic twins*, MZ) – a diferencia de los gemelos dicigóticos (*dizygotic twins*, DZ) – se originan por la escisión de un embrión en dos distintos. Un fenómeno muy raro en la embriogénesis humana con una prevalencia alrededor de 3,5:1000 nacimientos (243). Se cree que este tipo de gemelaridad tiene lugar antes de alcanzar las dos primeras semanas del desarrollo. Siendo en menor proporción por separación de blastómeros, antes de la diferenciación del trofoblasto, alrededor del día 2 y 3 de desarrollo; y en mayor proporción por duplicación de la masa celular interna, antes de alcanzar la diferenciación del amnios, alrededor del día 4 ó 5 (243). Aunque se ha teorizado sobre la posibilidad de gemelación por duplicación del disco embrionario, en la segunda semana, a la fecha no existen evidencias que lo confirmen (243, 249). Los gemelos monocigóticos pueden ser *dicoriónicos*, con dos placentas, o *monocoriónicos*, compartiendo una sola. Los monocoriónicos a su vez pueden ser *diamnióticos*, con una placenta compartida y dos amnios distintos, o *monoamnióticos*, con una placenta y un amnios compartidos (250). Se estima que el 35% de los gemelos monocigóticos son dicoriónicos y el 65% restante son monocoriónicos (251). En el caso de gemelos dicigóticos se han descrito casos de quimerismo en los que se presentan diversos grados de intercambio celular entre ambos embriones (250). Finalmente, se ha documentado la existencia de procesos epigenéticos tales como el medio ambiente, anomalías vasculares asociadas a la posición de las placentas, mutaciones somáticas, y alteraciones cromosómicas posteriores a la separación de los embriones capaces de introducir marcadas diferencias entre los gemelos, algunas de las cuales pueden ser fenotípicamente visibles (250).

Sin embargo, para quienes propugnan este criterio, la sola posibilidad de divisibilidad dentro del proceso de gemelación, aún cuando resulte extremadamente baja, plantearía una objeción a la presencia de un carácter individual en el embrión humano preimplantatorio. Es el caso de Richard McCormick, quien ha visto en esta objeción una razón suficiente para establecer una

supuesta diferencia entre *vida preembrionaria* y *vida embrionaria* o humana propiamente dicha (230). No obstante, esta argumentación resulta débil en tanto que introduce una falsa oposición entre divisibilidad e individualidad. Precisamente, y sin salir del plano biológico en el cual este argumento se desenvuelve, la divisibilidad nunca ha supuesto una objeción a la individualidad de un ser vivo. Por ejemplo, cuando una planta de fresas silvestres extiende un espolón para invadir otro terreno distinto al suyo inicia un proceso de reproducción asexual natural en el cual de una planta ya madura se forma una nueva, única e independiente respecto de la primera a pesar de ser genéticamente idénticas. Evidentemente, la existencia de la nueva planta no supone en ningún caso la pérdida de la individualidad en la planta madre de la cual se derivó. Si se traslada el caso al campo de la gemelación humana se obtendrá una situación atípica, poco común, pero semejante a la anterior en la cual se observa un caso de reproducción asexual natural como bien se ha descrito brevemente en el párrafo anterior (249-251).

De lo expuesto se observa que ninguno de los criterios presentados resultan lo suficientemente fuertes para cuestionar y menos objetar en contra de la fecundación como el inicio de la vida del ser humano. Por el contrario, los datos aportados por la biología brindan argumentos irrefutables a favor de la presencia de un carácter individual en el embrión preimplantatorio y que deben ser necesariamente considerados dentro de la reflexión bioética. Como consecuencia, se debe reconocer la existencia de un estatuto bioantropológico y moral en el embrión en fase de pre-implantación lo que como consecuencia supone una objeción insalvable para un tratamiento que tomase a los embriones como fuente de obtención de células.

### **3. Algunas consideraciones éticas generales**

En términos generales, la valoración ética favorable para todo trasplante pasa por la consideración de tres consideraciones fundamentales de naturaleza antropológica (213): (i) la defensa de la vida del donante y del receptor; (ii) el consentimiento informado; y (iii) la protección de la identidad personal. Sobre la base de los datos anteriormente expuestos, y como se verá a continuación, dos de los tres elementos planteados atañen de manera directa al objeto de este estudio.

### 3.1. Defensa de la vida del donante y del receptor

A *priori* se puede considerar lícito todo trasplante que busque prolongar la vida de un enfermo grave e incurable de otra manera. Sin embargo, se debe profundizar dentro de la reflexión bioética que, incluso en la hipótesis de un beneficio efectivo para el paciente que recibe el tejido, dicho procedimiento puede afectar tanto a la salud del donante, en caso de un trasplante *ex vivo*; como a la del propio enfermo. En especial cuando por efecto del procedimiento pueden sobrevenir efectos colaterales no deseados en la vida del propio paciente trasplantado. Incluso, como se ha visto anteriormente, en el caso de la extracción de un tejido *ex cadavere*, se podría estar atentando contra la vida, si la muerte no hubiera sobrevenido efectivamente o no se hubiera comprobado adecuadamente. Finalmente, en la intervención quirúrgica podría introducirse la búsqueda del éxito a toda costa, así como una finalidad de pura experimentación, con perjuicio del enfermo que podría convertirse en un medio técnico para el mejoramiento de un procedimiento antes que en un fin en sí mismo.

De todo ello surge la necesaria reflexión bioética en la que no se debe olvidar que el principio de la vida física del sujeto comporta la obligación consiguiente de la *no disponibilidad* del propio cuerpo, si no es para un bien mayor del cuerpo mismo – *principio de totalidad* – o por un bien, mayor, moral, superior, relativo a la misma persona (213). En el caso de los procedimientos que implican un trasplante autogénico, el Principio de totalidad justifica en sí mismo el procedimiento mientras no suponga la pérdida de otras funciones vitales del sujeto. De allí la importancia, por parte de los profesionales sanitarios, de valorar no sólo la factibilidad técnica sino la proporcionalidad terapéutica del procedimiento sobre la realidad particular de cada paciente. Distinta ha de ser la valoración para los demás casos en los que el principio de totalidad siempre ha de subordinarse a un principio superior y de carácter mandatorio: el *Principio de defensa de la vida física*, según el cual la vida corporal, física, del hombre no representa algo extrínseco a la persona, sino que representa el valor fundamental de la persona misma por encima del cual sólo existe el bien total y espiritual del individuo (213). Una vez resuelto este punto, el ejercicio de un procedimiento de este tipo puede ampararse en la concreción en la práctica del *Principio de sociabilidad y subsidiariedad*, el cual se define como el compromiso de todo hombre en considerar su propia vida y la de los demás como un bien no sólo personal, sino también social, en el que por otro lado se obliga a la comunidad a procurar igualdad de condiciones haciendo especial énfasis en aquellos individuos en condiciones de mayor vulnerabilidad (213).

### **3.2. El consentimiento informado**

Sobre el problema que supone el consentimiento informado se debe considerar dos hipótesis: cuando la obtención de tejidos se hace de un donante vivo, y cuando se hace a partir de un cadáver. Pero en cualquier caso se debería observar la obligación de informar exacta y completamente sobre los riesgos, las consecuencias y las dificultades. Puesto que en la mayoría de los casos se presentará la posibilidad de riesgos altos con consecuencias de difícil valoración, la información debería de ser cuidadosa, y el consentimiento explícito y formalizado.

Cuando el trasplante se hace *ex vivo* la obligación del consentimiento informado se aplica también al donante y concierne a todas las consecuencias sobre su futura salud. Cuando el trasplante se hace *ex mortuo*, la tendencia jurídica lleva a considerar al cadáver como un bien comunitario y por ende a favorecer su utilización para el bien común, siempre que se presente una necesidad de tipo social y siempre que no se advierta la voluntad contraria del sujeto donante manifestada en vida. Sin embargo, esta situación se vuelve insalvable cuando se trata de procedimientos que conllevan la muerte del donante como es el caso del embrión o feto.

En otras palabras, una vez obtenido el consentimiento informado, un trasplante distinto al autogénico sería lícito sólo en el caso de que, (i) el donante, de estar vivo, no tenga que sufrir un daño sustancial e irreparable para su propia vida y su propia operatividad; y (ii) se compruebe una alta posibilidad de éxito en el receptor, de modo tal que el sacrificio del donante sea proporcional a las posibilidades de beneficio real para la vida del receptor. No se debe olvidar que la vida del receptor es igualmente un bien fundamental a salvaguardar y en consecuencia sólo se podría someter a un tratamiento invasivo de este tipo si existen esperanzas fundadas de obtener una mejora real de las condiciones de vida.

### **3.3. Protección de la identidad personal**

Como bien se ha dicho esta última consideración no se aplica al caso de los trasplantes que son tratados en este estudio puesto que se refiere al trasplante de órganos y tejidos capaces de transmitir el patrimonio genético del donante, como es el caso de tejidos gonadales. Aunque existe abierta la hipótesis de un eventual trasplante de órganos cerebrales, esta posibilidad se

plantea más como un caso de análisis filosófico que propiamente biomédico debido a la imposibilidad de su actual ejecución y que por otro lado escapa al objeto de este estudio.

## IV. Aspectos normativos

---

### 1. Consideraciones preliminares

El análisis jurídico es un complemento necesario al análisis bioético del tema objeto de este estudio. No obstante, así como ocurre en el campo bioético, en el ámbito legal resulta igualmente necesario definir claramente el hecho jurídico a fin de delimitar el marco normativo en el cual éste se presenta.

Por hecho jurídico se entiende un acontecimiento de trascendencia en el ámbito del derecho, es decir, capaz de modificar ciertos estados jurídicos iniciales desde el punto de vista legal. Las normas jurídicas parten siempre de hechos jurídicos, también llamados presupuestos de hecho, sobre cuyas consecuencias legales han de ser capaces de regular. Por otra parte, en el análisis jurídico también es importante distinguir, dentro de los hechos jurídicos en sentido amplio, los llamados actos jurídicos y los hechos jurídicos en sentido estricto. Un hecho jurídico en sentido estricto no tiene por qué ser voluntario ni controlable por la persona, mientras que en un acto jurídico, la voluntad de la persona es esencial. Por lo tanto, todos los actos jurídicos son hechos jurídicos, pero no todos los hechos jurídicos son actos jurídicos. No obstante, a medida que surgen nuevas tecnologías que exigen nuevos ordenamientos jurídicos, a cada una de ellas bien se le podría considerar como un hecho jurídico en sí misma con sus propias consecuencias legales y exigencias normativas.

Para el caso de este estudio, el hecho jurídico principal quedaría establecido por el desarrollo de terapias biomédicas para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y cuya tecnología se basa en la utilización de distintos tipos celulares – en concreto tres: NPSCs, ESCs, y iPS – como agentes terapéuticos. Este hecho plantea dos tipos de valoraciones legales: (i) la experimentación con seres humanos tanto en estado embrionario, fetal, o adulto; y (ii) el uso de células madre como agentes terapéuticos.

### **1.1. Experimentar con seres humanos**

En el campo de la investigación biomédica el término *experimentar* supone el sometimiento a verificación, mediante la utilización directa de procedimientos o medios nuevos o que estén ya permitidos, para la valoración de consecuencias, directas o indirectas, aún desconocidas (213). Esta experimentación se puede llevar a cabo tanto en modelos animales como en seres humanos. El paso a la experimentación en sujetos humanos siempre plantea una novedad y como tal comporta un riesgo, muchas veces de difícil valoración.

Por ello, el paso de un grupo a otro siempre debe ir precedido y motivado por la obtención de todos los elementos posibles de certeza técnica, a fin de reducir al mínimo los riesgos procurando el máximo de beneficios en la medida que puedan ser previstos en el laboratorio. Se trata de una decisión que siempre debe ir acompañada de dos consideraciones: La primera se puede definir por el establecimiento de los límites procedimentales en los que se deben enmarcar las diversas fases de la experimentación en salvaguarda de la integridad de la vida y la salud del sujeto sobre quien se procede; por su parte, la segunda se puede definir en la diferencia de planteamientos procedimentales que supone experimentar sobre individuos sanos y enfermos.

En el caso de enfermos, se debe distinguir además entre la experimentación con fines terapéuticos y la experimentación clínica en la que no necesariamente se pretenda curar al paciente. Históricamente, el tratamiento de cada caso ha sido muy distinto y ha dado lugar, a lo largo del tiempo, a un amplio cuerpo doctrinal a nivel internacional y nacional.

## **1.2. Terapias basadas en el uso de células madre**

Por medicamento se entiende el agente o sustancia capaz de ser administrado a un individuo con un fin terapéutico o preventivo respecto de una enfermedad (252). A pesar de que el concepto ha sido aplicado de manera tradicional a sustancias de origen farmacológico, su uso bien puede extenderse a todos aquellos productos cuya obtención provenga de vías distintas. Tal es el caso de las terapias basadas en el uso de células madre y/o sus productos derivados. De hecho, la Food and Drug Administration (FDA), organismo oficial de Estados Unidos en regular la producción y comercialización de medicamentos, así lo entendió elaborando una serie de normativas respecto al desarrollo de terapias basadas en el uso de células madre y que busquen el trasplante de células en pacientes con ciertos tipos de enfermedades (253, 254). De este modo, Estados Unidos, pionero en el desarrollo de este tipo de tecnologías, ha sido el primero en elaborar un marco jurídico que normalice el nuevo hecho jurídico emergente que supone el desarrollo de esta nueva generación de medicamentos.

En consecuencia, de cara a la valoración de un hecho jurídico emergente, cuyo grado de complejidad supone en sí mismo un reto jurídico de notables dimensiones, resulta igualmente necesaria a la valoración legal de la experimentación con seres humanos, la valoración del marco legal, hoy vigente, en materia de esta nueva generación de medicamentos, tanto a nivel internacional, europeo, y más concretamente español.

## **2. Normativa en materia de experimentación con seres humanos**

Como se mencionó al inicio de este apartado, la experimentación con seres humanos es una realidad altamente compleja y de múltiples aristas. En consecuencia, su tratamiento plantea un primer reto a nivel de sistematización sobre la amplia documentación desarrollada. En la revisión de las principales normativas vigentes en materia de experimentación con seres humanos lo primero que salta a la vista es la distinción que se va haciendo a lo largo de los años entre seres humanos adultos y aquellos que no lo son (embriones y fetos). A continuación se hace una exposición de los principales documentos normativos, a nivel internacional y nacional, hoy vigentes, y el tratamiento que en ellos se realiza en cada una de las situaciones.

## 2.1. A nivel internacional

### 2.1.1 El Código de Nuremberg

El Código de Nuremberg (255) es el primer documento internacional en el que se establece un punto de partida en la elaboración de un conjunto de pautas de conducta en la experimentación con seres humanos. El documento, de 1947, surgió a raíz del proceso legal aplicado a los médicos y científicos nazis que cometieron crímenes contra seres humanos con la excusa de realizar ciertas investigaciones científicas durante la II Guerra Mundial (256). Por lo tanto, no se trata de un código jurídico, ético o deontológico en sí mismo, sino una lista de principios para la experimentación médica que fueron fijados por el tribunal norteamericano que tuvo a cargo el proceso judicial antes citado.

El Código se estructura como un decálogo en el que se abordan cuatro puntos fundamentales: (i) el consentimiento informado, Artículo 1º; (ii) la necesidad de una fundamentación documental seria que acompañe el diseño de cualquier tipo de experimentación científica, Artículos 2º y 3º; (iii) la ausencia de cualquier tipo de coerción y el permanente respeto a la libertad del sujeto sobre quien se realice el procedimiento experimental, Artículo 9º; y (iv) la posibilidad de un beneficio real para los sujetos humanos involucrados, Artículos 4º, 5º, y 6º.

Tomando como referencia la exposición de principios desarrollados en el Código, sería inadmisibles cualquier tipo de experimentación con células madre obtenidas a partir de embriones o fetos humanos dado que un procedimiento de este tipo incumpliría, por lo menos, tres de los cuatro principios antes expuestos: el *consentimiento libre e informado*, que en ambos casos sería imposible de realizar incluso en el supuesto que se le delegara tal derecho a la madre o progenitores, dado que la *patria potestad* tiene como fin siempre el bien del menor; la *coerción y violación de las libertades individuales* que supone el tratamiento; y la *imposibilidad de un beneficio real* en el sujeto sobre quien se experimenta. En todos los casos se trata de objeciones insalvables puesto que la experimentación supone siempre un daño irreparable que conlleva la muerte del embrión o feto en quien se practique un procedimiento de este tipo. En el caso de fetos, la situación puede resultar algo diferente cuando se trata de células obtenidas a partir de fetos ya muertos. En cuyo caso, el dilema legal estaría en la existencia o no de algún tipo de relación entre la muerte del feto, el aborto y la extracción de

las células. Únicamente la experimentación con células obtenidas a partir de sujetos adultos y cadáveres podría ser aceptada siempre que se respeten las condiciones establecidas en el Código.

### 2.1.2 Declaración de Helsinki

Se trata de un documento en el que la Asociación Médica Mundial (*World Medical Association, WMA*) recogió un cuerpo de principios éticos orientadores en el campo de la investigación biomédica en seres humanos. A nivel internacional es considerado como el principal referente ético en el campo de la investigación con seres humanos. No obstante, el documento no alcanza a convertirse en un instrumento legal de carácter vinculante. Su autoridad emana directamente del grado de codificación interna y de la influencia lograda a nivel internacional. La Declaración fue adoptada por la 18ª Asamblea de la WMA en 1964 (257). A lo largo de los años ha sufrido seis enmiendas y dos notas aclaratorias pasando de 11 a 35 párrafos. La versión actualmente vigente fue adoptada por la 59ª Asamblea celebrada en Seúl en el 2008 (258). En la Declaración se recogen los puntos desarrollados en el *Código de Nuremberg* de 1947 y en la *Declaración de Ginebra* de 1948 sobre los deberes éticos de los médicos, ampliándolos a partir de ciertas consideraciones de orden práctico.

La Declaración establece que: (i) toda investigación con seres humanos siempre ha de requerir un *consentimiento informado* que cumpla con los requisitos mínimos de información y rigurosidad científica, párrafos 9º, 16º, 24º al 29º, y 35º; (ii) el diseño de la investigación además de estar *adecuadamente documentado* debe plantearse siempre bajo la exigencia de buscar la mejor posibilidad de tratamiento para los sujetos enfermos involucrados, párrafos 27º, y 31º al 33º, mientras que para el caso de sujetos sanos su ejecución nunca debe suponer un riesgo que pueda mermar de manera permanente la vida o la salud de los involucrados, y siempre bajo el escrutinio médico de un especialista a lo largo de todo el procedimiento, párrafos 16º, 18º, 20º, y 21º; (iii) el tratamiento *deberá ser libre de todo tipo de coerción* física, psíquica o moral y siempre *respetando la libertad* del sujeto, párrafos 9º y 34º; y (iv) se deben establecer pautas de acción en el que se *garantice la salud y la vida de los sujetos involucrados*, párrafos 6º, 30º y 34º.

Como en el caso del Código de Nuremberg, la experimentación con embriones y fetos humanos sería, desde el punto de vista de la Declaración, éticamente inviable debido a las mismas razones expuestas en el caso anterior. Aún más, desde la óptica de la Declaración se exige explícitamente que en el tratamiento se garantice en todo momento la salud y la vida de todos los sujetos involucrados, algo que por las características del mismo se incumpliría totalmente. Del mismo modo, como ocurre con el Código, los tratamientos que supongan intervenciones en seres humanos adultos no plantearían ninguna objeción por parte de lo estipulado en la Declaración, siempre que se cumplan las condiciones establecidas sobre los límites para una intervención de este tipo.

### **2.1.3 Pautas éticas internacionales de la CIOMS**

En 1949 la Organización Mundial de la Salud (*World Health Organization, WHO*) y la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (*United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, UNESCO*) establecieron el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (*Council for International Organizations of Medical Sciences, CIOMS*). El CIOMS se constituyó como un órgano encargado de brindar pautas de acción para la comunidad científica y biomédica internacional. En 1982, el CIOMS estableció un grupo de directrices éticas en investigación científica y biomédica en seres humanos bajo el título de *International Ethical Guidelines for Biomedical Research involving Human Subjects*. En 1993 y en el 2002, el documento fue revisado y reestructurado. La versión actualmente vigente consta de 21 pautas (259).

En el documento se aborda: (i) el consentimiento informado, (ii) el análisis de los riesgos y beneficios, (iii) la selección de los sujetos para la experimentación, (iv) la implicación de poblaciones o comunidades con recursos limitados, (v) la experimentación en menores o en sujetos discapacitados, (vi) la participación de mujeres en edad fértil o embarazadas, (vii) la privacidad, (viii) la indemnización a los sujetos participantes en el caso de daños colaterales, (ix) los procedimientos de revisión, y (x) los intereses económicos de terceros. En la actualidad, estas directrices sirven como un instrumento guía en el desarrollo de protocolos de investigación biomédica.

En la introducción el documento se abstiene de tomar posición en relación a investigaciones que supongan el uso de embriones y fetos humanos. Explícitamente, se afirma la imposibilidad de brindar una pauta al respecto dado que ello exigiría la determinación del estatuto moral de embriones y fetos humanos, a fin de poder determinar el grado éticamente permisible de riesgos para la vida y bienestar de los mismos. No obstante, en la pauta 17 se reconoce la posibilidad de incluir mujeres embarazadas en procedimientos experimentales, siempre que estos tengan en consideración la vida, tanto de la mujer como del feto. Este último punto es de particular interés si se considera la posibilidad real de que ello ocurra en caso de obtener células a partir de tejidos fetales abortados.

Ese mismo año, en el marco de la Reunión Mundial sobre aspectos médicos, éticos y sociales de la reproducción asistida, la WHO publicaba el Informe *Prácticas actuales y controversias en Reproducción Asistida* (260). Allí, entre otros temas, se hace una toma de posición favorable a la experimentación con embriones humanos. Se insiste, por ejemplo, en la necesidad de investigar más sobre la morfología y desarrollo del embrión y para ello se recomienda el desarrollo de investigaciones en esta línea. En términos generales, el documento manifiesta una actitud ampliamente favorable por parte del organismo respecto a la investigación con embriones humanos.

#### **2.1.4 Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos**

La UNESCO ha sido el primer organismo internacional que ha expresado un profundo interés en materias directamente vinculadas con el campo bioético. Prueba de ello ha sido la elaboración de la *Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos*, (261) revisada y aprobada por la 29ª Conferencia General el 11 de noviembre de 1997 y por la Asamblea General de las Naciones Unidas un año después (262). Como ocurre con el caso de la Declaración de Helsinki, la Declaración de la UNESCO no tiene un carácter vinculante, razón por la cual el documento fue acompañado de una resolución de aplicación, en la que se solicitaba a los Estados miembros que tomaran las medidas apropiadas para promover los principios enunciados en ella y favorecer de este modo su aplicación.

La Declaración consta de 25 artículos distribuidos en siete enunciados en los que se trata: (i) la dignidad humana y el genoma humano, (ii) los derechos de las personas interesadas, (iii) la

investigación sobre el genoma humano, (iv) las condiciones de ejercicio de la actividad científica, la solidaridad y cooperación internacional en la materia, (v) el fomento de los principios de la declaración y la aplicación de la misma. Una gran ausencia en este documento es la falta de una definición de individuo humano y la relación del genoma respecto a él, en consecuencia queda abierta la interpretación del mismo para el caso de embriones y fetos; lo mismo ocurre para el caso de individuo, persona y genoma, no obstante, del uso que se hace de los términos se deduce que los entiende estrechamente vinculados. En relación a este último punto de modo tácito reconoce al genoma como un elemento constitutivamente inseparable de la identidad individual y personal de cada ser humano (Artículo 5º y 6º), sin embargo, en materia de la práctica científica, el documento se limita a reconocer una cierta libertad de investigación en términos muy generales (Artículo 12º). En conjunto el documento deja ciertos claroscuros en la materia.

#### **2.1.5 Buenas prácticas clínicas**

Entre 1958 y 1963 el laboratorio alemán Grünenthal comercializó a nivel mundial la talidomida como sedante y calmante de las náuseas que usualmente se producen al inicio del embarazo. El fármaco salió al mercado sin haber pasado por un análisis sobre los efectos secundarios derivados de su consumo (263, 264). Este error costó el nacimiento de miles de niños con diversas anomalías congénitas (265). Estados Unidos fue el único país donde no se registraron casos debido a que la FDA había negado el permiso de comercialización para dicho fármaco precisamente por la falta de dichos estudios (266). La tragedia producida por la talidomida trajo como consecuencia el desarrollo de una serie de medidas normativas a nivel internacional (267). En Europa este hecho se plasmó en la *Directiva 65/65/EEC*, el primer instrumento de control europeo para la venta de medicamentos en la entonces Comunidad Económica Europea (CEE). Con el paso de los años la Directiva 65 dio paso a una serie de instrumentos legales en los que se buscó armonizar criterios de control a nivel experimental y legal de futuros medicamentos y de los ensayos clínicos que los respalden.

Si antes de la talidomida había una carencia de normativa, como consecuencia de ella se dio origen a diversos tipos de regulaciones a nivel internacional. En consecuencia, la misma industria farmacéutica buscó tomar la iniciativa y constituir un grupo internacional encargado de diseñar un conjunto de recomendaciones que sirvieran de estándares sobre los requisitos a

tomar en cuenta en el proceso de autorización de un fármaco. De este modo, se crea la Conferencia Internacional de Armonización (*International Conference on Harmonisation, ICH*), un organismo internacional constituido para definir estándares de calidad y seguridad que los gobiernos puedan incorporar en sus respectivas reglamentaciones en materia de ensayos clínicos. El organismo creó un Grupo de Trabajo (*Working Party on Efficacy of Drugs*) el cual elaboró una serie de recomendaciones tituladas: *Good clinical practice for trials on medical products in the European Community (GCP)*. Dicho documento, luego de sufrir sucesivas revisiones, llegó a ser aceptado por el Consejo Europeo traducándose finalmente en la *Directiva 91/507/CEE (268)*. En 1996, las GCP fueron modificadas por la *Agencia Europea de Medicamentos*. Otros países, además de los europeos, han recogido estas recomendaciones introduciéndolas en sus respectivas normativas excepto Estados Unidos, donde la reglamentación sigue las pautas indicadas por la FDA.

#### **2.1.6 El Informe Belmont**

Diez años después de la talidomida dos estudios con claras connotaciones antiéticas produjeron una honda consternación en Estados Unidos y en el resto de la comunidad internacional: uno desarrollado en Tuskegee en pacientes con sífilis, y otro en Willowbrook en niños con retraso mental a quienes se les inoculó el virus de la hepatitis (269, 270). Como consecuencia de estos hechos se redactó un informe que posteriormente se convertiría en un documento normativo de la investigación con seres humanos en Estados Unidos.

El Informe Belmont ó *Principios éticos y pautas para la protección de los seres humanos en la investigación*, fue elaborado en el Centro de Conferencias Belmont, de allí su nombre, en 1979 (271). El documento, inicialmente concebido como un instrumento orientador en ensayos experimentales con seres humanos en Estados Unidos, ha servido como un referente más en el campo de la experimentación con seres humanos a nivel internacional. El documento resume tres puntos centrales que toda investigación que involucre seres humanos ha de tener en cuenta: el consentimiento libre e informado, el beneficio real de los participantes, y la valoración de riesgos.

## 2.2. A nivel europeo

A nivel europeo es necesario distinguir dos tratamientos jurídicos distintos. El que dimana del Consejo de Europa (*Council of Europe*, CE), y el que deriva de las instituciones legislativas de la Unión Europea, esto es, el Parlamento, el Consejo, y la Comisión Europea.

### 2.2.1 Normativa derivada del Consejo de Europa

El Consejo de Europa es el principal organismo intergubernamental europeo el que agrupa a 47 estados miembros. El CE tiene como principal tarea brindar un marco de cooperación que fomente la defensa de los derechos humanos, el desarrollo democrático, la cooperación cultural y potenciar la identidad europea. En 1985, el CE, a través de su Consejo de Ministros, constituyó un Comité *ad hoc* de expertos en Bioética (*Ad hoc Committee of experts on Bioethics*, CAHBI). En 1992 este grupo se constituyó en el actual Comité Directivo de Bioética (*Steering Committee on Bioethics*, CDBI), organismo responsable de las actividades intergubernamentales del CE en materia de bioética.

El CE, a través del CDBI, ha impulsado una serie de documentos en los que, entre otras materias, se aborda la experimentación con seres humanos. El primer hito histórico en este campo ha sido el *Convenio Europeo de Derechos Humanos*, firmado en Roma en 1950, paradigma común europeo en la materia. Precisamente, a lo largo de más de cincuenta años, el Tribunal Europeo de Derechos Humanos ha sido el órgano jurisdiccional que ha interpretado y aplicado dicho Convenio creando un corpus jurídico que se ha constituido en Derecho en los Estados que han aceptado su jurisdicción y, en todo caso, es referencia paradigmática universal incluso fuera del espacio europeo. En el campo biomédico, el primer y más importante documento en la materia viene siendo el *Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano en las investigaciones de biología y medicina: Convenio de derechos humanos y biomedicina o Convenio de Oviedo* (CETS Nº 164), firmado en Oviedo en 1997 (272). Sobre la base de este documento se han desarrollado cuatro protocolos adicionales: el *Protocolo adicional sobre la prohibición de la clonación de seres humanos* (CETS Nº 168), firmado en París en 1998 (273); el *Protocolo Adicional sobre trasplante de órganos y tejidos de origen humano* (CETS Nº 186), firmado en Estrasburgo en el 2002 (274); el *Protocolo Adicional sobre investigación biomédica* (CETS Nº 195), firmado en Estrasburgo en el 2005

(275); y el *Protocolo Adicional sobre pruebas genéticas con propósitos terapéuticos* (CETS Nº 203), firmado en Estrasburgo en el 2008.

No obstante, la principal dificultad para que este cuerpo normativo se haya podido traducir en un marco legal ha estado no sólo en consensuar el texto de cada documento sino en la precaria capacidad de recabar el consentimiento obligatorio de los Estados signatarios expresado en la ratificación de cada uno de los tratados antes firmados. Así al día de hoy, sólo 26 Estados han ratificado el Convenio de Oviedo, 20 lo han hecho para el Protocolo Adicional CETS Nº 168, 12 para el CETS Nº 186, 6 para el CETS Nº 195, y apenas uno para el CETS Nº 203, lo que ha hecho que éste último aún no pueda entrar en vigor puesto que se requiere un mínimo de 5 ratificaciones, entre las cuales han de figurar 4 Estados miembros.

La juventud de los textos no explica dicha situación por completo sino las diferencias de criterio sobre las materias reguladas. Por ejemplo, hasta el momento, la Convención de Oviedo ha sido firmada por 34 Estados miembros del CE y ratificada por 25 de ellos. Teniendo en cuenta que el CE cuenta en la actualidad con 47 Estados miembros, ello significa que el documento fue firmado por prácticamente la mitad de ellos. Entre los que no firmaron hay ausencias notables, como la de Alemania y Gran Bretaña. El primero por considerarlo demasiado permisivo, sobre todo en lo relativo a la experimentación con embriones; y el segundo por motivos exactamente opuestos, es decir, por juzgarlo demasiado restrictivo, sobre todo en cuanto se prohíbe la producción deliberada de embriones para experimentación. En opinión de algunos autores, la abstención alemana, basada en la excesiva permisividad de la Convención, no es del todo justificable y probablemente proceda del error de juzgar a este documento como si fuera una ley nacional en la que “todo lo que no está prohibido se asume permitido”. Pero habría que advertir que se está ante una convención-marco, que se limita a fijar un mínimo común denominador, es decir aquello en lo que todos los países están de acuerdo en considerar inadmisibles. Pero nada impide que cada país fije reglas más estrictas, como de hecho lo prevé el mismo documento (Artículo 27º) (276).

#### A. Convenio de Derechos humanos y biomedicina

Entre los diversos documentos que sirvieron como referencia en la elaboración del Convenio de Oviedo están la Recomendación Nº 1046 de 1984 sobre el uso de embriones humanos y fetos para propósitos de diagnóstico, terapéuticos, científicos industriales y comerciales; la

Recomendación Nº 1100 de 1989 de la Asamblea Parlamentaria del Consejo de Europa sobre el uso de embriones humanos y fetos en investigación científica, desarrollada a partir de una propuesta del Comité de Ciencia y Tecnología; y por la Recomendación 1160 de 1991 en la que se fijó la estructura de la Convención basada en dos niveles normativos: la Convención propiamente dicha en la que se recogerían los principios generales y una serie de protocolos adicionales en temas específicos como trasplantes, terapia génica, experimentación no terapéutica, con embriones, u otros.

En relación al desarrollo seguido, el documento plantea aciertos y errores. A saber, se hace hincapié en que el interés y bienestar del ser humano debe prevalecer sobre el interés exclusivo de la sociedad y de la ciencia (Artículos 1º y 2º); para el caso de sujetos incapaces de expresar su consentimiento se establece que una intervención sólo se justifica en la medida que los resultados redunden en su propio beneficio (Artículo 6º, ap.1); se introduce el principio de no discriminación respecto al material genético (Artículo 11º); no obstante en el Artículo 15º permite la libre investigación científica a reserva de lo expuesto en los artículos previos; en el Artículo 16º se da una serie de límites a la experimentación con seres humanos: la ausencia de métodos alternativos, proporcionalidad de riesgos y beneficios, y la existencia del consentimiento informado; sin embargo, en el Artículo 18º permite la experimentación con embriones humanos; en el Artículo 19º favorece la donación de órganos y tejidos de donantes *ex vivo* siempre que ésta sea la única vía posible y que se realice con un fin terapéutico para el receptor; en el caso de donantes con incapacidad de expresar su consentimiento, el Convenio establece que este tipo de trasplante sólo será posible de manera excepcional en el caso de no disponer de otro donante compatible y con capacidad de prestar su consentimiento, de relación fraterna entre receptor y donante, y en caso de ser la única vía para preservar la vida del receptor; el Convenio también prohíbe el lucro de la totalidad del cuerpo humano o de sus partes (Artículo 21º); y de la utilización de éstas con un objetivo distinto al del propio trasplante (Artículo 23º). Cabe mencionar que el documento se abstiene de dar una definición de *ser humano*, aunque en el preámbulo identifica al ser humano *como persona* y *como perteneciente a la especie humana*, un tema muy delicado considerando el tratamiento diferenciado que posteriormente hará respecto a la experimentación con embriones humanos en comparación con otros seres humanos. Se introduce de este modo una contradicción de fondo entre los argumentos que eventualmente servirían de fundamento para rechazar ciertos tipos de experimentaciones con seres humanos por una parte y los que justificarían la experimentación con embriones humanos por otra.

## B. Protocolo adicional sobre la prohibición de la clonación de seres humanos

El Protocolo fue firmado en París en 1998, aunque su entrada en vigor tuvo lugar en el 2001, una vez que se alcanzaran las cinco ratificaciones necesarias para ello.

En relación a este documento son de destacar los siguientes puntos: En el preámbulo del documento se reconoce el peligro que supone la instrumentalización de los seres humanos mediante la creación deliberada de seres humanos genéticamente idénticos. En los Artículo 1º y 2º se prohíbe toda intervención que tenga por finalidad la creación de un ser humano *genéticamente idéntico* a otro ser humano vivo o muerto, sin excepción alguna. Finalmente, el Protocolo define la condición *genéticamente idéntica* como aquella en la que el ser humano obtenido en el laboratorio comparte la misma serie de genes nucleares con aquel a partir del cual ha sido diseñado.

## C. Protocolo Adicional sobre trasplante de órganos y tejidos de origen humano

Este Protocolo fue firmado en Estrasburgo en el 2002 y entró en vigor en el 2006. Se trata de un tratado en el que se busca ampliar los puntos centrales desarrollados en el Convenio de Oviedo respecto a su aplicación en el campo de trasplante de células, tejidos y órganos humanos.

En el Artículo 2º se ofrece una definición del término *trasplante* como aquel proceso que va desde la extracción de un órgano o tejido de una persona (donante) hasta la implantación de éste en otra (receptor), en el mismo artículo se aclara que quedan fuera del campo de aplicación de dicho Protocolo los trasplantes de órganos y tejidos reproductivos, los órganos y tejidos embrionarios y fetales, y el trasplante de sangre y sus derivados.

En relación a la remoción de órganos y tejidos *ex vivo* afirma que esto se realice únicamente con fines terapéuticos y cuando no existe ningún otro medio alternativo (Artículo 9º), cuando la remoción del tejido no constituya un riesgo que ponga en peligro la vida y salud del donante (Artículo 11º), y luego que el donante haya dado su consentimiento expreso, libre y específico para dicha intervención (Artículo 13º).

En el caso de personas que no son capaces de dar su consentimiento, el Protocolo explícitamente rechaza la posibilidad de proceder a la extracción del órgano o tejido (Artículo 14º, ap.1), salvo en el caso que se den las siguientes condiciones (Artículo 14º, ap.2): (i) ausencia de un donante compatible y disponible con capacidad de ofrecer su consentimiento, (ii) la relación entre donante y receptor es de primer grado, esto es, hermanos, (iii) la donación no pone en riesgo la vida del donante, (iv) la autorización del representante legal del donante ha sido dada conforme a lo que dicta la ley, y (v) el donante no se oponga. No obstante, el Protocolo establece en su Artículo 15º que la Ley podría establecer que las disposiciones dadas en el Artículo 14º, apartado 2, guiones ii y iii, podrían no aplicarse para el caso de células sólo en la medida en que se demuestre que su eliminación implica un riesgo mínimo y una carga mínima para el donante.

En relación a la remoción de órganos y tejidos *ex mortuo* el Artículo 16º establece que la remoción de partes del cuerpo del donante no podrá practicarse hasta que no se brinde una condición certificada de muerte en consonancia con los parámetros dados por la Ley. En relación a este punto se indica que los mismos médicos que practiquen el trasplante no podrán ser quienes den la certificación de la muerte del donante; por otro lado, la remoción de los tejidos sólo se aplica para aquellos difuntos que hubieran dejado un documento donde expliciten su intención de donación (Artículo 17º).

Finalmente, en el Artículo 21º se prohíbe cualquier tipo de usufructo de esta práctica. Del mismo modo, en el Artículo 22º se prohíbe todo tipo de tráfico de órganos.

En resumen, aunque el documento hace un desarrollo amplio del proceso de trasplante de órganos, tejidos y células humanas, lo hace únicamente para el caso de fuentes adultas. El documento no sólo no toma postura respecto a los trasplantes a partir de embriones y fetos sino que explícitamente los mantiene fuera de su marco normativo.

#### D. Protocolo Adicional sobre investigación biomédica

El Protocolo adicional sobre investigación biomédica (CETS Nº 195) fue firmado en Estrasburgo en el 2005. Como en los casos anteriores, pasaron alrededor de dos años antes de que el documento pudiera entrar definitivamente en vigor.

El Protocolo se distingue del Convenio del cual deriva en que se enfoca específicamente en el campo de la investigación biomédica. Su propósito es el de definir los derechos fundamentales que entran en juego durante la investigación biomédica. Para ello cubre la gama completa de actividades de investigación biomédica en seres humanos. Hace hincapié en áreas que van más allá de la investigación farmacéutica, tradicionalmente asociada a la investigación biomédica con seres humanos. Reconoce que el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico, tratamiento y prevención también pueden requerir procedimientos de experimentación con seres humanos. Finalmente, el Protocolo parece recoger los vacíos dejados por los anteriores documentos al establecer desde un primer momento que en él se abordarán aquellas investigaciones que involucren *intervenciones* en embriones y fetos *in vivo*, así como en mujeres embarazadas. Sin embargo, ya en el apartado 2 del Artículo 2º establece que las investigaciones con embriones *in vitro* quedan fuera de su competencia. En el mismo artículo el documento también define el término *intervención* como toda aquella intervención física, y cualquier otra que implique un riesgo para la salud psicológica de la persona sobre quien se realice.

En el capítulo dedicado a las disposiciones generales se establece: que siempre prevalecerá el interés y bienestar del ser humano sobre el que se interviene antes que cualquier otro tipo de intereses (Artículo 3º), que la investigación siempre se ha de llevar a cabo libremente y garantizando la protección de los participantes (Artículo 4º), que sólo puede realizarse ante la ausencia de otras alternativas de eficacia comparable (Artículo 5º), que deberá estar exenta de riesgos desproporcionados en relación a los beneficios potenciales para el participante (Artículo 6º), y que siempre estará bajo un control externo ético y científico (Artículos 7º al 12º).

El protocolo establece también que el principio fundamental para la investigación con seres humanos, como ya lo establecía la propia Convención, ha de ser el consentimiento libre, informado, expreso, específico y documentado de la persona sobre quien se interviene (Artículo 13º y 14º). En relación al caso excepcional en el que se contemple la participación de personas incapaces de ofrecer su consentimiento se ofrece una serie de pautas normativas (Artículos 15º al 17º).

Como ya se ha observado, para el caso de investigaciones con embriones humanos, el Protocolo sólo contempla aquellas situaciones en las que estos están en condiciones *in vivo* derivados de la participación de mujeres embarazadas en ensayos clínicos. En términos generales establece que este tipo de investigaciones deben evitarse salvo en el caso que se espere un beneficio directo en la salud de la mujer, del embrión, feto o el niño después del nacimiento (Artículo 18º). No obstante, permite algunas excepciones: (i) cuando la investigación, para el caso de investigaciones en el campo de la reproducción humana, puede ofrecer un beneficio para otras mujeres o para otros embriones, fetos o niños; (ii) cuando no existe una alternativa posible de eficacia comparable en mujeres que no están embarazadas; y (iii) cuando la investigación implica sólo un riesgo mínimo.

#### E. Protocolo Adicional sobre pruebas genéticas con propósitos terapéuticos

El último protocolo adicional al Convenio de Oviedo ha sido el CETS Nº 203, dado en Estrasburgo en el 2008 y que aún no ha entrado en vigor por la falta del número mínimo de Estados ratificantes. En este documento se pretende examinar los aspectos éticos y jurídicos de las aplicaciones médicas de la genética. En particular, las pruebas genéticas. El Protocolo busca establecer un marco normativo que proteja los derechos humanos fundamentales en relación a la aplicación de estas nuevas tecnologías.

### **2.2.2 Normativa derivada de la Unión Europea**

A partir de la entrada en vigor del Tratado de Maastricht en 1992 se constituye la Unión Europea (*European Union*, EU) como un proyecto político cuya principal misión es la de *organizar de modo coherente y solidario las relaciones entre los Estados miembros y entre sus pueblos* (Artículo 1º del Tratado de Maastricht). Aunque la EU carece de una personalidad jurídica, no por ello deja de poseer un marco institucional con responsabilidades legislativas, ejecutivas y judiciales, cuyo campo de acción se extiende a todos los Estados que la componen. Luego de la entrada en vigor de un segundo Tratado, el Tratado de Lisboa del 2009, este marco institucional se configuró en siete instituciones: el Parlamento Europeo, el Consejo Europeo, el Consejo, la Comisión Europea, el Tribunal de Justicia de la Unión Europea, el Tribunal de Cuentas y el Banco Central Europeo. De ellas, tres tienen funciones de orden legislativo, el Parlamento Europeo, el Consejo, y la Comisión Europea.

El Parlamento Europeo es una asamblea parlamentaria plurinacional elegida por sufragio universal en el territorio comunitario, en el ámbito legislativo, el Parlamento comparte funciones con el Consejo de Ministros – también llamado Consejo de la Unión o Consejo – a través del procedimiento de codecisión. Por su parte, la Comisión Europea es la institución comunitaria con derecho de iniciativa casi exclusivo en materia legislativa, responsable de preparar y ejecutar los actos legislativos que posteriormente podrán ser remitidos al Consejo y al Parlamento Europeo para su aprobación.

Sobre la interacción de estas instituciones se estructura un conjunto de normas y principios que determinan el funcionamiento, corporación y competencias de la Unión Europea. Este ordenamiento jurídico es de carácter vinculante y por tanto prevalece sobre el Derecho nacional de los Estados miembros, una condición derivada de la cesión de soberanía que los Estados realizan en favor de las instituciones europeas. De este modo el Derecho comunitario se integra de modo directo en los ordenamientos jurídicos de los países miembros de manera que no necesiten fórmula especial alguna para que pase a formar parte de los distintos ordenamientos jurídicos internos, salvo en determinados casos.

Las fuentes del Derecho comunitario son de variada naturaleza lo que ha llevado a agruparlas de distinta manera. En términos generales las fuentes del Derecho pueden ser divididas en dos órdenes: obligatorias o vinculantes y no obligatorias. En el primer grupo en orden de jerarquía se encuentran: los *Tratados*, que son las de mayor rango y que posibilitan el desarrollo de las demás; los *Reglamentos*, con una aplicación inmediata en los ordenamientos jurídicos nacionales; las *Directivas*, con una aplicación dependiente de la aprobación de los Parlamentos nacionales dentro de los plazos previamente fijados; y las *Decisiones*, con un campo de acción más limitado porque, aún teniendo carácter obligatorio, suelen dirigirse a destinatarios concretos. Por su parte, en el segundo grupo están los *Dictámenes* y las *Recomendaciones*, ambos sin efectos vinculantes.

Si bien es cierto que la normativa europea en un tema tan específico como es el de la medicina regenerativa basada en el trasplante de células madre es escasa y por lo general de muy reciente creación, la experimentación con seres humanos y las implicancias éticas y legales que ello conlleva ha sido un tema muy presente desde la misma constitución de la Unión Europea.

Prueba de ello es la *Carta de los Derechos Fundamentales de la Unión Europea* que data del 2000. Se trata del documento de más alto rango en el que se indica una serie de obligaciones por parte de los Estados respecto a las personas. En el documento se hace mención explícita a las limitaciones que deben presentar las intervenciones de carácter biomédico en salvaguarda de los derechos fundamentales de las personas. En el mismo ámbito de normativas vinculantes se debe diferenciar dos grupos: las que regulan los diversos tipos de trasplante, esto es, de órganos (Directiva 2010/45/UE), tejidos ó células (Directiva 2006/86/CE, y la Directiva 2004/23/CE); y las que regulan los estudios y ensayos clínicos con medicamentos en investigación (Directiva 2005/28/CE, y la Directiva 2001/20/CE). Para efectos de este estudio, se hará una breve revisión de todos los documentos mencionados exceptuando la Directiva 2010/45/UE, que no atañe directamente.

#### A. Carta de los derechos fundamentales de la UE

La Carta fue proclamada por el Parlamento Europeo, el Consejo de la Unión Europea y la Comisión Europea en el 2000. El documento fue ratificado en el marco del Tratado de Lisboa adquiriendo un carácter legalmente vinculante en todos los Estados miembros de la UE (277). El documento contiene 54 artículos en los que se hace referencia permanente a la persona en quien reconoce una serie de derechos fundamentales. Son de especial relevancia: el derecho a la dignidad humana como valor inviolable, el cual ha de ser respetado y protegido (Artículo 1º); el derecho a la vida (Artículo 2º); el derecho a la integridad física y psíquica, que en el marco de las prácticas biomédicas se traduce explícitamente en el ejercicio del consentimiento libre e informado, la prohibición de prácticas eugenésicas, el comercio del cuerpo humano o de sus partes, y la clonación humana con fines reproductivos (Artículo 3º); el derecho a la igualdad ante la ley (Artículo 20º), y en contraparte la prohibición a cualquier tipo de discriminación (Artículo 21º); y el derecho a la protección de la salud individual (Artículo 35º).

#### B. Directiva 2001/20/CE

La Directiva 2001/20/CE, *relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros sobre la aplicación de buenas prácticas clínicas en la realización de ensayos clínicos de medicamentos de uso humano*, regula los ensayos clínicos en seres humanos con medicamentos en proceso de investigación (278).

El documento establece como principio de base para todo ensayo clínico en seres humanos la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano, establecidos en la Declaración de Helsinki. Para ello la norma reconoce cuatro criterios: (i) la protección de los sujetos mediante la valoración previa de riesgos, (ii) el control del procedimiento por parte de un Comité ético, (iii) el control gubernamental, y (iv) el cumplimiento de la normativa sobre la protección de los datos personales de los sujetos. La norma también reconoce que los medicamentos en investigación sólo podrán ser administrados a las personas cuando existan motivos fundados para suponer que el beneficio derivado de dicha administración supera a los posibles riesgos. Entre el amplio espectro de medicamentos regulados por la Agencia Europea de Medicamentos, reconoce la inclusión de los productos destinados a la terapia génica y celular. Finalmente, con el fin de simplificar el procedimiento de control para ensayos multicéntricos, la norma permite el dictamen favorable de un solo Comité ético.

La Directiva define *ensayo clínico* como aquella investigación realizada en seres humanos con el fin de determinar los efectos de un medicamento en investigación, *medicamento en investigación* como aquel producto que es probado en un ensayo clínico, y *sujeto* como aquel individuo que participa en dicho ensayo (Artículo 2º). A lo largo del documento no hay una referencia a la investigación con células madre o sus derivados. Únicamente en el apartado 7 del Artículo 6º, sobre los plazos de evaluación de los Comités éticos, se hace mención de una prórroga especial para el caso de investigaciones que involucren medicamentos de terapias génicas y terapias celulares.

#### C. Directiva 2005/28/CE

La Directiva 2005/28/CE, *por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de las buenas prácticas clínicas respecto a los medicamentos en investigación de uso humano, así como los requisitos para autorizar la fabricación o importación de dichos productos*, regula los estudios experimentales orientados al desarrollo de medicamentos de uso humano (279).

En la norma son de destacar tres elementos: (i) la protección de los sujetos sometidos a un ensayo clínico o prueba experimental, (ii) el cumplimiento de estándares internacionales que garanticen la buena calidad y seguridad de los ensayos, y (iii) la armonización de la legislación

europea en dicha materia. Toma como referencia las recomendaciones de la ICH, adaptadas por la Agencia Europea de Medicamentos, y desarrolladas en la Directiva 2001/20/CE. En su conjunto la Directiva amplía los puntos desarrollados en la Directiva 2001/20/CE.

#### D. Directiva 2004/23/CE

La Directiva 2004/23/CE, *relativa al establecimiento de normas de calidad y de seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos*, regula el proceso de experimentación con células y tejidos humanos (280).

En un extenso Preámbulo, la Directiva establece que en ella se regulará únicamente el proceso de donación, obtención y evaluación de células y tejidos humanos con fines industriales, y sólo cuando el procesamiento y comercialización se establezcan por otras normas comunitarias. Por su parte, las fases posteriores de fabricación se registrarán bajo la Directiva 2001/83/CE (párrafo 6). Del mismo modo, establece su campo de aplicación: tejidos y células de origen embrionario, fetal y adulto, incluidas las células madre y gametos (párrafo 7). En el mismo apartado la Directiva excluye las células y tejidos utilizados como injertos o trasplantes autólogos (párrafo 8). La norma también establece que no interferirá en las decisiones ya tomadas por los Estados miembros en relación con el uso o no de cualquier tipo de células humanas, del mismo modo, establece la Directiva que el uso que ella se hace del término jurídico de *persona* o *individuo* no interferirá con lo dispuesto por las normativas propias de los Estados miembros (párrafo 12). En el párrafo 16 del mismo Preámbulo hace referencia a las células que son utilizadas en trasplantes alogénicos afirmando que éstas pueden proceder de donantes vivos, en cuyo caso no suponga un riesgo para el estado de salud del mismo, o muertos, en cuyo caso ha de respetarse la dignidad del cuerpo del fallecido en particular mediante la reconstrucción del mismo. Finalmente, la Directiva reconoce la Carta de los Derechos Fundamentales de la UE y el Convenio de Oviedo como referentes en los juicios de valoración que en ella se establecen (párrafo 22). De los 33 artículos que constituyen la Norma merece especial atención el Artículo 3º sobre definiciones. Allí se introduce la definición de *donante* como *toda fuente humana, viva o muerta, de células o tejidos humanos*. No obstante, se define *uso alogénico* como el trasplante de células o tejidos extraídos de *una persona* y aplicados a otra. Cabe preguntarse si de lo expuesto se deduce que la Directiva reconoce un

tácito estatuto antropológico al embrión humano, se trata de un simple error tipográfico, o se pretende introducir una distinción entre donante y persona.

#### E. Directiva 2006/86/CE

La Directiva 2006/86/CE, *por la que se aplica la Directiva 2004/23/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere a los requisitos de trazabilidad, la notificación de las reacciones y los efectos adversos graves y determinados requisitos técnicos para la codificación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humano*, es una norma orientada a ampliar lo ya dispuesto en la Directiva 2004/23/CE referente a la trazabilidad de trasplantes con células y tejidos humanos (281).

La Directiva define *trazabilidad* como la capacidad de localizar e identificar las células o tejidos en cualquiera de las fases del trasplante. Esto es, obtención, procesamiento, evaluación, almacenamiento, hasta la distribución al receptor, o en su defecto, eliminación. Del mismo modo se aplica a la identificación del donante, del receptor, y del organismo u organismos que intervienen a lo largo del proceso (Artículo 2º). La importancia de este hecho está, como la misma normativa lo reconoce, en la posibilidad de transmitir enfermedades en alguna de las fases del proceso. Para tal fin, la Directiva establece una serie de requisitos de acreditación tanto de los establecimientos donde se realicen estos procedimientos (Artículo 3º) como de los protocolos que se sigan (Artículo 4º). Entre los requisitos de acreditación sobre la manipulación de los productos biológicos, células o tejidos, se exige la validación de una serie de pruebas experimentales que garanticen la inocuidad de los mismos. Algo que para el caso de productos biológicos genéticamente modificados, como el caso de las iPS, plantea una serie de barreras prácticas.

### **2.3. A nivel español**

En España la Constitución de 1978 es la norma suprema del ordenamiento jurídico, la cual regula a su vez toda la compleja interrelación entre las distintas normas internas y sus relaciones de jerarquía y competencia. En el orden de jerarquía siguen a la Constitución las leyes en sentido estricto. Las cuales pueden ser: Leyes Orgánicas, Leyes ordinarias y Reales Decretos con rango de Ley. Además de ello, la Constitución Española establece también la

competencia de las *Comunidades Autónomas* en la regulación de determinadas materias. De este modo, cada Comunidad está capacitada para dictar normas con rango de Ley a través de su propio Parlamento.

El ordenamiento jurídico español en la materia objeto de este estudio se encuentra distribuido en cuatro disposiciones con carácter de Ley: la Ley 30/1979 sobre extracción y trasplante de órganos, de modo particular en el Real Decreto 1301/2006 que recoge lo regulado en la ley anterior para el caso de trasplante de células y tejidos humanos; la Ley 29/2006 sobre medicamentos y productos sanitarios; y la Ley 14/2007 sobre investigación biomédica.

A nivel institucional, en España existe el *Instituto de Salud Carlos III*, un organismo público de investigación y de apoyo al desarrollo científico que tiene la responsabilidad de fomentar la investigación en biomedicina y ciencias de la salud en España. El Instituto fue creado por la *Ley 14/1986* como un organismo autónomo adscrito al *Ministerio de Ciencia e Innovación*. El Instituto se asocia a diversos centros de investigación en el campo biomédico en territorio español, siendo el principal referente estatal en este campo, en calidad de ente coordinador y regulador.

### **2.3.1 Ley 30/1979, sobre extracción y trasplante de órganos.**

Se trata de la norma más antigua y aún en plena vigencia en materia de donación y trasplante de órganos (282). Aunque el documento regula expresamente la extracción, donación y trasplante de órganos, la propia norma en sus *Disposiciones adicionales* manifiesta la intención del legislador de utilizarla como referente en la regulación de otro tipo de trasplantes, tales como sangre y derivados, cornea, tejidos, y otras partes anatómicas del cuerpo.

### **2.3.2 Real Decreto 1301/2006, sobre el uso en humanos de células y tejidos humanos**

De conformidad a la Ley 30/1979 se crea el Real Decreto 411/1996 con el fin de regular la utilización de tejidos humanos. Diez años después la norma fue derogada por el Real Decreto 1301/2006, *por el que se establecen normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y*

*funcionamiento para su uso en humanos*, actualmente en vigencia (283). Esta norma también recoge los lineamientos establecidos en la *Carta de Derechos Fundamentales de la UE*, la Directiva europea 2004/23/CE sobre células y tejidos humanos, la Directiva europea 2006/17/CE sobre la aplicación de la anterior Directiva, el *Convenio de Oviedo*, y a nivel nacional, algunos puntos reglados en la Ley 14/2006 sobre técnicas de reproducción asistida, que le son comunes.

En el Artículo 1º, el Real Decreto define que su objeto y ámbito de aplicación es el proceso que comprende desde la obtención hasta la aplicación en seres humanos de todos los tejidos y células humanas de origen adulto, fetal o embrionario. No obstante, para el caso de células quedan excluidos aquellos aspectos ya previstos en la Ley 14/2006, del mismo modo se excluyen la sangre y sus derivados tal como se definen en el Real Decreto 1088/2005, órganos que vayan a ser utilizados en trasplante de reemplazo total o parcial de otros, y aquellas células y tejidos que se obtengan en el marco de trasplantes autólogos. En el Artículo 2º la norma recoge las mismas definiciones descritas en las Directivas europeas, incluso en el caso de *donante, trazabilidad, y uso alogénico*, a los que se ha hecho mención en los apartados previos. La norma prevé también la existencia de establecimientos especializados para el tratamiento de estas células y tejidos sea para un uso autólogo o alogénico, lo cual describe en varios puntos y desde diversos aspectos a lo largo del documento (Artículo 14º y siguientes), dedicando incluso alguno de los anexos a las pautas de regulación a nivel de los estándares de calidad que estos centros han de cumplir. Sin embargo, un punto que resulta de particular importancia se encuentra en los artículos que tratan sobre la donación y obtención de células y tejidos de donantes vivos (Artículo 7º) y muertos (Artículo 8º). Allí, se establece que para el caso *ex vivo* esto sólo se podrá hacer si el donante es mayor de edad y brinda un consentimiento libre e informado, y siempre que la donación no suponga un daño para su salud. Afirma el texto, *no podrán obtenerse células y tejidos de personas menores de edad o de personas que por deficiencias psíquicas, enfermedad mental, incapacidad legal o cualquier otra causa, no puedan otorgar su consentimiento, salvo cuando se trate de residuos quirúrgicos o de progenitores hematopoyéticos u otros tejidos o grupos celulares reproducibles cuya indicación terapéutica sea o pueda ser vital para su receptor. En estos casos, el consentimiento será otorgado por quien ostente la representación legal.* (Artículo 7º, párrafo 1). En el último párrafo del mismo artículo la norma se remite a la Ley 41/2002, sobre la autonomía del paciente, para el caso de supuestos no contemplados, como puede ser el caso de trasplantes

alogénicos a partir de células madre de origen embrionario (ESCs) y células neuroprogenitoras de origen fetal (fNPSCs). Pero ambos casos tampoco son contemplados en dicha norma. Finalmente, para el caso de células obtenidas *ex mortuo*, la norma establece que se puede acceder a ellas siempre que el difunto no hubiera dejado constancia expresa de su oposición a tal intervención según lo dispuesto para tal fin en la Ley 41/2002.

### **2.3.3 Ley 29/2006, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios.**

La Ley 25/1990, sobre Medicamentos, buscó dar un marco jurídico a todos los aspectos directamente asociados al campo de los medicamentos. Quince años después, la Ley 29/2006, sobre *garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios*, derogó esta norma (284). La nueva normativa tomando como referencia las Directivas europeas vigentes en la materia estableció una serie de reglamentaciones en el amplio campo de los medicamentos. Dichas reglas enfocan básicamente en dos líneas de acción: las garantías necesarias para la fabricación y posterior distribución de los medicamentos, y la promoción de un uso racional de los mismos.

A lo largo de sus 113 artículos aplica regulaciones a los medicamentos de uso en humanos y uso veterinario, los medicamentos en investigación, y los medicamentos especiales. En esta última categoría se incluyen los medicamentos de origen humano, y en particular los de terapia avanzada. Esto es, aquellos de uso en terapia génica y en terapia celular somática, de interés en este estudio. Sin embargo, la ley hace una distinción entre los que son de producción industrial – los cuales regula – y los que no lo son, en cuyo caso deja abierta la regulación al desarrollo de futuras disposiciones.

Es de particular importancia el Artículo 47º, sobre *medicamentos de terapia avanzada*. En el apartado 2 de dicho artículo se hace referencia directa a los *medicamentos de terapia celular somática*, el cual es definido como la utilización en seres humanos de células somáticas vivas en trasplantes autólogos, alogénicos y en xenotrasplantes (este último para el caso de animales sometidos a alteraciones biológicas previas). En el apartado 3 se dan pautas de regulación en estos casos para aquellos medicamentos que deriven en una fabricación industrial. Termina diciendo la norma que para el caso de medicamentos que, cumpliendo las características establecidas para el caso de *medicamentos de terapia avanzada* aunque sin

haber sido fabricados industrialmente, será el Gobierno quien determine reglamentariamente la aplicación de la Ley. Finalmente, en relación a las *tasas* de la Administración General del Estado en materia de medicamentos, la Ley establece que los medicamentos de terapia avanzada, celular y génica, han de gozar de exoneración siempre que sean realizados en entidades públicas, o en su defecto que su realización no conlleve fines industriales o comerciales (Artículo 109º).

En relación a los ensayos clínicos, la Ley establece una serie de garantías para los sujetos expuestos a dichos ensayos a fin de velar por el cuidado de sus derechos y por libertades en consonancia con la normativa nacional, europea, e internacional (Artículo 58º al 62º).

En conclusión, a través de la Ley se le reconoce a las terapias basadas en el uso de células madre un estatus legal de medicamento en territorio español. No obstante, la regulación sólo se ciñe al caso de aquellas que contemplan una aplicación industrial, para los efectos de otros usos la norma deja el criterio en manos de la interpretación que el ejecutivo haga del espíritu de la ley.

#### **2.3.4 Ley 14/2007, de investigación biomédica**

Ante el creciente desarrollo de la investigación biomédica y los vacíos dejados por las normativas precedentes, el órgano legislativo del Estado español ve la necesidad de crear una ley que recoja los diversos puntos distribuidos en las anteriores normas complementándolos desde la óptica de la investigación científica y su aplicación clínica en el campo biomédico. De este modo, y en consonancia con la Constitución española y el Convenio de Oviedo, las leyes 41/2002 sobre la autonomía del paciente, y 15/1999 sobre la protección de datos personales, además de las normas desarrollados en los apartados previos, se crea la Ley 14/2007 sobre investigación biomédica (285). Esta norma, además de dar una serie de regulaciones en esta materia, brinda el marco legal para la creación de una *Comisión de Garantías para la Donación y Utilización de Células y Tejidos Humanos*, y un *Comité de Bioética de España*, con el objeto de complementar el trabajo que ya venía desarrollando el *Instituto de Salud Carlos III*, de anterior creación.

Antes de continuar en el desarrollo de los puntos expuestos en la ley, resulta necesario hacer un breve comentario sobre el uso del término *preembrión*. Un concepto que, a pesar de carecer de fundamentación científica alguna (243), ha logrado permanecer en el cuerpo normativo español desde 1988 hasta el día de hoy (286). La Ley 14/2007 no ha sido la excepción, incluyéndolo como parte de su estructura. Precisamente, en el Artículo 1º, sobre el objeto y campo de aplicación, se menciona que uno de los campos de aplicación es la donación y utilización de células provenientes de *preembriones*, embriones, fetos y seres humanos adultos con fines de investigación biomédica y posibles aplicaciones clínicas. En el Artículo 3º, entre las diversas definiciones desarrolladas resultan de interés cuatro: (i) *embrión*, fase de desarrollo embrionario que comprende desde el momento en el que el ovocito fecundado se encuentra en el útero de una mujer hasta que se produce el inicio de la organogénesis, y que finaliza a los 56 días a partir del momento de la fecundación; (ii) *feto*, embrión con apariencia humana y con sus órganos formados, que va madurando desde los 57 días a partir del momento de la fecundación; (iii) *preembrión*, el embrión constituido *in Vitro* formado por el grupo de células resultante de la división progresiva del ovocito desde que es fecundado hasta los 14 días de su desarrollo; y (iv) *sujeto fuente*, individuo vivo, cualquiera que sea su estado de salud, o fallecido, del que proviene la muestra biológica. Del texto se puede deducir por tanto que el *preembrión* es definido por la misma ley como un tipo de *embrión*, distinto al segundo en razón a la ubicación y tiempo de desarrollo pero semejante en función de los demás criterios. El asunto resulta ambiguo y ha sido objeto de muchas polémicas y debates (287-289). En todo caso, y partiendo del hecho que embrión y feto son individuos de la especie humana, se deduce que el *preembrión* comparta igual característica. En cuyo caso, *preembrión*, embrión y feto bien podrían ser considerados, en tanto individuos, potenciales *sujetos fuente* de células, y si procede, tejidos. Una deducción lógica que el resto del cuerpo normativo de la Ley no sólo parece no compartir sino que además contradice.

El título tercero y cuarto *sobre la donación y el uso de embriones y fetos humanos, de sus células, tejidos u órganos, y sobre la obtención y uso de células y tejidos de origen embrionario y de otras células semejantes* respectivamente, resultan de particular importancia para el objeto de este estudio. Allí, en el artículo 28º, sobre la donación de embriones y fetos, se establece que sólo se podrán utilizar embriones humanos que hubieran perdido su capacidad de desarrollo biológico, del mismo modo se prohíbe el aborto con el fin de procurar una donación de embriones o fetos para su posterior uso, también se exige que en el caso de fetos

expulsados temprana y espontáneamente primen acciones que busquen el sostenimiento de su viabilidad biológica con el único fin de favorecer su desarrollo y autonomía vital. En el artículo 29º se establece una serie de requisitos relativos a la donación: (i) que el donante de los embriones o fetos hayan otorgado previamente un consentimiento expreso y escrito, (ii) que el donante, donantes, o representantes legales (para el caso de menores de edad o personas con incapacidad mental), hayan sido informados de los fines de dicha donación, (iii) que el aborto, espontáneo o no, de los embriones o fetos ya haya ocurrido y que no haya sido posible mantener la autonomía vital de los mismos, y (iv) que en la donación no intervengan intereses lucrativos o comerciales. En el artículo 32º, sobre la utilización de ovocitos y preembriones, se estipula igualmente que el consentimiento lo deben dar los progenitores o los representantes legales de estos. En relación a la donación, el texto de la Ley remite a la Ley 14/2006, sobre técnicas de reproducción asistida. Finalmente, el artículo 33º prohíbe la constitución de preembriones y embriones humanos con fines de investigación. De lo estipulado en estos tres artículos se desprende que para los efectos de la ley quien figura como donante nunca es el embrión o feto sino uno o ambos progenitores. Ello supone que la ley abre la situación jurídica en la cual el sujeto fuente y el donante no se identifiquen con el mismo individuo. Los últimos artículos que componen estos dos títulos se orientan a la creación de la *Comisión de Garantías para la Donación y Utilización de Células y Tejidos Humanos* (Artículos 37º al 39º), y la distribución de competencias del *Instituto de Salud Carlos III* (Artículo 40º y 41º), y del *Banco Nacional de Líneas Celulares* (Artículo 42º).

La obtención de *muestras biológicas*, entiéndase por esto *cualquier material biológico de origen humano susceptible de conservación y que pueda albergar información sobre la dotación genética característica de una persona* (Artículo 3º), con fines de investigación biomédica se trata en el artículo 58º y dentro del título quinto. Allí se afirma que éstas sólo podrán obtenerse previo consentimiento escrito del *sujeto fuente* y previa información de las consecuencias y riesgos que pueda suponer tal obtención para su salud. El problema viene en la interpretación del texto a la luz de lo antes expuesto: cuando el sujeto fuente y el donante no coinciden con el mismo individuo, adquiriendo un carácter aún más delicado en situaciones en las que la obtención suponga la muerte de dicho sujeto, como puede ocurrir en el caso de células de origen embrionario o fetal. Parece que la ley se adelanta a este supuesto y concluye el texto del artículo diciendo que tal consentimiento podría obviarse de forma excepcional en el caso que su obtención no fuera posible o que suponga un esfuerzo no razonable. Esta

situación deja en una situación muy precaria los derechos de los *sujetos fuentes* frente a la ley. Algo que se confirma en el texto del artículo 70º, sobre *los derechos de los sujetos fuente*, donde la norma dispone que la obtención del consentimiento y uso de las muestras biológicas se rija por lo expuesto en el artículo 58º y siguiente, antes citado. En el mismo artículo, en el apartado 2, termina diciendo que el uso de muestras biológicas en investigaciones biomédicas dependerá del consentimiento previo del sujeto fuente o, en su caso, de sus representantes legales. Deja sin aclarar el texto si la representación legal, para el caso expuesto, equivale al progenitor o donante.

Por último, el título séptimo se dedica a la creación del *Comité de Bioética de España* (Artículos 77º al 81º), mientras que el octavo aborda diversos aspectos asociados a la promoción y coordinación de la investigación biomédica dentro del Sistema Nacional de Salud (Artículos 82º al 90º). El uso terapéutico de los materiales biológicos descritos en la ley siguen, según la disposición adicional primera, los mismos lineamientos estipulados en la Ley 30/1979 sobre trasplante de órganos; y la Ley 14/2006 sobre técnicas de reproducción asistida, en los temas que les son propios. Esta ley ha entrado en vigor en el 2007 y sigue en plena vigencia al día de hoy.

# V. Discusión y valoración bioética

---

## 1. Del conocimiento científico a la valoración bioética

### 1.1. Limitaciones del método científico

Partiendo del hecho de que toda ciencia tiene por objeto de estudio la búsqueda de la verdad en su ámbito concreto de desarrollo, se deduce que una ciencia interdisciplinar, que por definición integra diversos órdenes de conocimiento, tendrá por objeto de estudio la búsqueda de una verdad más completa respecto de aquellas ciencias de las cuales se alimenta. Hacerlo supone, para el caso de esta ciencia, el uso de un método de estudio capaz de lograr una síntesis superior de las vías de conocimiento utilizadas por las demás disciplinas. Para el caso de la bioética, una ciencia que por definición es interdisciplinar (290), esta exigencia se traduce en el desarrollo de un modelo capaz de armonizar las dos principales vías de conocimiento, la inductiva y la deductiva, en un método de alcance superior. Elio Sgreccia, uno de los principales promotores del desarrollo de un método bioético, propone un modelo capaz de responder a esta doble exigencia, el cual ha bautizado con el nombre de método triangular (291). El método consiste en el estudio secuencial de tres elementos: los hechos biológicos, el significado antropológico, y el juicio ético propiamente dicho. De ahí, que en el análisis bioético de las terapias neuroregenerativas basadas en el uso de células madre, objeto de este estudio, se haya optado por hacer una amplia revisión del conocimiento biológico en materia

de células madre y del papel que éstas cumplen en la neurogénesis humana, a fin de poder comprender el panorama real que se derivaría de su uso dentro de futuras terapias neuroregenerativas. Sobre la base de tal conocimiento se han descrito los posibles escenarios biomédicos con sus respectivos significados antropológicos, éticos y legales.

Los avances en el campo de la investigación científica con células madre, así como el desarrollo de sus posibles aplicaciones en el campo de la medicina regenerativa, son un claro ejemplo de la total vigencia y validez del método científico como vía de conocimiento. No obstante, el bien conocido itinerario de este método presenta limitaciones que invalidan su uso en realidades distintas del ámbito experimental. En el caso concreto de la axiología que acompaña la investigación científica, la aplicación del método científico forma parte de la pregunta ética pero no de la respuesta. Por ejemplo, el problema ético asociado al estudio con células madre de origen embrionario no se resuelve por la certeza o reproducibilidad de los resultados ni por la potencial aplicación clínica de los mismos, sino por la certeza en saber si el embrión del cual se pretende obtener dichas células posee o no un estatuto antropológico, moral y personal. Desde el método científico se pueden dar elementos que faciliten tal respuesta mas no la respuesta en sí misma, razón por la cual la bioética ha de complementar el conocimiento experimental con otros de orden ontológico y axiológico. Karl Jaspers, científico y filósofo, intuyó esta necesidad al reconocer la incapacidad de la ciencia experimental en desentrañar los aspectos cualitativos de la realidad (292). Por tanto, es tarea de la bioética ofrecer la orientación axiológica por la cual la ciencia puede encaminar adecuadamente su ejercicio.

## **1.2. Meta-bioética y bioéticas cognitivista y no cognitivista**

El cómo la bioética alcanza este objetivo no sólo pasa por una dialéctica sistemática entre ciencia y ética sino también por la aplicación de ciertos principios éticos que se derivan de una reflexión antropológico-filosófica previa. Sin embargo, el actual desarrollo de corrientes bioéticas basadas en aproximaciones antropológicas distintas puede conducir, como de hecho viene ocurriendo, a la formulación de juicios antagónicos fundados en principios bioéticos irreconciliables entre sí (293). Este hecho, advertido desde los inicios de la bioética (294), llevó en un primer momento al desarrollo de una *bioética principialista*, hoy aún vigente, según la cual se buscaba un mínimo común denominador ético fundado en la aplicación de cuatro principios básicos: respeto de la autonomía y el ejercicio de la beneficencia, la no maleficencia,

y la justicia (295). No obstante, la opción por un minimalismo ético de consenso ha encontrado importantes objeciones ante la evidencia que supone la existencia de equívocos interpretativos de sus principios en función de la corriente desde la cual se tomen y que ha llevado a que algunos autores sugieran la obsolescencia de este modelo (296). Surge, por lo tanto, la necesidad de comprobar la validez o no de los diversos criterios bioéticos puestos en juego a fin de evitar que la bioética se transforme en una especie de “cajón de sastre” bajo el argumento de una mal entendida tolerancia ética. Sgreccia (213) propone el desarrollo de una *meta-bioética*. Esto es, un sistema conceptual que, siguiendo un análisis racional, permita discernir los valores, principios y normas bioéticas correctas en función de la fundamentación epistemológica que los acompaña.

A partir de la meta-bioética, Sgreccia divide las distintas corrientes bioéticas en dos grupos: una bioética cognitivista y una no cognitivista. La primera se caracteriza por considerar que ciertas verdades en torno al conocimiento del hombre y a la valoración de la conducta humana pueden ser alcanzables, de modo que tales verdades puedan ser enunciadas en calidad de principios generales. Una bioética de este tipo se construye sobre la base de que todas las ciencias encuentran un elemento unificador en la búsqueda común de la verdad. Por el contrario, una bioética no cognitivista parte del supuesto de que los valores no pueden ser objeto de conocimiento; en consecuencia, sus enunciados no pueden calificarse como verdaderos o falsos. Según esta óptica sólo serían verdaderos aquellos enunciados capaces de estar asociados a un método que permita su verificación (297). Por lo tanto, serían verdaderos sólo los enunciados descriptivos mas no aquellos de carácter normativo o axiológico, dada la incapacidad de su demostración experimental (298). Según este modelo bioético la única posibilidad de validar un postulado de carácter axiológico sólo es posible a través del consenso.

Una revisión más detallada de las premisas que sostienen el modelo no cognitivista ponen en evidencia dos órdenes de objeciones de gran importancia y que no son del todo superadas. La primera se resume en el hecho bien conocido de que, para la ciencia experimental, la confirmación de un procedimiento no necesariamente conlleva a la veracidad de un postulado. Así, infinidad de confirmaciones experimentales de una teoría no la convierten necesariamente en cierta; por el contrario, una sola excepción la hace falsa. Por lo tanto, no se puede afirmar que la verificación –incluso en el campo experimental– sea condición *sine qua*

*non* para la determinación de una verdad. La segunda deriva del olvido metodológico, por parte de éste modelo bioético, del sentido teleológico que subyace en toda realidad materia de análisis. Por ejemplo, frente a la constatación biológica de la existencia de las células madre, la teleología plantea la pregunta por el sentido de tal existencia. La respuesta, aportada en este caso por la propia biología, es la renovación celular necesaria para el sostenimiento vital de un ser vivo. En consecuencia, el uso de tales células si bien puede ayudar en el sostenimiento vital de un ser vivo también puede suponer el detrimento vital de aquel del cual se obtengan. De hecho, dependiendo de la cantidad y del tipo de células que éstas sean, su extracción podría conducir a la muerte del donante. Lo cual no niega que tal procedimiento no sea experimentalmente posible y verificable. Es el sentido teleológico el que brinda un valor a las cosas en función del orden natural que éstas cumplen. En tal sentido, la teleología brinda un elemento vinculante entre hecho y valor, dando la perspectiva de visión necesaria para hacer una valoración objetiva sobre la conducta humana orientada a la realización de actos verificables y los valores morales que, por su ejercicio, son puestos en juego. Sin esta consideración, el discurso ético corre el riesgo de caer en algún tipo de reduccionismo de tipo biologicista o relativista.

### **1.3. Principios bioéticos**

Ambos modelos, el cognitivista y el no cognitivista, plantean una serie de principios necesarios para cualquier valoración bioética. En el primer caso estos principios surgen de la búsqueda racional de elementos vinculantes entre la dimensión experimental y la antropológico-axiológica. La escuela que mejor recoge este modelo es la bioética fundada en el personalismo ontológico (213, 299). En el segundo caso los principios surgen de la búsqueda intuitiva de un consenso. En este modelo se mueve un amplio espectro de corrientes, no obstante, la primera y de mayor importancia en razón a su más amplia difusión es la antes citada bioética de los principios o principialismo (295).

#### **1.3.1 Según el personalismo ontológico**

Desde el personalismo ontológico se proponen cuatro principios en el siguiente orden jerárquico: el principio de la defensa de la vida física, el principio de libertad y responsabilidad, el principio de totalidad o principio terapéutico, y el principio de sociabilidad y subsidiariedad

(213). La razón de esta estructura responde a la relación causal existente entre cada uno de ellos: la vida, y más concretamente, la vida física asociada a la existencia corporal de un ser humano es el sustrato sin el cual no pueden existir ninguna de las condiciones que le son innatas, tales como la libertad, el pensamiento, la voluntad, la conciencia o la responsabilidad. En consecuencia ésta es la primera y más importante y a partir de la cual se desprenden todas las demás.

### 1.3.2 Según el principialismo

El principialismo, de origen norteamericano, también establece un modelo estructurado sobre la base de cuatro principios: principio de respeto de la autonomía, principio de beneficencia, principio de no maleficencia y principio de justicia, pero sin establecer un orden jerárquico entre cada uno de ellos (295). Este hecho ha conducido a que en muchas ocasiones estos principios puedan ser interpretados en sentidos equívocos y a que puedan superponerse en el momento de aplicarlos en situaciones concretas, dependiendo de la corriente antropológica desde la cual se les enfoque, razón por la cual han sido materia de ciertas críticas (300).

Ordinariamente estos principios han sido asumidos como distintos e independientes de los desarrollados desde la bioética personalista. En su origen, sin embargo, los principios que luego sirvieron de base para la construcción del principialismo fueron formulados siguiendo un hilo conductual similar al establecido por los principios desarrollados desde la bioética personalista. Así lo demuestra el Informe Belmont, el referente bioético más antiguo en hacer una primera enumeración organizada de ellos. Como se recordará, en dicho informe se recogieron los principios éticos y las pautas de acción relativas a la experimentación con seres humanos (271). Los principios allí expuestos fueron la base sobre la cual se construyó el principialismo tal como hoy es conocido. Dichos principios fueron expuestos de la siguiente forma: el *principio de respeto a las personas*, el cual se traducía en la obligación de respetar la autonomía individual de las personas, la obligación expresa de salvaguardar dicha autonomía en personas con algún tipo de incapacidad, y en la responsabilidad de no actuar sin un consentimiento previo, libre e informado; el principio de beneficencia, expresado en la búsqueda del bien dentro de cualquier intervención experimental sobre un ser humano, siempre acompañada de una previa valoración de riesgos y beneficios y que complementaba el aceptado *principio de no maleficencia*; y el *principio de justicia*, manifestado en el reparto

equitativo de las cargas y los riesgos derivados de la experimentación. Desde una óptica minimalista se buscó estructurar estos principios en la actual formulación principialista en la que pudieran coincidir todas las teorías bioéticas, incluso aquellas que fueran antagónicas entre sí. Sin embargo, la ausencia de un orden jerárquico en el nuevo mínimo común denominador ético puede derivar, como de hecho ha venido ocurriendo, en la superposición de unos principios sobre otros. Algo que se ha hecho particularmente evidente en la valoración que la autonomía ha merecido por parte de algunos autores como Gracia (301) o Engelhardt (302). A pesar de ello, la sencillez metodológica del principialismo ha sido lo suficientemente fuerte como para mantener su vigencia en el debate bioético actual a pesar de las críticas y objeciones (296). No cabe duda que esta situación se asocia de manera directa con la ausencia de una necesaria fundamentación ontológica y antropológica que permitan una jerarquización que conduzca a una unificación de significados, pero hacerlo supondría violar la premisa no cognitivista sobre la cual se sustentan. No obstante, de hacerlo, estos principios encontrarían numerosos elementos comunes con los establecidos desde la bioética personalista. Por otra parte, una lectura de estos principios siguiendo una conexión jerárquica, ontológicamente fundada, derivaría en la prevalencia del principio de beneficencia sobre el principio de autonomía y justicia (303).

## **2. Valoración bioética y legal**

Hecha una breve revisión de los fundamentos epistemológicos e históricos que definen los principios bioéticos hoy vigentes, corresponde hacer uso de ellos en el análisis valorativo de las terapias neuroregenerativas basadas en el uso de células madre que es materia de este apartado. Al análisis bioético, enfocado desde los principios establecidos por el personalismo y el principialismo, se añade el análisis desde dos principios secundarios heredados desde la ética tradicional y que hoy resultan totalmente vigentes en el tratamiento bioético de situaciones especiales. Finalmente, se recogen dos últimos principios legales como parte del análisis biojurídico de dichas terapias.

## **2.1. Valoración desde el personalismo ontológico**

### **2.1.1 El principio de defensa de la vida física**

Este principio deriva del reconocimiento de la estructura corporal del ser humano como un valor fundamental de la persona misma (231). Sin cuerpo, la persona humana es incapaz de existir y por ende, incapaz de manifestar forma alguna de singularización que la particularice. Todas las condiciones propias de la naturaleza humana, desde las más simples hasta las más complejas, derivan y dependen de la existencia de una vida individual expresada físicamente a través de una estructura corporal. Y sin vida humana no hay posibilidad de entendimiento, conciencia o libertad, valores jerárquicamente subordinados a ella.

Según este principio serían legítimas aquellas terapias neuroregenerativas que no estuvieran asociadas a un daño irreparable a la integridad corporal tanto del paciente como del donante. A nivel del donante, resultarían inviables aquellas terapias cuya fuente de obtención fueran embriones y fetos humanos vivos, para los que la extracción de células madre les acarrearía la muerte (304). Lo mismo se podría aplicar en el caso de fetos humanos muertos, si se comprueba la existencia de una asociación causal entre dicha extracción y el procedimiento abortivo a partir del cual estos fetos han sido obtenidos. No sería el caso de células madre obtenidas a partir del propio paciente, de otro paciente (siempre que la donación no plantee un conflicto frente a este principio), o aquellas que son extraídas de un donante cadavérico. Visto desde la óptica del paciente, serían viables aquellos tratamientos que no supongan un peligro desproporcionado para la vida del paciente y que acarreen un daño tal que suponga un riesgo grave para su futuro sostenimiento vital. Según dicho criterio, sólo serían aptas aquellas células que fueran no sólo histocompatibles sino además biológicamente inocuas. Quedarían fuera de este grupo, o por lo menos requerirían una exhaustiva evaluación previa, aquellas células con capacidad potencialmente carcinogénica, como las ECCs, las ESCs o ciertos tipos de iPS obtenidas a partir de transfección vírica. Por el contrario, serían materia de uso potencial las células madre de origen fetal (siempre que se cumpla la observación anteriormente expuesta), las de origen umbilical, y las de origen adulto.

### **2.1.2 El principio de libertad y responsabilidad**

La bioética personalista reconoce en la libertad un valor innato del ser humano, expresión natural de su razón y voluntad. No obstante, dicho reconocimiento va acompañado por la responsabilidad de velar por el respeto y protección de la vida propia y ajena. El argumento sobre el que descansa esta condición deriva de una relación causal según la cual sin vida no hay libertad (305). Este punto resulta fundamental y distintivo respecto de otros modelos bioéticos en los que prevalece una exaltación a la libertad en tanto capacidad en acto de acción y elección, ajena a la vida o incluso contrapuesta a ella (306).

Este principio plantea una obligación directa en el investigador que trabaja con células madre. El respeto y protección del embrión y feto en razón a su especial condición biológica. La ciencia, como se ha visto a lo largo de este estudio, permite demostrar de manera sólida y contundente que en ambos casos se trata de vidas humanas individuales de igual valor a la de cualquier otro ser humano, y que por tanto han de ser respetadas y protegidas. Este principio obligaría por tanto al rechazo de cualquier investigación que entrañe la destrucción de embriones o fetos humanos aunque sea como medio para tratar un trastorno que afecte la vida de otro ser humano. El principio de libertad y responsabilidad también obliga al médico e investigador al desarrollo de terapias seguras y que no estén asociadas a potenciales daños que afecten aún más la mermada salud del paciente. El estudio de la neurogénesis humana evidencia el delicado mecanismo de comunicación celular y molecular existente en el cuerpo humano. Por lo tanto, antes de proceder a cualquier procedimiento médico se debe partir de la valoración sobre el tipo de trastorno que se quiere tratar (puesto que como se ha visto no todos son iguales y afectan a distintos tipos de células y tejidos), las consecuencias derivadas de la inoculación de determinado tipo de células o señales moleculares, y la posibilidad honesta de alcanzar un beneficio real a partir de dicho tratamiento.

### **2.1.3 El principio de totalidad o principio terapéutico**

Se trata de uno de los principios básicos de la ética médica, el cual se fundamenta en el reconocimiento de la estructura corporal del ser humano como un todo unitario, individual y distinto. De la asociación entre el principio de defensa de la vida y este principio se derivan cuatro condiciones necesarias para la legitimidad de su aplicación: (i) que se trate de una

acción sobre la parte enferma o la que es causa directa del mal sobre el resto del cuerpo; (ii) que no existan otras maneras y medios que permitan evitar el deterioro derivado del daño o enfermedad; (iii) que haya una buena posibilidad, proporcionalmente superior al daño producido, de éxito; y (iv) que se dé el consentimiento libre e informado del paciente (213).

En todos los casos, se sobreentiende que lo que está en juego no es la vida. Aunque sí puede serlo la integridad física del sujeto, la cual se reconoce como un bien muy importante e inscrito en la propia corporeidad. La integridad física, como un valor personal, sólo puede ser puesto en peligro si como consecuencia de ello se protege la vida total, bien superior al que está vinculado y del cual depende.

Conviene ver este principio en cada una de las fuentes celulares: En el caso de células madre de origen embrionario no se cumple ninguna de las condiciones establecidas puesto que la extracción no supone beneficio alguno, existen medios alternativos ampliamente descritos y en actual uso experimental y clínico (es el caso de las células madre del cordón umbilical y ciertos tipos de células madre adultas), no plantea ningún tipo de éxito para la vida del propio embrión el cual además está desprovisto en muchos casos de cualquier tipo de protección legal (como, por ejemplo, se puede ver que sucede en el ordenamiento jurídico español). En el caso de las células madre de origen fetal se aplica la misma consideración a la expuesta en el caso de las células madre embrionarias. Por el contrario, en el caso de las células obtenidas del cordón umbilical este principio no ofrece ningún tipo de objeción dado el carácter particular que tiene este tejido y que fue desarrollado en su debido momento. Sin embargo, para el caso de células madre obtenidas a partir de sujetos adultos, estos criterios resultan totalmente vigentes al momento de evaluar la condición clínica tanto del donante como del paciente junto con los posibles daños colaterales derivados de tal intervención a fin de poder valorar si tales intervenciones se justifican. En estos casos los principios secundarios, posteriormente analizados, resultan de gran ayuda. Las células inducidas merecen un tratamiento especial en relación a este principio. Como ya se dijo, no todas las células inducidas son idénticas y el desarrollo de procedimientos más seguros para su obtención y desdiferenciación son condiciones necesarias para que ellas puedan cumplir con las condiciones que se derivan de este principio y por ende puedan superar las principales objeciones éticas que se derivan de su potencial malignidad.

#### 2.1.4 El principio de sociabilidad y subsidiariedad

Este principio hace referencia a la socialización de la práctica biomédica. El principio de sociabilidad compromete a todas y cada una de las personas a participar activamente en la búsqueda del bien de sus semejantes. Por tanto se puede formular como la promoción social de la vida y de la salud en la que cada uno se compromete en considerar su vida, y la de los demás, como un bien no sólo personal sino también social (303). Es el principio que, por definición, sustenta la donación y el trasplante de órganos, tejidos y células; la constitución de bancos biológicos y la promoción a un mayor acceso social a tales servicios. El principio de subsidiariedad es el rostro imperativo de este principio, el cual obliga a la comunidad al desarrollo de políticas orientadas a facilitar un mayor acceso a tales servicios, en especial, entre los que más lo necesitan (307).

Este principio, derivado del reconocimiento natural de la vida física como bien superior a todos los demás, se formula en total oposición a modelos bioéticos utilitaristas (308) y contractualistas (309) que consideran que las políticas sanitarias deben estar enfocadas desde una óptica de costes/beneficios, según la cual se debe favorecer políticas sanitarias encaminadas a la atención de los sujetos económicamente más activos en vez de a los sujetos más gravemente enfermos, y por ende, con menor productividad económica dentro de la sociedad.

El principio de sociabilidad obliga a la búsqueda del bien, la promoción de la vida y la salud. Como ocurre con los demás principios, anteriormente expuestos, supone una objeción insalvable para las terapias derivadas del uso de células embrionarias y fetales puesto que éstas suponen la destrucción de embriones y fetos. El principio de subsidiariedad, en sentido complementario al anterior, obliga al cuidado y protección de estos seres humanos en condiciones de mayor precariedad a fin de evitar su instrumentalización y cosificación en beneficio de terceros. Penosamente, el panorama legal internacional, europeo y español demuestran que este tipo de valoraciones poca o ninguna atención han merecido en el tratamiento discriminatorio que en ellos se hace a los seres humanos en las etapas tempranas del desarrollo. Se olvida por ejemplo, que la *patria potestad* o la representación legal, a la cual a veces se alega, está –por definición– para garantizar la búsqueda del bienestar del individuo y no para la legalización de procedimientos éticamente malos como es la destrucción de seres humanos con el fin de poder obtener sus células y tejidos.

## **2.2 Valoración desde el principialismo**

### **2.2.1 El principio de respeto a la autonomía**

Este principio es considerado, dentro de la bioética no cognitivista actual, como el básico y más importante en tanto que por él se fundamenta el legítimo ejercicio de la autodeterminación individual (310). Resulta ilustrativo el análisis desarrollado por Gracia en relación a la evolución que este término ha seguido hasta ser finalmente introducido en el discurso bioético actual (311). Según Gracia, la autonomía ha adquirido un sentido polisémico, cuyo uso actual poco tiene que ver con su aplicación original en el ámbito político de la Grecia Antigua. La autonomía de uso en la bioética no cognitivista deriva de la psicología moral desarrollada por Lawrence Kohlberg e influenciada por el pensamiento de Rousseau, y la ética de Hume, Smith, Short Mell y Gregory. Según esta óptica, la autonomía surge en oposición al paternalismo médico definiéndose como la capacidad de cada hombre para construir sus propias normas morales al margen de cualquier referente externo (312). Kohlberg apuesta por una moral según la cual cada individuo es capaz de reconocer de manera natural una serie de valores comunes tales como la justicia, la igualdad y el respeto (313). No obstante, la misma realidad terapéutica sobre la cual esta autonomía ha pretendido ser aplicada ha sido la principal fuente de sus críticas más agudas (314).

En el plano de las políticas vigentes en investigación con células madre, la autonomía es un valor que, entre las escuelas bioéticas no cognitivistas más extremas, adquiere especial relevancia para justificar el uso de cualquier tipo de células madre. Se hace uso de la autonomía como justificación ética para: promover la investigación con cualquier tipo de células (autonomía del investigador y de la ciencia); exigir el uso y acceso a dichas células (autonomía del paciente para poder hacer uso de cualquier medio, incluido el uso de embriones y fetos, para alcanzar un bien que por derecho le corresponde); y olvidar determinado tipo de obligaciones (como es el respeto por la vida e integridad de los embriones y fetos).

### 2.2.2 El principio de beneficencia

Siempre enfocado desde una óptica no cognitivista el principio de beneficencia se explica como la obligación, por parte del médico o investigador, a procurar el bien. En tal sentido, responde al fin primario de las ciencias biomédicas. Desde un enfoque ontológico, este principio obligaría a la promoción del bien del paciente y de la sociedad y por tanto, en situaciones especiales, podría estar por encima del principio de autonomía (213). Sin embargo, desde una perspectiva ausente de un fundamento antropológico que lo sustente, este principio puede convertirse en el principal argumento detrás de un paternalismo profesional ajeno a la voluntad del paciente y que ha sido fuente de innumerables abusos y críticas (310).

En el marco de una bioética no cognitivista de tipo utilitarista o contractualista aplicada al desarrollo de las terapias neuroregenerativas, el principio de beneficencia podría justificar el uso de cualquier tipo de célula madre – sea esta embrionaria, fetal, umbilical, adulta o inducida – siempre que en el procedimiento biomédico se procurase mejorar la salud del paciente. Desde estas ópticas, el embrión y el feto, e incluso ciertos seres humanos, están desprovistos de un estatuto antropológico que los proteja; en consecuencia, adquieren un valor inferior al de personas.

### 2.2.3 El principio de no maleficencia

El principio de no maleficencia deriva de la sentencia hipocrática *primum non nocere* de amplia tradición médica. Este principio obliga al profesional sanitario y científico a una actuación que siempre evite el mal del paciente o individuo sobre quien se proceda a nivel clínico o experimental. Muchas veces este principio resulta de difícil cumplimiento, en especial cuando se trata de tratamientos experimentales o terapéuticos que conlleven de por sí un daño en el sujeto en quien se aplique. Por ello, su evaluación siempre debe ir acompañada de la valoración de los riesgos y beneficios en la salud del mismo paciente. Años atrás esta valoración se realizaba según la categorización de los medios ordinarios y extraordinarios (315). Sin embargo, el notable desarrollo técnico en el campo médico introducía una dificultad al momento de establecer un límite práctico entre uno y otro. Este hecho condujo a la reciente adopción de la proporcionalidad y la desproporcionalidad como nuevos criterios de juicio. A diferencia de lo que ocurre con los criterios anteriores, la proporcionalidad establece un marco

de referencia directo con la salud y el bienestar del paciente antes que con la capacidad de operación terapéutica o experimental por parte del médico o investigador (316).

Aunque el principio de no maleficencia puede suponer una limitación a la experimentación con embriones y fetos, en la lógica no cognitivista también puede suponer un manera de *impedir el daño que puede derivarse* de no usar cualquier tipo de recurso potencialmente útil para el paciente. En cuyo caso se puede formular como una herramienta más que justificara la derogación de cualquier tipo de moratoria contra el uso de embriones y fetos dentro de la investigación científica, situación que de hecho actualmente viene ocurriendo.

#### **2.2.4 El principio de justicia**

Este principio se refiere a la obligación de equidad en el acceso a los tratamientos y, respecto del Estado, en la equitativa distribución de recursos para prestar los servicios de salud e investigación (317). Sin embargo, la igualdad a la que hace referencia el principio de justicia, al estar desprovista de un único fundamento antropológico, puede presentar múltiples significados que no siempre están en adecuada sintonía con la misma dignidad humana (318).

El principio de justicia, estrechamente asociado al de igualdad e interpretado desde una visión polisémica de la libertad puede derivar, del mismo modo, en múltiples y contradictorias aplicaciones. Así, por ejemplo, desde la óptica de una bioética no cognitivista extrema, el principio de justicia también puede ser utilizado como instrumento que valide la igualdad de oportunidades de aquellos científicos que consideren igualmente legítimo el desarrollo de estudios con células adultas que el desarrollo de líneas de investigación con células embrionarias o de otro tipo (225).

### **2.3 Valoración desde los principios secundarios**

#### **2.3.1 El principio del *mal menor***

En la tradición filosófica clásica se conciben diversos grados de bien. En la cúspide están los bienes morales o espirituales, en un orden inferior están los bienes físicos o materiales. Cuando se está ante una situación en la que ambos órdenes de bienes se encuentran

enfrentados, el principio del mal menor dicta que se ha de actuar buscando el bien más alto, o dicho en sentido negativo, en estos casos se consiente la búsqueda del mal menor (319). Como se ve, el principio se entiende en la lógica de una jerarquía de valores, lo que lo encuadra en íntima asociación con una bioética de inspiración cognitivista. En el modelo no cognitivista, el principio del mal menor puede encontrar un espacio de acción en el ámbito de los males físicos y siempre que en su aplicación se reconozca al sentido común como principal criterio de discernimiento. Así, ante la eventualidad de tener que elegir entre dos males físicos, uno mayor y otro menor, el principio llevaría a legitimar la elección por el mal físico menor tanto si concierne a los demás como a uno mismo (213). Sin embargo, desprovisto de una jerarquía axiológica y ontológica, propia de una ética cognitivista, el principio pierde rigurosidad.

Desde una ética cognitivista, el principio del mal menor se ofrece como una herramienta útil al momento de valorar la pertinencia o no del uso de ciertos tipos de células madre dentro de las terapias neuroregenerativas. Según este principio serían ilícitos aquellos procedimientos que comprometan la vida del donante (como ocurre en el caso de células obtenidas a partir de embriones y fetos), por el contrario serían lícitos aquellos procedimientos que no lo hicieran (es el caso de células madre adultas obtenidas a partir del propio paciente o de otro sujeto).

Desde una ética no cognitivista, un mal uso del principio del mal menor puede llegar al absurdo de contraponer dos bienes morales de igual valor. Ello ocurre, por ejemplo, cuando se pretende legitimar el uso de células madre de origen embrionario o fetal bajo el pretexto de que la vida de un embrión o de un feto son de menor calidad respecto a la de un ser humano adulto debido al diferente grado de racionalidad, afectividad, productividad, o sociabilización que dentro de la sociedad ambos desarrollan. En consecuencia, si bien se acepta que la muerte de alguno de ellos es un mal en sí mismo, se reconoce igualmente que es un mal menor respecto a aquel que puede derivarse de la muerte de un sujeto adulto. Una óptica de este tipo no resulta totalmente antagónica respecto a una que reconoce la defensa de la vida física como un bien principal por encima de todos los principios éticos, sino que además cae en la miopía de no reconocer los irrefutables datos biológicos y antropológicos que demuestran que en ambos casos, adulto y embrión, se tratan de vidas humanas de igual valor.

### 2.3.2 El principio del *doble efecto*

El principio del doble efecto hace referencia a las consecuencias negativas, no deseadas, derivadas de una acción buena y necesaria. Según este principio sería lícita, por tanto, una acción u omisión deliberada, a pesar de que conlleve un efecto negativo, siempre que: (i) la intención del agente esté informada por la finalidad positiva; (ii) que el efecto director de la intervención (o no intervención) sea positivo; (iii) que el efecto positivo sea proporcionalmente superior o al menos equivalente al efecto negativo; y (iv) que la intervención no tenga otras alternativas semejantes y exentas de efectos negativos (320). Como se puede constatar, estas orientaciones parten del presupuesto de que el mal no puede ser nunca el objeto de una elección directa y que el fin bueno no puede ser alcanzado a través de acciones malas (213).

A diferencia del principio anterior, no resulta adecuado aplicar el principio del doble efecto a la extracción de células sino al tratamiento propiamente dicho, esto es, el trasplante de células madre. La razón de esta distinción se encuentra en su misma formulación: *el principio se aplica a las consecuencias negativas derivadas de una acción buena y necesaria*. Una extracción de células enmarcada en una donación éticamente lícita es una acción moralmente buena pero no necesaria para la vida del donante, salvo en el caso de un autotrasplante. Pero incluso en un autotrasplante el principio del doble efecto se remite a valorar la licitud en función del grado de inocuidad en el uso de las células pero sin que influya la fuente de donde éstas fueron previamente obtenidas. Por lo tanto, se desprende que el principio del doble efecto no puede ser utilizado como el único, ni el más importante, criterio de valoración al momento de hacer un análisis bioético de las terapias neuroregenerativas.

Hecha la aclaración, el principio de doble efecto resulta útil en el momento de valorar la idoneidad en el uso de un tipo de células sobre otras. Así, según este principio sería inviable el trasplante de células potencialmente nocivas o con pobres posibilidades de efectividad. Igualmente sería inviable el desarrollo de una terapia que no tome en consideración el tipo de trastorno al cual se trata, el estado de salud del paciente y el grado de desarrollo de la enfermedad. Según el actual estado de conocimiento experimental, quedarían fuera de toda posibilidad terapéutica las ESCs, las ECCs, y las iPSs generadas por transgénesis viral. Del mismo modo, lo serían aquellos pacientes para quienes un tratamiento de este tipo no se plantee como un imperativo necesario para vivir o para quienes existan tratamientos alternativos más seguros.

Un mal uso de este principio es su extrapolación al plano social. El principio de doble efecto, al igual que el principio del mal menor, se aplica única y exclusivamente sobre el escenario en el que está en juego la vida y salud de un ser humano concreto, nunca sobre un colectivo social. Sin embargo, algunos autores, pertenecientes a escuelas utilitaristas y contractualistas extremas, no dudan en hacer uso de él en este otro tipo de escenarios. Este hecho no sólo plantea una confusión con el principio del mal menor sino que además conduce en ambos casos a juicios totalmente errados.

## **2.4. Valoración desde los principios jurídicos**

### **2.4.1 El principio de precaución**

El principio de precaución obliga a la toma de medidas orientadas a reducir la posibilidad de generar algún tipo de daño derivado de la intervención médica o experimental que se piense desarrollar. Por definición, el principio de precaución se aplica en aquellos casos en los que se da por asumida la ausencia de evidencias científicas capaces de confirmar que una determinada intervención científica es realmente inocua (321). En consecuencia, exige la toma de acciones cautelares a fin de evitar un eventual desenlace trágico. Este hecho plantea un desafío especialmente importante en el campo experimental al exigir el uso de medidas orientadas a garantizar un estándar idóneo de bioseguridad tanto para el individuo sobre quien se aplica el tratamiento como para el investigador y la sociedad (322) pero también plantea una situación de difícil resolución y que se resume en la imposibilidad de medir el tipo de daño que se desea evitar. Por tal razón, el uso del principio de precaución sin un adecuado marco referencial puede llevar a una inercia paralizante en la que, so pretexto de posible riesgo, se descalifique o prohíba una acción que se presume potencialmente mala o nociva (323).

Superada la dificultad práctica derivada de este principio, su aplicación resulta muy útil al momento de valorar la idoneidad de una determinada línea de investigación que en su concepción puede estar arrastrando un problema de bioseguridad con serias consecuencias en la vida y salud de los pacientes. En el caso de las terapias basadas en células madre, no sería apropiado el desarrollo de terapias clínicas basadas en células potencialmente peligrosas como

es el caso de las ya citadas ESCs, ECCs, e iPSs creadas a partir de transformación genética. En cambio, resultaría adecuada la investigación en células neuroprogenitoras derivadas a partir de tejido adulto y del cordón umbilical, y las células inducidas por los últimos métodos desarrollados.

#### **2.4.2 El principio de prevención**

El principio de prevención se asocia estrechamente con el principio de precaución en tanto que se orienta a la toma de medidas que procuren garantizar una acción libre de daños. El principio, originalmente definido en el campo de la seguridad laboral y el cuidado medioambiental (324), se orienta en el campo médico y experimental a la toma de medidas preventivas frente a un riesgo bien conocido y directamente asociado al tratamiento médico o experimental a realizar. Por lo tanto, se diferencia del principio anterior en que en este caso riesgo y daño no sólo son bien conocidos sino que brindan el marco en que estos pueden ser asumidos por el investigador y principalmente por el propio paciente, razón por la cual se puede definir como dependiente del principio de doble efecto. Dado el poco margen de actuación de este principio, varios autores no lo consideran como un principio independiente sino como una manifestación del principio de precaución o de doble efecto (325). En consecuencia, para el caso de este análisis, el principio de prevención se alinearía a los criterios establecidos por los principios anteriormente desarrollados. En este caso, además, el principio se traduce en una herramienta útil para velar por el cuidado de la integridad de la vida y salud del propio paciente. En el plano de los donantes, el principio – desde una óptica cognitivista – sería claramente contrario a prácticas que supongan la destrucción de embriones o fetos.

#### **2.5. Observaciones finales**

Como se puede ver, el análisis bioético hecho a lo largo de este estudio pone en evidencia la necesidad de tener en cuenta una serie de elementos previos antes de proceder a una valoración bioética basada en principios y en evidencias *prima facie*. Dentro de estos elementos cobra especial atención un conocimiento a profundidad del hecho biomédico y de los referentes ontológicos y antropológicos que permiten una correcta jerarquización de tales principios bioéticos.

El extenso apartado dedicado a la comprensión de las bases biológicas que definen las células madre y su engranaje en la neurogénesis celular y molecular del ser humano ponen en evidencia que un análisis bioético de realidades tan complejas como las tratadas no puede prescindir ni del dato biológico, ni del análisis antropológico. Su omisión conlleva el peligro de conducir a valoraciones polisémicas de escaso rigor científico, como es el caso de las diversas interpretaciones que se desprenden de un principialismo construido sobre la base del consenso. Por el contrario, la sólida univocidad de los principios del personalismo ontológico y de la filosofía moral tradicional obedece al previo reconocimiento tanto de los factores biológicos como antropológicos.

En el campo normativo orientado al análisis de esta materia, se observa un fenómeno parecido en la emergencia de una tendencia internacional la cual puede ser resumida en la conjunción de tres condiciones: la prevalencia de los derechos de tercera generación, el minimalismo, y la flexibilidad. El primero se refiere al hecho de pasar de un cuerpo jurídico orientado al reconocimiento de la libertad individual por parte del Estado a la configuración de un cuerpo normativo en el que se busca primar el patrimonio colectivo de la humanidad. El segundo se refiere, como en el caso del principialismo, a la búsqueda de un mínimo común denominador jurídico que resulte compatible entre todos los modelos jurídicos hoy vigentes. Y el tercero orientado a resaltar el carácter de adaptabilidad de este cuerpo doctrinal a las diversas realidades en las cuales prevé su acción. La confluencia de estos tres elementos en el bioderecho internacional conduce a una doble realidad: un cuerpo normativo con mayor aceptación internacional pero con menor fuerza vinculante. Convendría preguntarse si los supuestos beneficios que de estos hechos se derivan son verdaderamente tales y no son, por el contrario, el inicio de una pendiente resbaladiza que sólo conduzca a desvirtuar el mensaje en aras de un mayor consenso.

## VI. Conclusiones

---

1. La formación del sistema nervioso, el más complejo del ser humano, tiene lugar durante el desarrollo embrionario. El proceso celular responsable de dicha formación, y en el que las células madre cumplen un papel fundamental, toma el nombre de neurogénesis. En los últimos años, diversos estudios han demostrado que una porción de estas células se mantiene activa a lo largo de la vida adulta del sujeto en dos regiones cerebrales bien definidas: la zona subventricular de los ventrículos laterales (SVZ) y la zona subgranular del hipocampo (SGZ). Desde allí, este tipo particular de células madre adultas ejercen funciones de protección y regeneración celular dentro del sistema nervioso humano.

2. Las enfermedades neurodegenerativas se deben a trastornos que escapan del control de los mecanismos de protección y regeneración celular del propio organismo. Estas enfermedades se caracterizan por una progresiva disfunción de todo el sistema pudiendo llegar a comprometer importantes funciones vitales en el sujeto que las padece. Uno de los principales objetivos de la medicina regenerativa está en hacer uso de las células madre en el tratamiento de este tipo de anomalías. Sin embargo, las múltiples posibilidades de obtención de células madre plantea la necesidad de un previo análisis sobre la idoneidad bioética de su uso.

3. El primer paso en el análisis bioético de las terapias neuroregenerativas exige una adecuada comprensión biológica de las células madre. Además de los tipos clásicos de células madre, estudios recientes en inducción celular han demostrado que la autoregeneración y la potencialidad, propiedades características de este tipo de células, pueden ser inducidas en cualquier célula mediante la acción de determinadas señales moleculares. Ello ha supuesto un replanteamiento de paradigmas y un nuevo modelo de clasificación según la fuente de obtención. Así, hoy se habla de células madre embrionarias (ESC), células madre del cordón umbilical (MSC y HSC), células madre adultas (ASC), y células madre inducidas (iPS y RiPS); cada una con sus propias características biológicas, ventajas e inconvenientes.

4. El segundo paso en el análisis bioético de las terapias neuroregenerativas es el estudio de las consecuencias antropológicas derivadas de la donación y trasplante de células. La revisión de los distintos modelos antropológicos permite concluir que los datos aportados por la biología del desarrollo son los de mayor relevancia en el momento de hacer una valoración de este tipo. Estos datos, a diferencia de los que aportan otras áreas de conocimiento, responden a condiciones intrínsecas y distintivas del ser humano. A partir de estos datos se concluye que la existencia de una corporalidad autónoma e individual del ser humano, condición *sine qua non* de un estatuto antropológico, empieza a existir a partir de la fecundación.

5. El tercer y último paso en el análisis bioético de las terapias neuroregenerativas corresponde a la valoración ética. Del análisis de los dos principales modelos existentes, el cognitivista y no cognitivista, se concluye que tal valoración desde un modelo cognitivista permite un análisis más objetivo y por ende de mayor precisión. Por otra parte, se necesita un referente antropológico capaz de jerarquizar los principales principios bioéticos a fin de evitar juicios equívocos, confusos o contradictorios.

6. En el campo legal, el análisis de la normativa internacional y nacional especialmente dedicada a este tema pone en evidencia el peligro que supone el uso de un modelo basado en el consenso y en un minimalismo normativo, ajenos a la referencia de un estatuto antropológico sólido. En la gran mayoría de los casos, esta opción ha conducido al desarrollo de normativas polisémicas, laxas o con pobre capacidad vinculante.

7. En su conjunto, del análisis bioético de las terapias neuroregenerativas basadas en el uso de células madre se concluye que las células madre adultas, las derivadas del cordón umbilical y ciertos tipos de células inducidas (RiPS) ofrecen las posibilidades más reales y seguras de aplicación terapéutica. Las demás células presentan objeciones biológicas, médicas y bioéticas de carácter insalvable que las hacen no aptas para este tipo de terapias. Estos hechos han de ser tener tenidos en cuenta al desarrollar un ordenamiento jurídico especializado en la materia.



## VII. Referencias bibliográficas

---

1. Konstantinov IE. In search of Alexander A. Maximow: The man behind the unitarian theory of hematopoiesis. *Perspectives in Biology and Medicine*. 2000;43:269-76.
2. Maximow A. Analyses con concerning blood and connective tissues. I. The early development stages of blood and connective tissue cells in the mammal embryo, to the beginning of blood formation in the liver. *Archiv Fur Mikroskopische Anatomie Und Entwicklungsgeschichte*. 1909;73:444-U28.
3. Becker A, McCulloch E, Till J. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature*. 1963;197:452-4.
4. Craig J, Turner M, Parker A. Peripheral blood stem cell transplantation. *Blood Rev*. 1992;6:59-67.
5. Altman J, Das G. Postnatal neurogenesis in the guinea-pig. *Nature*. 1967;214:1098-101.
6. ALTMAN J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science*. 1962;135:1127-8.
7. Ramón y Cajal S. *Histología del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados: estudios sobre el plan estructural y composición histológica de los centros nerviosos adicionados de consideraciones fisiológicas fundadas en los nuevos descubrimientos*. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo Consejo Superior de Investigaciones Científicas Boletín Oficial del Estado; 2007.
8. Johansson CB, Svensson M, Wallstedt L, Janson AM, Frisen J. Neural stem cells in the adult human brain. *Exp Cell Res*. 1999;253:733-6.
9. Reynolds B, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*. 1992;255:1707-10.
10. Basak O, Taylor V. Stem cells of the adult mammalian brain and their niche. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66:1057-72.
11. Johnson M, Ables J, Eisch A. Cell-intrinsic signals that regulate adult neurogenesis in vivo: insights from inducible approaches. *BMB Rep*. 2009;42:245-59.
12. Sohur US, Emsley JG, Mitchell BD, Macklis JD. Adult neurogenesis and cellular brain repair with neural progenitors, precursors and stem cells. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2006;361:1477-97.

13. Morshead C, Reynolds B, Craig C, McBurney M, Staines W, Morassutti D, et al. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron*. 1994;13:1071-82.
14. Imayoshi I, Sakamoto M, Yamaguchi M, Mori K, Kageyama R. Essential roles of Notch signaling in maintenance of neural stem cells in developing and adult brains. *J Neurosci*. 2010;30:3489-98.
15. Rao T, Kühl M. An updated overview on Wnt signaling pathways: a prelude for more. *Circ Res*. 2010;106:1798-806.
16. NIH. *Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions*. Bethesda: National Institutes of Health 2001.
17. Seaberg R, van der Kooy D. Stem and progenitor cells: the premature desertion of rigorous definitions. *Trends Neurosci*. 2003;26:125-31.
18. Paré J, Sherley J. Biological principles for ex vivo adult stem cell expansion. *Curr Top Dev Biol*. 2006;73:141-71.
19. Sherley J. Asymmetric cell kinetics genes: the key to expansion of adult stem cells in culture. *Stem Cells*. 2002;20:561-72.
20. Nakahata T, Gross A, Ogawa M. A stochastic model of self-renewal and commitment to differentiation of the primitive hemopoietic stem cells in culture. *J Cell Physiol*. 1982;113:455-8.
21. Dingli D, Traulsen A, Pacheco J. Stochastic dynamics of hematopoietic tumor stem cells. *Cell Cycle*. 2007;6:461-6.
22. Shostak S. (Re)defining stem cells. *Bioessays*. 2006;28:301-8.
23. Mitalipov S, Wolf D. Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2009;114:185-99.
24. Ciosk R, DePalma M, Priess J. Translational regulators maintain totipotency in the *Caenorhabditis elegans* germline. *Science*. 2006;311:851-3.
25. Donnini M, Lapucci A, Papucci L, Witort E, Jacquier A, Brewer G, et al. Identification of TINO: a new evolutionarily conserved BCL-2 AU-rich element RNA-binding protein. *J Biol Chem*. 2004;279:20154-66.
26. Galarneau A, Richard S. The STAR RNA binding proteins GLD-1, QKI, SAM68 and SLM-2 bind bipartite RNA motifs. *BMC Mol Biol*. 2009;10:47.
27. Wilmut I, Schnieke A, McWhir J, Kind A, Campbell K. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 1997;385:810-3.
28. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006 Aug;126(4):663-76.
29. Maria O, Khosravi R, Mezey E, Tran S. Cells from bone marrow that evolve into oral tissues and their clinical applications. *Oral Dis*. 2007;13:11-6.
30. Ju S, Teng GJ, Lu H, Jin J, Zhang Y, Zhang A, et al. In vivo differentiation of magnetically labeled mesenchymal stem cells into hepatocytes for cell therapy to repair damaged liver. *Invest Radiol*. 2010;45:625-33.

31. Sun T, Tseng S, Lavker R. Location of corneal epithelial stem cells. *Nature*. 2010;463:E10-1; discussion E1.
32. Majo F, Rochat A, Nicolas M, Jaoudé G, Barrandon Y. Oligopotent stem cells are distributed throughout the mammalian ocular surface. *Nature*. 2008;456:250-4.
33. Ko K, Araúzo-Bravo M, Kim J, Stehling M, Schöler H. Conversion of adult mouse unipotent germline stem cells into pluripotent stem cells. *Nat Protoc*. 2010;5:921-8.
34. Bukovsky A. How Can Female Germline Stem Cells Contribute to the Physiological Neogenesis in Mammals and Why Menopause Occurs? *Microsc Microanal*. 2010;16:1-9.
35. Evans M, Kaufman M. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981;292:154-6.
36. Martin G. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78:7634-8.
37. Nichols J, Zevnik B, Anastasiadis K, Niwa H, Klewe-Nebenius D, Chambers I, et al. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell*. 1998;95:379-91.
38. Avilion AA, Nicolis SK, Pevny LH, Perez L, Vivian N, Lovell-Badge R. Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function. *Genes Dev*. 2003;17:126-40.
39. Chambers I, Colby D, Robertson M, Nichols J, Lee S, Tweedie S, et al. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell*. 2003;113:643-55.
40. Matsuda T, Nakamura T, Nakao K, Arai T, Katsuki M, Heike T, et al. STAT3 activation is sufficient to maintain an undifferentiated state of mouse embryonic stem cells. *EMBO J*. 1999;18:4261-9.
41. Takahashi K, Mitsui K, Yamanaka S. Role of ERas in promoting tumour-like properties in mouse embryonic stem cells. *Nature*. 2003;423:541-5.
42. Cartwright P, McLean C, Sheppard A, Rivett D, Jones K, Dalton S. LIF/STAT3 controls ES cell self-renewal and pluripotency by a Myc-dependent mechanism. *Development*. 2005;132:885-96.
43. Li Y, McClintick J, Zhong L, Edenberg HJ, Yoder MC, Chan RJ. Murine embryonic stem cell differentiation is promoted by SOCS-3 and inhibited by the zinc finger transcription factor Klf4. *Blood*. 2005;105:635-7.
44. Sato N, Meijer L, Skaltsounis L, Greengard P, Brivanlou AH. Maintenance of pluripotency in human and mouse embryonic stem cells through activation of Wnt signaling by a pharmacological GSK-3-specific inhibitor. *Nat Med*. 2004;10:55-63.
45. Maruyama M, Ichisaka T, Nakagawa M, Yamanaka S. Differential roles for Sox15 and Sox2 in transcriptional control in mouse embryonic stem cells. *J Biol Chem*. 2005;280:24371-9.
46. Chang G, Miao YL, Zhang Y, Liu S, Kou Z, Ding J, et al. Linking incomplete reprogramming to the improved pluripotency of murine embryonal carcinoma cell-derived pluripotent stem cells. *PLoS One*. 2010;5:e10320.
47. Xie Z, Tan G, Ding M, Dong D, Chen T, Meng X, et al. Foxm1 transcription factor is required for maintenance of pluripotency of P19 embryonal carcinoma cells. *Nucleic Acids Res*. 2010.

48. NIH. Regenerative medicine. Bethesda: National Institutes of Health 2006.
49. Amariglio N, Hirshberg A, Scheithauer BW, Cohen Y, Loewenthal R, Trakhtenbrot L, et al. Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient. *PLoS Med.* 2009;6:e1000029.
50. De Miguel MP, Arnalich Montiel F, Lopez Iglesias P, Blazquez Martinez A, Nistal M. Epiblast-derived stem cells in embryonic and adult tissues. *Int J Dev Biol.* 2009;53:1529-40.
51. Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells.* 2003;21:105-10.
52. Wagner JE, Gluckman E. Umbilical cord blood transplantation: the first 20 years. *Semin Hematol.* 2010;47:3-12.
53. Dontu G, Jackson KW, McNicholas E, Kawamura MJ, Abdallah WM, Wicha MS. Role of Notch signaling in cell-fate determination of human mammary stem/progenitor cells. *Breast Cancer Res.* 2004;6:R605-15.
54. Kaufman DS. HIF hits Wnt in the stem cell niche. *Nat Cell Biol.* 2010;12:926-7.
55. Liu S, Dontu G, Mantle ID, Patel S, Ahn NS, Jackson KW, et al. Hedgehog signaling and Bmi-1 regulate self-renewal of normal and malignant human mammary stem cells. *Cancer Res.* 2006;66:6063-71.
56. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, Cogan TA, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet.* 2008;372:2023-30.
57. Kizaka-Kondoh S, Itasaka S, Zeng L, Tanaka S, Zhao T, Takahashi Y, et al. Selective killing of hypoxia-inducible factor-1-active cells improves survival in a mouse model of invasive and metastatic pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15:3433-41.
58. Kikuchi H, Pino MS, Zeng M, Shirasawa S, Chung DC. Oncogenic KRAS and BRAF differentially regulate hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and -2 $\alpha$  in colon cancer. *Cancer Res.* 2009;69:8499-506.
59. Gearhart J, Pashos EE, Prasad MK. Pluripotency redux--advances in stem-cell research. *N Engl J Med.* 2007;357:1469-72.
60. Carpenter MK, Couture LA. Regulatory considerations for the development of autologous induced pluripotent stem cell therapies. *Regen Med.* 2010;5:569-79.
61. Rowland BD, Bernards R, Peeper DS. The KLF4 tumour suppressor is a transcriptional repressor of p53 that acts as a context-dependent oncogene. *Nat Cell Biol.* 2005;7:1074-82.
62. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science.* 2007;318:1917-20.
63. Page RL, Ambady S, Holmes WF, Vilner L, Kole D, Kashpur O, et al. Induction of stem cell gene expression in adult human fibroblasts without transgenes. *Cloning Stem Cells.* 2009;11:417-26.
64. Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, Loh YH, Li H, Lau F, et al. Highly Efficient Reprogramming to Pluripotency and Directed Differentiation of Human Cells with Synthetic Modified mRNA. *Cell Stem Cell.* 2010.

65. Carlson BM. *Embriología humana y biología del desarrollo*. 4ª ed. Madrid: Elsevier; 2009.
66. Nahhas F, Barnea E. Human embryonic origin early pregnancy factor before and after implantation. *Am J Reprod Immunol*. 1990;22:105-8.
67. Clarke F. Identification of molecules and mechanisms involved in the 'early pregnancy factor' system. *Reprod Fertil Dev*. 1992;4:423-33.
68. Cavanagh A. Identification of early pregnancy factor as chaperonin 10: implications for understanding its role. *Rev Reprod*. 1996;1:28-32.
69. Zhou X, Sasaki H, Lowe L, Hogan B, Kuehn M. Nodal is a novel TGF-beta-like gene expressed in the mouse node during gastrulation. *Nature*. 1993;361:543-7.
70. O'Connor TP, Crystal RG. Genetic medicines: treatment strategies for hereditary disorders. *Nat Rev Genet*. 2006;7:261-76.
71. Steventon B, Araya C, Linker C, Kuriyama S, Mayor R. Differential requirements of BMP and Wnt signalling during gastrulation and neurulation define two steps in neural crest induction. *Development*. 2009;136:771-9.
72. Gammill LS, Bronner-Fraser M. Neural crest specification: migrating into genomics. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4:795-805.
73. Ukita K, Hirahara S, Oshima N, Imuta Y, Yoshimoto A, Jang CW, et al. Wnt signaling maintains the notochord fate for progenitor cells and supports the posterior extension of the notochord. *Mech Dev*. 2009;126:791-803.
74. Millet C, Lemaire P, Orsetti B, Guglielmi P, François V. The human chordin gene encodes several differentially expressed spliced variants with distinct BMP opposing activities. *Mech Dev*. 2001;106:85-96.
75. Valenzuela D, Economides A, Rojas E, Lamb T, Nuñez L, Jones P, et al. Identification of mammalian noggin and its expression in the adult nervous system. *J Neurosci*. 1995;15:6077-84.
76. Hemmati-Brivanlou A, Kelly O, Melton D. Follistatin, an antagonist of activin, is expressed in the Spemann organizer and displays direct neuralizing activity. *Cell*. 1994;77:283-95.
77. Londin E, Niemiec J, Sirotkin H. Chordin, FGF signaling, and mesodermal factors cooperate in zebrafish neural induction. *Dev Biol*. 2005;279:1-19.
78. Orentas D, Miller R. The origin of spinal cord oligodendrocytes is dependent on local influences from the notochord. *Dev Biol*. 1996;177:43-53.
79. Placzek M. The role of the notochord and floor plate in inductive interactions. *Curr Opin Genet Dev*. 1995;5:499-506.
80. Hirano S, Fuse S, Sohal G. The effect of the floor plate on pattern and polarity in the developing central nervous system. *Science*. 1991;251:310-3.
81. Litingtung Y, Chiang C. Control of Shh activity and signaling in the neural tube. *Dev Dyn*. 2000;219:143-54.
82. Liu A, Niswander LA. Bone morphogenetic protein signalling and vertebrate nervous system development. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6:945-54.

83. Cayuso J, Marti E. Morphogens in motion: growth control of the neural tube. *J Neurobiol.* 2005;64:376-87.
84. Alvarez-Medina R, Cayuso J, Okubo T, Takada S, Marti E. Wnt canonical pathway restricts graded Shh/Gli patterning activity through the regulation of Gli3 expression. *Development.* 2008;135:237-47.
85. Creuzet S, Martinez S, Le Douarin N. The cephalic neural crest exerts a critical effect on forebrain and midbrain development. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:14033-8.
86. Hever A, Williamson K, van Heyningen V. Developmental malformations of the eye: the role of PAX6, SOX2 and OTX2. *Clin Genet.* 2006;69:459-70.
87. Portell I, Coll M, Torres M. *Fisiología y anatomía del sistema nervioso.* Barcelona: Viguera Editores; 2010. Available from: [www.neurologia.com/cursos/psicobiologia](http://www.neurologia.com/cursos/psicobiologia).
88. Sanes DH, Reh TA, Harris WA. *El desarrollo del sistema nervioso.* Barcelona: Ariel; 2002.
89. Fogel JL, Chiang C, Huang X, Agarwala S. Ventral specification and perturbed boundary formation in the mouse midbrain in the absence of Hedgehog signaling. *Dev Dyn.* 2008;237:1359-72.
90. McMahon AP, Bradley A. The Wnt-1 (int-1) proto-oncogene is required for development of a large region of the mouse brain. *Cell.* 1990;62:1073-85.
91. Chilov D, Sinjushina N, Saarimaki-Vire J, Taketo MM, Partanen J. beta-Catenin regulates intercellular signalling networks and cell-type specific transcription in the developing mouse midbrain-rhombomere 1 region. *PLoS One.* 2010;5:e10881.
92. Chi CL, Martinez S, Wurst W, Martin GR. The isthmus organizer signal FGF8 is required for cell survival in the prospective midbrain and cerebellum. *Development.* 2003;130:2633-44.
93. Russek-Blum N, Nabel-Rosen H, Levkowitz G. High resolution fate map of the zebrafish diencephalon. *Dev Dyn.* 2009;238:1827-35.
94. Stehle J, von Gall C, Korf H. Organisation of the circadian system in melatonin-proficient C3H and melatonin-deficient C57BL mice: a comparative investigation. *Cell Tissue Res.* 2002;309:173-82.
95. Guinazu MF, Chambers D, Lumsden A, Kiecker C. Tissue interactions in the developing chick diencephalon. *Neural Dev.* 2007;2:25.
96. Suzuki-Hirano A, Shimogori T. The role of Fgf8 in telencephalic and diencephalic patterning. *Semin Cell Dev Biol.* 2009;20:719-25.
97. Redzic ZB, Preston JE, Duncan JA, Chodobski A, Szmydynger-Chodobska J. The choroid plexus-cerebrospinal fluid system: from development to aging. *Curr Top Dev Biol.* 2005;71:1-52.
98. Buddensiek J, Dressel A, Kowalski M, Runge U, Schroeder H, Hermann A, et al. Cerebrospinal fluid promotes survival and astroglial differentiation of adult human neural progenitor cells but inhibits proliferation and neuronal differentiation. *BMC Neurosci.* 2010;11:48.
99. O'Rahilly R, Muller F. The meninges in human development. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1986;45:588-608.
100. Rubin LL, Staddon JM. The cell biology of the blood-brain barrier. *Annu Rev Neurosci.* 1999;22:11-28.

101. Abbott N, Patabendige A, Dolman D, Yusof S, Begley D. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis.* 2010;37:13-25.
102. Liebner S, Corada M, Bangsow T, Babbage J, Taddei A, Czupalla CJ, et al. Wnt/beta-catenin signaling controls development of the blood-brain barrier. *J Cell Biol.* 2008;183:409-17.
103. Forster C. Tight junctions and the modulation of barrier function in disease. *Histochem Cell Biol.* 2008;130:55-70.
104. Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7:41-53.
105. Jessen K, Mirsky R. The origin and development of glial cells in peripheral nerves. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6:671-82.
106. Bamber B, Masters B, Hoyle G, Brinster R, Palmiter R. Leukemia inhibitory factor induces neurotransmitter switching in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91:7839-43.
107. Murphy M, Reid K, Ford M, Furness JB, Bartlett PF. FGF2 regulates proliferation of neural crest cells, with subsequent neuronal differentiation regulated by LIF or related factors. *Development.* 1994;120:3519-28.
108. Barlow AJ, Wallace AS, Thapar N, Burns AJ. Critical numbers of neural crest cells are required in the pathways from the neural tube to the foregut to ensure complete enteric nervous system formation. *Development.* 2008;135:1681-91.
109. Reichenbach B, Delalande JM, Kolmogorova E, Prier A, Nguyen T, Smith CM, et al. Endoderm-derived Sonic hedgehog and mesoderm Hand2 expression are required for enteric nervous system development in zebrafish. *Dev Biol.* 2008;318:52-64.
110. Savidge TC, Newman P, Pothoulakis C, Ruhl A, Neunlist M, Bourreille A, et al. Enteric glia regulate intestinal barrier function and inflammation via release of S-nitrosoglutathione. *Gastroenterology.* 2007;132:1344-58.
111. Landis S. Neuronal growth cones. *Annu Rev Physiol.* 1983;45:567-80.
112. Dent E, Barnes A, Tang F, Kalil K. Netrin-1 and semaphorin 3A promote or inhibit cortical axon branching, respectively, by reorganization of the cytoskeleton. *J Neurosci.* 2004;24:3002-12.
113. Ma W, Tavakoli T, Derby E, Serebryakova Y, Rao M, Mattson M. Cell-extracellular matrix interactions regulate neural differentiation of human embryonic stem cells. *BMC Dev Biol.* 2008;8:90.
114. Maro GS, Klassen MP, Shen K. A beta-catenin-dependent Wnt pathway mediates anteroposterior axon guidance in *C. elegans* motor neurons. *PLoS One.* 2009;4:e4690.
115. Cifarelli C, Titus B, Yeoh H. Cadherin-dependent adhesion of human U373MG glioblastoma cells promotes neurite outgrowth and increases migratory capacity. *J Neurosurg.* 2010.
116. Witzemann V. Development of the neuromuscular junction. *Cell Tissue Res.* 2006;326:263-71.
117. Birchmeier C, Nave K. Neuregulin-1, a key axonal signal that drives Schwann cell growth and differentiation. *Glia.* 2008;56:1491-7.
118. Culmsee C, Mattson M. p53 in neuronal apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;331:761-77.

119. Bessis A, Béchade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia*. 2007;55:233-8.
120. Wey A, Knoepfler PS. c-myc and N-myc promote active stem cell metabolism and cycling as architects of the developing brain. *Oncotarget*. 2010;1:120-30.
121. Li X, Tang X, Jablonska B, Aguirre A, Gallo V, Luskin MB. p27(KIP1) regulates neurogenesis in the rostral migratory stream and olfactory bulb of the postnatal mouse. *J Neurosci*. 2009;29:2902-14.
122. Hermann A, Maisel M, Liebau S, Gerlach M, Kleger A, Schwarz J, et al. Mesodermal cell types induce neurogenesis from adult human hippocampal progenitor cells. *J Neurochem*. 2006;98:629-40.
123. Chenn A, McConnell S. Cleavage orientation and the asymmetric inheritance of Notch1 immunoreactivity in mammalian neurogenesis. *Cell*. 1995;82:631-41.
124. Caviness VJ, Takahashi T. Proliferative events in the cerebral ventricular zone. *Brain Dev*. 1995;17:159-63.
125. Mutch CA, Schulte JD, Olson E, Chenn A. Beta-catenin signaling negatively regulates intermediate progenitor population numbers in the developing cortex. *PLoS One*. 2010;5.
126. Michalczyk K, Ziman M. Nestin structure and predicted function in cellular cytoskeletal organisation. *Histol Histopathol*. 2005;20:665-71.
127. Herrup K, Yang Y. Cell cycle regulation in the postmitotic neuron: oxymoron or new biology? *Nat Rev Neurosci*. 2007;8:368-78.
128. Mutch CA, Funatsu N, Monuki ES, Chenn A. Beta-catenin signaling levels in progenitors influence the laminar cell fates of projection neurons. *J Neurosci*. 2009;29:13710-9.
129. Angevine JJ, Sidman R. Autoradiographic study of cell migration during histogenesis of cerebral cortex in the mouse. *Nature*. 1961;192:766-8.
130. Zhang G, Assadi A, McNeil R, Beffert U, Wynshaw-Boris A, Herz J, et al. The Pafah1b complex interacts with the reelin receptor VLDLR. *PLoS One*. 2007;2:e252.
131. Feng L, Cooper J. Dual functions of Dab1 during brain development. *Mol Cell Biol*. 2009;29:324-32.
132. Voss AK, Britto JM, Dixon MP, Sheikh BN, Collin C, Tan SS, et al. C3G regulates cortical neuron migration, preplate splitting and radial glial cell attachment. *Development*. 2008;135:2139-49.
133. Metin C, Vallee RB, Rakic P, Bhide PG. Modes and mishaps of neuronal migration in the mammalian brain. *J Neurosci*. 2008;28:11746-52.
134. Yokota Y, Gashghaei HT, Han C, Watson H, Campbell KJ, Anton ES. Radial glial dependent and independent dynamics of interneuronal migration in the developing cerebral cortex. *PLoS One*. 2007;2:e794.
135. D'Arca D, Zhao X, Xu W, Ramirez-Martinez NC, Iavarone A, Lasorella A. Huwe1 ubiquitin ligase is essential to synchronize neuronal and glial differentiation in the developing cerebellum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:5875-80.
136. Lois C, Alvarez-Buylla A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science*. 1994;264:1145-8.

137. Whitman MC, Greer CA. Adult neurogenesis and the olfactory system. *Prog Neurobiol.* 2009;89:162-75.
138. Bath KG, Lee FS. Neurotrophic factor control of adult SVZ neurogenesis. *Dev Neurobiol.* 2010;70:339-49.
139. Kaslin J, Ganz J, Brand M. Proliferation, neurogenesis and regeneration in the non-mammalian vertebrate brain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2008;363:101-22.
140. Alvarez-Buylla A, Theelen M, Nottebohm F. Birth of projection neurons in the higher vocal center of the canary forebrain before, during, and after song learning. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988;85:8722-6.
141. Escada PA, Lima C, da Silva JM. The human olfactory mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009;266:1675-80.
142. Choi D, Li D, Law S, Powell M, Raisman G. A prospective observational study of the yield of olfactory ensheathing cells cultured from biopsies of septal nasal mucosa. *Neurosurgery.* 2008;62:1140-4; discussion 4-5.
143. Gould E. How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nat Rev Neurosci.* 2007;8:481-8.
144. Zhang C, Zhang Z, Shu H, Liu S, Song Y, Qiu K, et al. The modulatory effects of bHLH transcription factors with the Wnt/beta-catenin pathway on differentiation of neural progenitor cells derived from neonatal mouse anterior subventricular zone. *Brain Res.* 2010;1315:1-10.
145. Adachi K, Mirzadeh Z, Sakaguchi M, Yamashita T, Nikolcheva T, Gotoh Y, et al. Beta-catenin signaling promotes proliferation of progenitor cells in the adult mouse subventricular zone. *Stem Cells.* 2007;25:2827-36.
146. Qu Q, Sun G, Li W, Yang S, Ye P, Zhao C, et al. Orphan nuclear receptor TLX activates Wnt/beta-catenin signalling to stimulate neural stem cell proliferation and self-renewal. *Nat Cell Biol.* 2010;12:31-40; sup1-9.
147. Lie DC, Colamarino SA, Song HJ, Desire L, Mira H, Consiglio A, et al. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis. *Nature.* 2005;437:1370-5.
148. Harrison TR, Fauci AS. *Principios de medicina interna.* 17a ed. México, D.F.; MacGraw-Hill; 2009.
149. Yankner BA, Lu T. Amyloid beta-protein toxicity and the pathogenesis of Alzheimer disease. *J Biol Chem.* 2009;284:4755-9.
150. Goate A. Segregation of a missense mutation in the amyloid beta-protein precursor gene with familial Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2006;9:341-7.
151. Volicer L, Harper DG, Manning BC, Goldstein R, Satlin A. Sundowning and circadian rhythms in Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry.* 2001;158:704-11.
152. Alonso A, Zaidi T, Novak M, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Hyperphosphorylation induces self-assembly of tau into tangles of paired helical filaments/straight filaments. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:6923-8.
153. de la Monte SM, Wands JR. Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling, and malfunction in the central nervous system: relevance to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2005;7:45-61.

154. Ewers M, Mielke MM, Hampel H. Blood-based biomarkers of microvascular pathology in Alzheimer's disease. *Exp Gerontol.* 2010;45:75-9.
155. Khan MA, Berti L. Alzheimer's disease affects progenitor cells through aberrant {beta}-catenin signaling. *J Neurosci.* 2009;29:12369-71.
156. He P, Shen Y. Interruption of beta-catenin signaling reduces neurogenesis in Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2009;29:6545-57.
157. Tuszynski MH, Thal L, Pay M, Salmon DP, U HS, Bakay R, et al. A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease. *Nat Med.* 2005;11:551-5.
158. Lopez-Toledano M, Ali Faghihi M, Patel N, Wahlestedt C. Adult neurogenesis: a potential tool for early diagnosis in Alzheimer's disease? *J Alzheimers Dis.* 2010;20:395-408.
159. Lindvall O, Kokaia Z, Martinez-Serrano A. Stem cell therapy for human neurodegenerative disorders-how to make it work. *Nat Med.* 2004;10:S42-50.
160. Backlund EO, Granberg PO, Hamberger B, Knutsson E, Martensson A, Sedvall G, et al. Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in parkinsonism. First clinical trials. *J Neurosurg.* 1985;62:169-73.
161. Madrazo I, Drucker-Colin R, Diaz V, Martinez-Mata J, Torres C, Becerril JJ. Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 1987;316:831-4.
162. Lindvall O, Rehncrona S, Brundin P, Gustavii B, Astedt B, Widner H, et al. Human fetal dopamine neurons grafted into the striatum in two patients with severe Parkinson's disease. A detailed account of methodology and a 6-month follow-up. *Arch Neurol.* 1989;46:615-31.
163. Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *New England Journal of Medicine.* 2001;344:710-9.
164. Bjorklund LM, Sanchez-Pernaute R, Chung SM, Andersson T, Chen IYC, McNaught KS, et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* [Article]. 2002;99:2344-9.
165. Friling S, Andersson E, Thompson LH, Jonsson ME, Hebsgaard JB, Nanou E, et al. Efficient production of mesencephalic dopamine neurons by Lmx1a expression in embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:7613-8.
166. Master Z, McLeod M, Mendez I. Benefits, risks and ethical considerations in translation of stem cell research to clinical applications in Parkinson's disease. *J Med Ethics.* 2007;33:169-73.
167. Barberi T, Klivenyi P, Calingasan NY, Lee H, Kawamata H, Loonam K, et al. Neural subtype specification of fertilization and nuclear transfer embryonic stem cells and application in parkinsonian mice. *Nat Biotechnol.* 2003;21:1200-7.
168. Vrana KE, Hipp JD, Goss AM, McCool BA, Riddle DR, Walker SJ, et al. Nonhuman primate parthenogenetic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100 Suppl 1:11911-6.
169. Luo Y, Kuang S, Hoffer B. How useful are stem cells in PD therapy? *Parkinsonism Relat Disord.* 2009;15 Suppl 3:S171-5.

170. Meyer AK, Maisel M, Hermann A, Stirl K, Storch A. Restorative approaches in Parkinson's Disease: which cell type wins the race? *J Neurol Sci.* 2010;289:93-103.
171. Hargus G, Cooper O, Deleidi M, Levy A, Lee K, Marlow E, et al. Differentiated Parkinson patient-derived induced pluripotent stem cells grow in the adult rodent brain and reduce motor asymmetry in Parkinsonian rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:15921-6.
172. Brazzini A, Cantella R, De la Cruz A, Yupanqui J, Leon C, Jorquiera T, et al. Intraarterial autologous implantation of adult stem cells for patients with Parkinson disease. *J Vasc Interv Radiol.* 2010;21:443-51.
173. Marchenko S, Flanagan L. Passaging human neural stem cells. *J Vis Exp.* 2007:263.
174. Arjona V, Minguez-Castellanos A, Montoro RJ, Ortega A, Escamilla F, Toledo-Aral JJ, et al. Autotransplantation of human carotid body cell aggregates for treatment of Parkinson's disease. *Neurosurgery.* 2003;53:321-8; discussion 8-30.
175. Lopez-Barneo J, Pardal R, Ortega-Saenz P, Duran R, Villadiego J, Toledo-Aral J. The neurogenic niche in the carotid body and its applicability to antiparkinsonian cell therapy. *J Neural Transm.* 2009;116:975-82.
176. Schulman JD, Black SH, Handyside A, Nance WE. Preimplantation genetic testing for Huntington disease and certain other dominantly inherited disorders. *Clinical Genetics.* 1996 Feb;49(2):57-8.
177. Domarus Av, Rozman Borstnar C, Farreras Valentí P, Cardellach F. *Medicina interna. Volumen II.* 15ª ed. Madrid: Elsevier; 2005.
178. Clelland CD, Barker RA, Watts C. Cell therapy in Huntington disease. *Neurosurgical Focus.* 2008;24:12.
179. Keene CD, Sonnen JA, Swanson PD, Kopyov O, Leverenz JB, Bird TD, et al. Neural transplantation in Huntington disease: long-term grafts in two patients. *Neurology.* 2007;68:2093-8.
180. Vazey EM, Chen K, Hughes SM, Connor B. Transplanted adult neural progenitor cells survive, differentiate and reduce motor function impairment in a rodent model of Huntington's disease. *Exp Neurol.* 2006;199:384-96.
181. Zuccato C, Valenza M, Cattaneo E. Molecular mechanisms and potential therapeutical targets in Huntington's disease. *Physiol Rev.* 2010;90:905-81.
182. Margolis RL, Ross CA. Diagnosis of Huntington disease. *Clinical Chemistry.* 2003;49:1726-32.
183. Vivanco L, Martinez A, Jouve de la Barrera N. Valoración bioética y biojurídica del diagnóstico genético preimplantatorio en España. *Cuad Bioet.* 2010;21:213-30.
184. Kerr DA, Llado J, Shablott MJ, Maragakis NJ, Irani DN, Crawford TO, et al. Human embryonic germ cell derivatives facilitate motor recovery of rats with diffuse motor neuron injury. *J Neuroscience.* 2003;23:5131-40.
185. Klein SM, Behrstock S, McHugh J, Hoffmann K, Wallace K, Suzuki M, et al. GDNF delivery using human neural progenitor cells in a rat model of ALS. *Hum Gene Ther.* 2005;16:509-21.
186. Suzuki M, Svendsen CN. Combining growth factor and stem cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis. *Trends Neurosci.* 2008;31:192-8.

187. Hedlund E, Hefferan MP, Marsala M, Isacson O. Cell therapy and stem cells in animal models of motor neuron disorders. *Eur J Neurosci*. 2007;26:1721-37.
188. Thonhoff JR, Ojeda L, Wu P. Stem cell-derived motor neurons: applications and challenges in amyotrophic lateral sclerosis. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2009;4:178-99.
189. Mortalidad por cáncer, por enfermedad isquémica del corazón, por enfermedades cerebrovasculares y por diabetes mellitus en España. In: Sanitaria IdI, editor. Ministerio de Sanidad y Consumo; 2006. p. 41.
190. Warach S, Latour LL. Evidence of reperfusion injury, exacerbated by thrombolytic therapy, in human focal brain ischemia using a novel imaging marker of early blood-brain barrier disruption. *Stroke*. 2004;35:2659-61.
191. Arvidsson A, Collin T, Kirik D, Kokaia Z, Lindvall O. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nature Medicine*. 2002;8:963-70.
192. Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, et al. Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell*. 2002;110:429-41.
193. Kelly S, Bliss TM, Shah AK, Sun GH, Ma M, Foo WC, et al. Transplanted human fetal neural stem cells survive, migrate, and differentiate in ischemic rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:11839-44.
194. Li WY, Choi YJ, Lee PH, Huh K, Kang YM, Kim HS, et al. Mesenchymal stem cells for ischemic stroke: changes in effects after ex vivo culturing. *Cell Transplant*. 2008;17:1045-59.
195. Kameda M, Shingo T, Takahashi K, Muraoka K, Kurozumi K, Yasuhara T, et al. Adult neural stem and progenitor cells modified to secrete GDNF can protect, migrate and integrate after intracerebral transplantation in rats with transient forebrain ischemia. *Eur J Neurosci*. 2007;26:1462-78.
196. Zhang L, Chopp M, Zhang RL, Wang L, Zhang J, Wang Y, et al. Erythropoietin amplifies stroke-induced oligodendrogenesis in the rat. *PLoS One*. 2010;5:e11016.
197. Mastroiacovo F, Busceti CL, Biagioni F, Moyanova SG, Meisler MH, Battaglia G, et al. Induction of the Wnt antagonist, Dickkopf-1, contributes to the development of neuronal death in models of brain focal ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009;29:264-76.
198. Hurtado O, Serrano J, Sobrado M, Fernandez AP, Lizasoain I, Martinez-Murillo R, et al. Lack of adrenomedullin, but not complement factor H, results in larger infarct size and more extensive brain damage in a focal ischemia model. *Neuroscience*. 2010
199. Xu L, Xu CJ, Lu HZ, Wang YX, Li Y, Lu PH. Long-term fate of allogeneic neural stem cells following transplantation into injured spinal cord. *Stem Cell Rev*. 2010;6:121-36.
200. Martinez HR, Gonzalez-Garza MT, Moreno-Cuevas JE, Caro E, Gutierrez-Jimenez E, Segura JJ. Stem-cell transplantation into the frontal motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Cytotherapy*. 2009;11:26-34.
201. Lindvall O, Kokaia Z. Stem cells for the treatment of neurological disorders. *Nature*. 2006;441:1094-6.
202. Knoepfler PS. Deconstructing stem cell tumorigenicity: a roadmap to safe regenerative medicine. *Stem Cells*. 2009;27:1050-6.

203. The declaration of Istanbul on organ trafficking and transplant tourism. *Exp Clin Transplant*. 2008;6:171-9.
204. Madrazo I, Leon V, Torres C, Aguilera MC, Varela G, Alvarez F, et al. Transplantation of fetal substantia nigra and adrenal medulla to the caudate nucleus in two patients with Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 1988;318:51.
205. Goldman SA, Windrem MS. Cell replacement therapy in neurological disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2006;361:1463-75.
206. Miedzybrodzki R, Tabakow P, Fortuna W, Czapiga B, Jarmundowicz W. The olfactory bulb and olfactory mucosa obtained from human cadaver donors as a source of olfactory ensheathing cells. *Glia*. 2006;54:557-65.
207. Research UPsCftSoEPiMaBaB. *Defining Death: Medical, Legal and Ethical Issues in the Determination of Death*. Washington: U.S. Goberment Printing Office; 1981.
208. Manno EM, Wijdicks EF. The declaration of death and the withdrawal of care in the neurologic patient. *Neurol Clin*. 2006;24:159-69.
209. Oboler SK. Brain death and persistent vegetative states. *Clin Geriatr Med*. 1986;2:547-76.
210. Wijdicks EF. Determining brain death in adults. *Neurology*. 1995;45:1003-11.
211. Wijdicks EF. The diagnosis of brain death. *N Engl J Med*. 2001 19;344:1215-21.
212. Sociedad Española de Neurofisiología Clínica. *Diagnóstico neurofisiológico de muerte cerebral en la donación de órganos*. Madrid: Saned; 1986.
213. Sgreccia E. *Manual de Bioética. Fundamentos y ética biomédica*. 4<sup>o</sup> ed. Madrid: BAC; 2009.
214. Matsuse D, Kitada M, Kohama M, Nishikawa K, Makinoshima H, Wakao S, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells differentiate into functional Schwann cells that sustain peripheral nerve regeneration. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2010;69:973-85.
215. Ma L, Feng XY, Cui BL, Law F, Jiang XW, Yang LY, et al. Human umbilical cord Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cells differentiation into nerve-like cells. *Chin Med J (Engl)*. 2005;118:1987-93.
216. Delaney C, Ratajczak MZ, Laughlin MJ. Strategies to enhance umbilical cord blood stem cell engraftment in adult patients. *Expert Rev Hematol*. 2010;3:273-83.
217. Reardon L. The ethics of fetal tissue transplant research: a review. *Linacre Q*. 1999;66:21-34.
218. Childress J. Ethics, public policy, and human fetal tissue transplantation research. *Kennedy Inst Ethics J*. 1991;1:93-121.
219. Sanders LM, Giudice L, Raffin TA. Ethics of fetal tissue transplantation. *West J Med*. 1993;159:400-7.
220. Strong C. Fetal tissue transplantation: can it be morally insulated from abortion? *J Med Ethics*. 1991;17:70-6.
221. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282:1145-7.

222. Ford N. When did I begin?: conception of the human individual in history, philosophy and science. 1<sup>o</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1988.
223. Grobstein C. External human fertilization. *Scientific American*. 1979;240:57-67.
224. Irving DN. NIH and human embryo research revisited: what is wrong with this picture? *Linacre quarterly*. 2000;67:8-22.
225. Dunstan GR. Preembryo research. *J Assis Reprod Gen*. 1995;12:517-23.
226. Audi R. *The Cambridge dictionary of philosophy*. 2<sup>o</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.
227. Pruss A. The principle of sufficient reason, a reassessment. New York: Cambridge University Press; 2006. Available from: <http://O-site.ebrary.com.medina.uco.es/lib/bibliocordoba/Doc?id=10130436>.
228. Donceel J. Immediate Animation and Delayed Hominization. *Theol Studies*. 1970:76-110.
229. Mathonat B. Le début de la vie humaine chez saint Thomas. *Cahiers de la Faculté Libre de Philosophie Comparée*. 2000;59:104-7.
230. McCormick R. Who or what is the preembryo? *Kennedy Inst Ethics J*. 1991 Mar;1(1):1-15.
231. Eijk WJ, editor. Los criterios de la individualidad orgánica y el estatuto bioantropológico del embrión preimplantatorio. El embrión humano en la fase de preimplantación: aspectos científicos y consideraciones bioéticas; 2008; Ciudad del Vaticano: Biblioteca de Autores Cristianos.
232. McMahan J. Cloning, killing, and identity. *J Med Ethics*. 1999;25:77-86.
233. Engelhardt HT. *The foundations of bioethics*. 2<sup>o</sup> ed. New York: Oxford University Press; 1996.
234. Singer P. *Embryo experimentation: ethical, legal and social issues*. Cambridge: Cambridge University Press; 1993.
235. Lim KJ, Odukoya OA, Li TC, Cooke ID. Cytokines and immuno-endocrine factors in recurrent miscarriage. *Hum Reprod Update*. 1996;2:469-81.
236. Lin PC. Reproductive outcomes in women with uterine anomalies. *J Womens Health (Larchmt)*. 2004;13:33-9.
237. Nepomnaschy PA, Welch KB, McConnell DS, Low BS, Strassmann BI, England BG. Cortisol levels and very early pregnancy loss in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:3938-42.
238. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med*. 1988;319:189-94.
239. Shiota K. Maternal fertility, reproductive loss, and defective human embryos. *J Epidemiol Community Health*. 1989;43:261-7.
240. Tauer CA. Personhood and human embryos and fetuses. *J Med Philos*. 1985;10:253-66.
241. Meyer MJ, Nelson LJ. Respecting what we destroy. Reflections on human embryo research. *Hastings Cent Rep*. 2001;31:16-23.

242. Ley 35/1988, del 22 de Noviembre, sobre Técnicas de reproducción asistida, 35 (1988).
243. O'Rahilly R, Müller F. Human embryology & teratology. 3rd ed. New York: Wiley-Liss; 2001.
244. Jedrusik A, Parfitt DE, Guo G, Skamagki M, Grabarek JB, Johnson MH, et al. Role of Cdx2 and cell polarity in cell allocation and specification of trophectoderm and inner cell mass in the mouse embryo. *Genes & Development*. 2008;22:2692-706.
245. Plusa B, Frankenberg S, Chalmers A, Hadjantonakis AK, Moore CA, Papalopulu N, et al. Downregulation of Par3 and aPKC function directs cells towards the ICM in the preimplantation mouse embryo. *Journal of Cell Science*. 2005;118:505-15.
246. Zernicka-Goetz M, Morris SA, Bruce AW. Making a firm decision: multifaceted regulation of cell fate in the early mouse embryo. *Nature Reviews Genetics*. 2009;10:467-77.
247. Schatten H, Sun QY. The functional significance of centrosomes in mammalian meiosis, fertilization, development, nuclear transfer, and stem cell differentiation. *Environ Mol Mutagen*. 2009;50:620-36.
248. Fligny C, Hatia S, Amireault P, Mallet J, Cote F. Mammalian prenatal development: the influence of maternally derived molecules. *Bioessays*. 2009;31:935-43.
249. Corner GW. The observed embryology of human single-ovum twins and other multiple births. *Am J Obstet Gynecol*. 1955;70:933-51.
250. Machin G. Non-identical monozygotic twins, intermediate twin types, zygoty testing, and the non-random nature of monozygotic twinning: a review. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2009;151:110-27.
251. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. Embriología clínica: el desarrollo del ser humano. 8ª ed. Madrid: Elsevier; 2008.
252. Dox I. El gran Harper Collins ilustrado: diccionario médico. Madrid: Marbán; 2005.
253. Fink DW, Jr. FDA regulation of stem cell-based products. *Science*. 2009;324:1662-3.
254. Halme DG, Kessler DA. FDA regulation of stem-cell-based therapies. *N Engl J Med*. 2006;355:1730-5.
255. The Nuremberg code (1947). *British Medical Journal*. 1996;313:1448-.
256. Annas GJ. The Nuremberg Medical Trial: The Holocaust and the Origin of the Nuremberg Medical Code. *Bulletin of the History of Medicine*. 2008;82:968-70.
257. Wolstenholme GEW, O'Connor M. Ethics in medical progress with special reference to transplantation. Boston: Little, Brown; 1966.
258. Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. *J Indian Med Assoc*. 2009;107:403-5.
259. International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects. *Bull Med Ethics*. 2002:17-23.

260. Vayena E, Rowe P, Griffin P. Current practices and controversies in assisted reproduction : report of a meeting on medical, ethical and social aspects of assisted reproduction, held at WHO Headquarters in Geneva, Switzerland. Geneva: World Health Organization; 2002.
261. Preliminary draft of a Universal Declaration on the Human Genome and Human Rights. *Politics Life Sci.* 1996;15:332-4.
262. UNESCO: universal declaration on the human genome and human rights. *J Med Philos.* 1998;23:334-41.
263. Cohen S. Sleep regulation with thalidomide. *Am J Psychiatry.* 1960;116:1030-1.
264. The Thalidomide Lesson. *Science.* 1962;137:497.
265. Leck IM, Millar EL. Incidence of malformations since the introduction of thalidomide. *Br Med J.* 1962;2:16-20.
266. Bren L. Frances Oldham Kelsey. FDA medical reviewer leaves her mark on history. *FDA Consum.* 2001;35:24-9.
267. Anhalt E. The development of good clinical practice in the EEC and in Germany. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1993;15:217-22.
268. Geussenhainer S. Status of the GCP guidelines in Europe. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1993;15:223-8.
269. Rothman DJ. Were Tuskegee & Willowbrook studies in nature? *Hastings Cent Rep.* 1982;12:5-7.
270. Roy B. The Tuskegee Syphilis Experiment: biotechnology and the administrative state. *J Natl Med Assoc.* 1995;87:56-67.
271. Protection of human subjects; Belmont Report: notice of report for public comment. *Fed Regist.* 1979;44:23191-7.
272. Convention for Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with Regard to the Application of Biology and Biomedicine: Convention of Human Rights and Biomedicine. *Kennedy Inst Ethics J.* 1997;7:277-90.
273. Protocol banning human cloning entered into force on the list of March 2001. *Hum Reprod Genet Ethics.* 2001;7:27.
274. Transplantation of human organs and tissues. *Bull Med Ethics.* 2003;8-11.
275. Additional protocol to the convention for the protection of human rights and dignity of the human being with regard to the application of biology and medicine, on biomedical research. *Law Hum Genome Rev.* 2004:201-14.
276. Furlan E, Andorno R. Bioetica e dignità umana Interpretazioni a confronto a partire della convenzione di Oviedo. Milano: FrancoAngeli; 2009.
277. Parlamento C, Comision. Carta de los Derechos Fundamentales de la Unión Europea. *Diario Oficial n° C 83 de 30.3.2010.*
278. Parlamento, Consejo. Directiva 2001/20/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 4 de abril de 2001, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los

Estados miembros sobre la aplicación de buenas prácticas clínicas en la realización de ensayos clínicos de medicamentos de uso humano. Diario Oficial nº L 121 de 01/05/2001 p. 0034 - 0044.

279. Comisión. Directiva 2005/28/CE de la Comisión, de 8 de abril de 2005, por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de las buenas prácticas clínicas respecto a los medicamentos en investigación de uso humano, así como los requisitos para autorizar la fabricación o importación de dichos productos (Texto pertinente a efectos del EEE). Diario Oficial nº L 091 de 09/04/2005 p. 0013 - 0019.

280. Parlamento, Consejo. Directiva 2004/23/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 31 de marzo de 2004, relativa al establecimiento de normas de calidad y de seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos. Diario Oficial nº L 102 de 07/04/2004 p. 0048 - 0058.

281. Comisión. Directiva 2006/86/CE de la Comisión, de 24 de octubre de 2006, por la que se aplica la Directiva 2004/23/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere a los requisitos de trazabilidad, la notificación de las reacciones y los efectos adversos graves y determinados requisitos técnicos para la codificación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos. Texto pertinente a efectos del EEE. Diario Oficial nº L 294 de 25/10/2006 p. 0032 - 0050.

282. Ley 30/1979, de 27 de octubre, sobre extracción y trasplante de órganos. BOE-A-1979-26445. p. 25742-3.

283. Consumo MdSy. REAL DECRETO 1301/2006, de 10 de noviembre, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos. BOE-A-2006-19625. p. 39475-502.

284. LEY 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. BOE-A-2006-13554. p. 28122-65.

285. LEY 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. BOE-A-2007-12945. p. 28826-48.

286. Ferrer Colomer M. El término "preembrión": génesis, bases biológicas que lo sustentan y uso en la literatura científica y bioética. Murcia: Universidad de Murcia, Departamento de Biología Celular; 2007.

287. Corral Garcia E. La desprotección jurídica del embrión humano tras la nueva Ley de Reproducción Humana asistida y la Ley de Investigación Biomédica. Cuad Bioet. 2009;20:183-200.

288. German Zurriarain R. La progresiva desprotección jurídica de la vida humana embrionaria en España: De la Ley 35/1988 a las Leyes 14/2006 y 14/2007. Cuad Bioet. 2009;20:155-81.

289. Redondo Hermida A. Breves anotaciones sobre la protección del embrión en el Ordenamiento Jurídico Español. Cuad Bioet. 2009;20:201-8.

290. Potter V. Bioethics: bridge to the future. New Jersey: Prentice-Hall; 1971.

291. Spagnolo A, Sgreccia E. Bioetica nella ricerca e nella prassi medica. Torino: Edizioni Camilliane; 1997.

292. Jaspers K. La práctica médica en la era tecnológica. 1º ed. Barcelona: Gedisa; 2003.

293. Sgreccia E. The embryo: a sign of contradiction. Med Etika Bioet. 2001;8:13.

294. Potter V. Aldo Leopold's land ethic revisited: two kinds of bioethics. *Perspect Biol Med*. 1987;30:157-69.
295. Beauchamp T, Childress J. *Principles of biomedical ethics*. 6<sup>o</sup> ed. Oxford: Oxford University; 2008.
296. Emanuel EJ. The beginning of the end of principlism. *Hastings Cent Rep*. 1995;25:37-8.
297. Schlick M. *General theory of knowledge*. La Salle, Illinois: Open Court; 1985.
298. Moore GE, Guisán Seijas E, Vázquez Guisán M. *Principia ethica*. Barcelona: Crítica; 2002.
299. Sgreccia E, Mele V, Miranda G. Le radici della bioetica. *Atti del Congresso internazionale*, Roma, 15-17 febbraio 1996. Milano: Vita e Pensiero; 1998.
300. Plich R. A presentation and a critique of T. L. Beauchamp and J. F. Childress's "Principles of biomedical ethics" [Doctoral Thesis]. Roma: Pontificia Università Lateranense; 2008.
301. Gracia D. *Fundamentos de Bioética*. 3<sup>o</sup> ed. Madrid: Triacastela; 2008.
302. Engelhardt H. *Los fundamentos de la bioética*. 1<sup>o</sup> ed. Barcelona: Paidós; 1995.
303. Sgreccia E. Respect for life and the search for the quality of life in medicine: ethical aspects. *Dolentium Hominum*. 1995;10:154-60.
304. Vial Correa J, Sgreccia E, Vita PAp. Identity and statute of human embryo. *Proceedings of the III Assembly of the Pontifical Academy for Life*: Vatican City, February 14-16 1997. Città del Vaticano: Libreria Editrice Vaticana; 1998.
305. Sgreccia E, Di Pietro M. The role of responsibility in gynecological oncology. *Linacre Q*. 2003;70:183-94.
306. Erde EL. Understanding abortion via different scholarly methodologies: book review essay. *J Med Humanit Bioeth*. 1986;7:139-47.
307. Ordoqui Castilla G, Sgreccia E. *Derecho médico. Derecho del paciente a ser concebido, nacer, vivir y morir con dignidad de persona*. Montevideo: Ediciones del Foro; 2002.
308. Singer P, Garcia Trevijano C. *Desacralizar la vida humana ensayos sobre ética*. 1<sup>o</sup> ed. Madrid: Cátedra; 2003.
309. Engelhardt D. *Bioética y humanidades médicas*. 1<sup>o</sup> ed. Buenos Aires: Biblos; 2004.
310. Gracia D. *Fundamentos de la ética clínica. Selecciones en Bioética*. 2003;3:29-41.
311. Gracia D. *Retos y problemas de la autonomía moral. XVII Jornadas sobre Derecho y Genoma Humano*; Bilbao: Cátedra Interuniversitaria de Derecho y Genoma Humano; 2010.
312. Kohlberg L. *Psicología del desarrollo moral*. 2<sup>o</sup> ed. Bilbao: Desclée de Brouwer; 2003.
313. Kohlberg L, Power FC, Higgins A. *La educación moral según Lawrence Kohlberg*. 1<sup>o</sup> ed. Barcelona: Gedisa; 2008.
314. Pawlik TM, Curley SA. Ethical issues in surgical palliative care: am I killing the patient by "letting him go"? *Surg Clin North Am*. 2005;85:273-86.

315. Sullivan SM. The development and nature of the ordinary/extraordinary means distinction in the Roman Catholic tradition. *Bioethics*. 2007;21:386-97.
316. Calipari M. The principle of proportionality in therapy: foundations and applications criteria. *NeuroRehabilitation*. 2004;19:391-7.
317. Daniels N. Equity and population health: toward a broader bioethics agenda. *Hastings Cent Rep*. 2006;36:22-35.
318. Jacobson N. Dignity and health: a review. *Soc Sci Med*. 2007;64:292-302.
319. Sgreccia E, Laffitte J, Vives Soto L, López Barahona M, Vita PAp. Junto al enfermo incurable y al que muere: orientaciones éticas y operativas. *Actas de la XIV Asamblea General de la Pontificia Academia para la Vida (Ciudad del Vaticano, 25-26 de febrero de 2008)*. Madrid: Biblioteca de Autores Cristianos; 2009.
320. Gillon R. The principle of double effect and medical ethics. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986;292:193-4.
321. Vineis P. Scientific basis for the Precautionary Principle. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005;207:658-62.
322. Weed DL. Precaution, prevention, and public health ethics. *J Med Philos*. 2004;29:313-32.
323. Rezza G. The principle of precaution-based prevention: a Popperian paradox? *Eur J Public Health*. 2006;16:576-7.
324. Monereo Pérez J, Rivas Vallejo M. *Prevención de riesgos laborales y medio ambiente*. Granada: Comares; 2010.
325. Grandjean P. Implications of the precautionary principle for primary prevention and research. *Annu Rev Public Health*. 2004;25:199-223.