

Informe / La investigación sobre células
troncales

Comité Asesor de Ética en la Investigación
Científica y Técnica

Report / Stem Cell Research

Advisory Committee on Ethics of Scientific
and Technical Research



Informe / La investigación sobre células troncales

Comité Asesor de Ética en la Investigación Científica y Técnica

Comité Asesor de Ética en la Investigación Científica y Técnica

PRESIDENTE

César Nombela Cano

Catedrático de Microbiología, Universidad Complutense de Madrid

VOCALES

Carlos Alonso Bedate

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

Luis Balairón Ruiz

Meteorólogo del Estado, Instituto Nacional de Meteorología

Francisco Belil Creixell

Presidente de la Federación Empresarial de la Industria Química Española

Adela Cortina Orts

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

Manuel Elices Calafat

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

Antonio Fernández-Rañada Menéndez de Luarca

Catedrático de Electromagnetismo, Universidad Complutense de Madrid

Mónica López Barahona

Decana de CC. Biosanitarias, Universidad Francisco de Vitoria

Daniel Ramón Vidal

Catedrático de Tecnología de Alimentos, Universitat de València

Joan Rodés Teixidor

Director de Investigación, Hospital Clínic de Barcelona

Carlos M. Romeo Casabona

Catedrático de Derecho Penal, Universidad del País Vasco

Mateo Valero Cortés

Catedrático de Arquitectura de Computadores, Universitat Politècnica de Catalunya

Contenido

I. Presentación del informe	9
II. Recomendaciones para la investigación sobre células troncales	11
III. Aspectos científicos de la investigación sobre células troncales	13
III.1. Las células troncales	13
III.2. Avances recientes en la investigación sobre células troncales	15
III.3. Células troncales embrionarias	17
III.3.1. Fuentes de obtención de células troncales embrionarias	
III.3.2. Diferenciación de las células troncales embrionarias	
III.3.3. Empleo terapéutico de las células troncales embrionarias	
III.4. Células troncales adultas	21
III.4.1. Desdiferenciación y transdiferenciación celular	
III.4.2. Fuentes de obtención de las células troncales adultas	
III.4.3. Localización y diferenciación de las células troncales adultas	
III.5. El futuro de la investigación sobre células troncales	30
IV. Aspectos éticos de la investigación sobre células troncales	33
IV.1. La ética del Comité de ética	34
IV.2. Reflexiones acerca de la investigación sobre células troncales adultas	38
IV.3. Reflexiones acerca de la investigación sobre células troncales embrionarias	39
IV.4. El problema del estatuto del embrión humano	41
IV.5. Puntos de discrepancia en torno a la investigación sobre células troncales embrionarias	44
V. Aspectos jurídicos de la investigación sobre células troncales	47
V.1. Reflexiones sobre la obtención de células troncales de adultos	48
V.2. Reflexiones sobre la obtención de células troncales de cordones umbilicales, embriones y fetos abortados	49
V.3. Reflexiones sobre la obtención de células troncales de embriones humanos <i>in vitro</i>	50
V.3.1. El marco jurídico de protección del embrión	
V.3.2. Embriones creados para la obtención de células troncales	
V.3.3. La obtención de células troncales a partir de embriones sobrantes de las técnicas de fecundación <i>in vitro</i>	
V.3.4. La obtención de líneas de células troncales embrionarias	
V.4. La realización de investigaciones o de ensayos clínicos con los productos obtenidos a partir de células troncales	59
V.4.1. Las investigaciones y experimentaciones preclínicas	
V.4.2. Los ensayos clínicos con células troncales	
Voto particular	65
ANEXO 1. Fuentes bibliográficas	69
1. Aspectos científicos	69
2. Aspectos éticos	83
3. Aspectos jurídicos	85
ANEXO 2. Listado de expertos externos	89

I. Presentación del informe

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

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

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

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

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

II. Recomendaciones para la investigación sobre células troncales

1. Las investigaciones con células troncales animales deberán ser priorizadas cuando sus resultados sean directamente extrapolables a los que se puedan obtener con células humanas.
2. La investigación con células troncales adultas humanas no genera una problemática ética específica, dado que se obtienen a partir de tejidos adultos. Una situación similar se produce en el caso de la obtención de dichas células a partir de cordón umbilical o de fetos abortados. Considerando el gran potencial plástico de estas células este Comité recomienda que se intensifique la investigación en estos tipos celulares.
3. La investigación que utilice líneas establecidas de células troncales no presenta problemática ética específica.
4. La investigación con células troncales embrionarias humanas sí genera problemas éticos, ya que deben obtenerse a partir de embriones tempranos. Este Comité conoce dicha problemática, y estima que el embrión temprano tiene un valor y merece especial respeto, pero que este valor es ponderable con respecto a otros valores.
5. En nuestro país existen miles de embriones humanos sobrantes de procesos de fecundación in vitro. Considerando el presunto efecto negativo sobre los mismos de la congelación prolongada, así como su posible destrucción una vez superado el plazo establecido por la ley, este Comité recomienda que, frente a la alternativa de la destrucción de los embriones sobrantes, éstos puedan ser empleados para obtener células troncales embrionarias, ya que las investigaciones con estas células pueden generar resultados potencialmente aplicables a la prevención y/o tratamiento de enfermedades graves.
6. La utilización de embriones sobrantes para la derivación de células troncales será aceptable siempre y cuando se atenga a las siguientes condiciones: I) que se disponga del consentimiento informado de los progenitores implicados o, si esto no es posible, de la autorización del centro de reproducción asistida responsable de su custodia de acuerdo con la legislación vigente, II) la investigación debe estar dirigida a aliviar el sufrimiento humano y no responder a meros intereses económicos, III) debe llevarse a cabo exclusivamente en grupos de investigación que demuestren su experiencia en dicha temática de investigación, y IV) el protocolo de investigación debe ser previamente evaluado por los comités de ética pertinentes y estar sometido a un seguimiento exhaustivo por parte de los mismos. En este sentido, se recomienda que un comité nacional controle y supervise estas investigaciones.
7. Es recomendable evitar la acumulación de embriones humanos sobrantes en los centros de reproducción asistida, por lo que habría que reducir al mínimo posible, compatible con las técnicas de fecundación in vitro, su generación y poner mayor énfasis en su catalogación y control. Además, es deseable promover la donación de dichos embriones a las parejas que los precisen con fines de reproducción.

- 8.** La legislación vigente deberá ser modificada a fin de establecer un marco jurídico adecuado en lo referente a la investigación con células troncales procedentes de embriones humanos sobrantes.
- 9.** No se recomienda la creación específica de embriones humanos con el fin directo de generar células troncales para la investigación.
- 10.** La experimentación de cualquier tipo de célula troncal sobre seres humanos debe venir precedida de estudios exhaustivos en modelos animales y llevarse a cabo de acuerdo con la normativa vigente sobre ensayos clínicos y, en general, sobre investigación clínica. Esta normativa deberá ser revisada al efecto de contener disposiciones específicas sobre estas técnicas.
- 11.** Dado que las células troncales adultas y las embrionarias tienen características específicas, este Comité estima que no existe competencia entre ambas investigaciones y recomienda que se realice investigación con ambos tipos celulares.

III. Aspectos científicos de la investigación sobre células troncales

III.1. Las células troncales

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

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

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

En fases posteriores del desarrollo embrionario las células del embrión pierden el carácter totipotente y solamente pueden producir células troncales de tipo pluripotente, capaces de originar cualquier tipo de células del organismo adulto, pero no de generar un organismo completo. En particular, las células de la masa interna del blastocisto no tie-

nen capacidad de generar las membranas y tejidos de soporte para el crecimiento del feto. Al ser incapaces, en condiciones normales de crecimiento, de dar lugar a un individuo completo, estas células tan sólo poseen pluripotencia. Las células con capacidad de formar células troncales pluripotentes están presentes en el embrión humano hasta el día decimocuarto después de la fertilización. Más tarde, el embrión se diferencia en tres capas celulares cada una de las cuales está programada para generar tejidos u órganos concretos con la consiguiente pérdida de pluripotencia de sus células constituyentes. Ahora bien, existe un caso muy especial de células troncales pluripotenciales provenientes de estadios tardíos del desarrollo embrionario. Son las llamadas células troncales germinales y se pueden obtener a partir de las células primitivas de las crestas germinales de fetos abortados, que en la especie humana deben tener una edad entre cinco y nueve semanas de gestación.

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

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

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

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

Esta afirmación viene avalada por evidencias científicas recientes de enorme interés que documentan la posibilidad de reprogramar, en diversos grados, el desarrollo y diferenciación de muchos tipos de células. Por un lado, el experimento que dio lugar a la generación de la oveja clónica Dolly establece la posibilidad de que la transferencia de un núcleo de una célula adulta a un óvulo enucleado, origine una célula totipotente capaz de dar lugar a un organismo completo. El núcleo de las células diferenciadas de los mamíferos conserva, por tanto, esencialmente todas las posibilidades de dirigir el desarrollo.

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

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

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

A efectos de la investigación sobre células troncales, resulta evidente que la fuente biológica para la obtención de las mismas, dependiendo de su clase, deberán ser embriones o tejidos adultos. Una buena parte de la investigación, desarrollada y por desarrollar, sobre células troncales, se apoya en modelos de animales de experimentación. El ratón destaca entre estos modelos experimentales de manera muy relevante, pero hay otros muchos que llegan incluso a los primates no humanos. Asimismo, la investigación sobre células troncales se basa cada vez más en el empleo de materiales de origen humano. De

ahí se derivan las repercusiones éticas y jurídicas de la investigación, especialmente cuando se trata de embriones humanos.

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

III. 3. Células troncales embrionarias

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

III.3.1. Fuentes de obtención de células troncales embrionarias

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

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

post-implantatorio. Estas células troncales, en cultivo y en presencia de suero y ciertos factores, son morfológicamente indistinguibles de las células derivadas de teratocarcinomas o embriones.

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

La partenogénesis supone la estimulación por métodos físicos o químicos del óvulo, cuando su contenido es aún diploide, con el fin de inducir en él la capacidad de programar su genoma para que dirija posteriores divisiones celulares propias del desarrollo embrionario. De nuevo, el cigoto generado por partenogénesis de un óvulo responde a la definición clásica de esta célula en cuanto a su dotación genética y totipotencia. Empleando estímulos, que simulan los efectos de la fertilización del óvulo por el espermatozoide, se ha dirigido artificialmente la partenogénesis de óvulos de diferentes mamíferos como ratones y conejos. Sin embargo, el embrión así generado no ha llegado a desarrollarse más allá de las primeras etapas del estado fetal. Recientemente se ha anunciado la inducción partenogénica de óvulos humanos, sin que el producto resultante alcanzara la estructura de blastocisto con sus masas celulares diferenciadas.

III.3.2. Diferenciación de las células troncales embrionarias

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

opción muy clara de obtener clones de células especializadas con una dotación cromosómica estable que son susceptibles de modificación genética por técnicas de ingeniería genética.

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

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

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

III.3.3. Empleo terapéutico de las células troncales embrionarias

Se ha abordado la posibilidad de emplear células troncales embrionarias para llevar a cabo tratamientos de enfermedades en animales de experimentación. En esta línea se han logrado reparar en ratones deficiencias genéticas en la función de la glía mediante trasplante de células troncales de glía procedentes de líneas celulares embrionarias. Igualmente, utilizando un modelo animal, se ha puesto de manifiesto cómo las neuronas dopaminérgicas, derivadas de células troncales embrionarias, pueden funcionar adecuadamente en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. También se ha descrito la

corrección de la diabetes en ratones con diabetes experimental con células productoras de insulina derivadas de cultivos de células troncales embrionarias. Conviene destacar que todos estos experimentos se consideran preliminares, requieren la inmunodepresión de los ratones para evitar los problemas de rechazo inmunitario y, como se ha señalado, son objeto de controversia.

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

Otra dificultad la plantea la intensa capacidad de crecimiento que presentan estas células troncales, capacidad que se mantiene indefinida como consecuencia del mantenimiento de la telomerasa. Por ello es complicado poder inducir su diferenciación a término y existen riesgos de generación de tumores si son implantadas directamente en un animal. Una publicación reciente documenta cómo el mantenimiento en cultivo de células troncales embrionarias da lugar a pérdidas o reduplicaciones de un gen que codifica una enzima que afecta a la expresión de ciertos genes supresores de tumores. De hecho, líneas celulares obtenidas a partir de embriones tempranos retienen la capacidad de generar teratomas *in vivo*.

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

III.4. Células troncales adultas

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

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

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

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

III.4.1. Desdiferenciación y transdiferenciación celular

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

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

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

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

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

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

a la capacidad de las células de la médula ósea de producir células con las propiedades de hepatocitos, neuronas y cardiomiocitos, dada la facilidad con la que las células de la médula ósea se pueden extraer de donadores y ser utilizadas en la práctica clínica. Ya hace algún tiempo que se llevan a cabo terapias celulares, mediante trasplante de células troncales hematopoyéticas de la médula ósea, por ejemplo, para restablecer funciones inmunológicas en pacientes.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Para caracterizar las células troncales adultas resulta muy importante definir marcadores que puedan informar de su estado de diferenciación, ya que la observación de su morfología es probablemente un criterio insuficiente. Entre estos marcadores cabe destacar a las proteínas de superficie que actúan como receptores, ya que suelen aportar información acerca de la singularidad de cada tipo de célula troncal. La combinación de reactivos específicos para dichos receptores, con los instrumentos de selección de poblaciones celulares, permite discriminar entre poblaciones de células y separar aquellas que responden a determinadas características. También se han utilizado marcadores genéticos que informan del carácter indiferenciado de las células y su inactivación cuando se produce la diferenciación o especialización.

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

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

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

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

En la médula ósea se encuentran células troncales hematopoyéticas, responsables de la formación de todos los tipos de células sanguíneas, así como las células del estroma, un conjunto de células que generan *in vivo* hueso, cartílago, tejido conectivo y la red reticular que soporta la formación de células sanguíneas. El tercer grupo importante de células de la médula ósea lo constituyen las células mesenquimales que también dan lugar a diversos tejidos. A pesar de la muy conocida capacidad de las células hematopoyéticas de la médula ósea de regenerar los elementos celulares de la sangre y del sistema inmunita-

rio, los trabajos realizados para inducir la proliferación *in vitro* de las mismas no han tenido mucho éxito. Proliferan fácilmente *in vivo* pero *in vitro*, normalmente, adquieren un estado especializado de forma espontánea o mueren. Por ello, gran parte de la investigación sobre estas células se ha dirigido al conocimiento de los factores, interacciones célula-célula y célula-matriz que controlan su proliferación y diferenciación *in vivo*. Entre los factores solubles que regulan la diferenciación *in vivo* se pueden citar ciertas citoquinas así como determinadas moléculas de adhesión de la matriz extracelular del estroma de la médula. El interés de estos estudios es poder reproducir las mismas condiciones *in vitro* para multiplicar las células hematopoyéticas sin que se especialicen de forma irreversible, antes de un trasplante.

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

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

Recientemente, se ha puesto de manifiesto la existencia de unas células llamadas mesoangioblastos que derivan de la progenie clonal de una sola célula de la aorta dorsal de un embrión de ratón, o también de vasos pequeños juveniles después de su expansión. Estas células expresan unas proteínas concretas en fases tempranas y tardías y permanecen pluripotentes en cultivo cuando se trasplantan a un embrión de pollo. Cuando se transfieren mesoangioblastos de tipo silvestre a la arteria de un ratón mutante que padece un daño distrófico morfológico y funcional se consigue reparar la lesión sin que se produzca un rechazo inmunológico contra las fibras reconstituidas. Además, se han obtenido mesoangioblastos aislados de vasos pequeños de un ratón juvenil mutante a los que por técnicas de ingeniería genética se les ha añadido *in vitro* la copia silvestre del gen mutado. Estos mesoangioblastos “reparados molecularmente” reconstituyen músculo cuando se inyectan en la arteria femoral de ratones mutados. La suma de estos resultados representan los primeros intentos, con éxito, de tratamiento experimental de una miopatía con una nueva clase de células autólogas.

Otro grupo de células, que está adquiriendo cada vez más protagonismo por su plasticidad *in vitro*, son las células mesenquimales que están presentes en diversos tejidos humanos durante el desarrollo y prevalecen en la médula ósea del adulto. Las células mesenquimales no sólo pueden dar lugar a varios linajes celulares que conducen *in vitro* a la generación de células diferenciadas típicas de mesodermo visceral, neuroectodermo y

endodermo. La demostración de la plasticidad de las células progenitoras mesenquimales se ha basado en su multiplicación estable en cultivo y su incorporación funcional a la estructura del blastocisto. Se ha comprobado que estas células contribuyen a la formación de la mayor parte si no de todos los tipos celulares somáticos. Cuando se trasplantan a un organismo no irradiado se observa que las células se insertan y diferencian a células de linaje hematopoyético, a epitelio del hígado, pulmón e intestino. La inserción aumenta cuando las células se insertan en un organismo que ha sido sometido a una irradiación mínima.

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

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

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

Seis de cada diez células diferenciadas en el cuerpo son células epiteliales. Son las responsables de cubrir las superficies externas e internas incluyendo los vasos y otras cavi-

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

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

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

Un sistema todavía no explorado de forma satisfactoria es la transformación de células troncales somáticas o embrionarias de animales modelo para su trasplante a otros orga-

nismos. En este sentido, se ha demostrado que se pueden obtener células dopaminérgicas de la zona ventral del mesencéfalo de fetos clonados bovinos de cincuenta días y que se pueden trasplantar a ratas inmunosuprimidas que padecen la enfermedad de Parkinson, consiguiendo una mejoría en los síntomas fisiológicos de la dolencia experimentada por estos animales.

Así pues, se puede afirmar que el desarrollo embrionario genera sistemas de células progenitoras a partir de las cuales se diferencian los distintos tejidos, y que esas células progenitoras (o células troncales) existen en el organismo adulto. El problema mayor por el momento es identificarlas y expandirlas de manera que generen poblaciones de células homogéneas *in vitro*. Entre los factores más importantes que habrá que determinar, antes de que la diferenciación *in vitro* de células troncales pueda llevarse a la práctica clínica, se deben mencionar los marcadores específicos de diferenciación. Estos marcadores permitirán comprobar si la población de células generadas es uniforme. En el caso de que la diferenciación no sea homogénea se deberá plantear la selección de las células adecuadas. Otra forma alternativa de propagar de forma homogénea las células troncales sería su inserción en el tejido con objeto de lograr su expansión homogénea promovida por el nicho o su movilización *in vivo* a los lugares que se requiera.

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

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

Como se indicó al comienzo de este informe, la investigación sobre células troncales constituye una temática de investigación de enorme actualidad y relevancia en el campo de la biomedicina, ya que del conocimiento fundamental que debe proporcionar pueden derivarse aplicaciones importantes. Los fundamentos y objetivos de estos estudios se centran en conocer el control de la multiplicación y la diferenciación en los mamíferos, cuyo organismo se genera por multiplicaciones sucesivas de una célula única, de la que surge una progenie celular con una gran variedad de especializaciones fenotípicas, constitutivas de sus diferentes órganos y tejidos. Sólo del conocimiento de la multiplicación y diferenciación de las células de los mamíferos, puede surgir la posibilidad de intervenir en estos procesos a través del cultivo celular, en condiciones de laboratorio, que permitan controlar la generación de los tipos celulares más diversos.

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

En la respuesta a estas preguntas pueden estar las bases de una medicina reparativa o regenerativa que conduzca a la corrección de alteraciones en tejidos y órganos, originadas por procesos patológicos de la más diversa índole. Por ello se hace necesario seguir las investigaciones. Pero para ello habrá que considerar que la investigación sobre células troncales constituye un todo unitario en el que las preguntas fundamentales sobre el control de la multiplicación y diferenciación, se pueden materializar en numerosos fenómenos concretos que han de ser objeto de análisis. Muchos de los avances que se registren descansarán sobre el empleo de modelos de experimentación animal, entre los que destaca el ratón. Una buena parte de la experimentación sólo cabe hacerla en modelos animales, por lo que éstos han de seguir siendo objeto de atención en aras de la generación de nuevo conocimiento. Cabe destacar los modelos que pueden desarrollarse en primates que, en algunos casos, podrían suponer la alternativa más adecuada a la experimentación humana.

En cuanto a la posible aplicación terapéutica de las células troncales es necesario indicar que estamos en una etapa de investigación, no de aplicación de tratamientos consolidados, y que cualquier prueba próxima o futura, sobre aplicación terapéutica de células

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

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

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

IV. Aspectos éticos de la investigación sobre células troncales

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

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

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

La primera parte se refiere al tipo de ética desde el que debe evaluarse moralmente la corrección de las investigaciones en una sociedad pluralista, que ha accedido al nivel posconvencional en el desarrollo de la conciencia moral social, como es el caso de España y el de las sociedades que comparten con ella el legado de la cultura occidental. En la segunda, se trata de evaluar concretamente las investigaciones sobre células troncales humanas desde el punto de vista de los principios y valores éticos a los que haya sido posible acceder al considerar el núcleo de la ética cívica de las sociedades pluralistas.

IV.1. La ética del Comité de ética

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

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

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

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

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

Las cuestiones morales de justicia no son subjetivas, una mayoría de subjetividades no compone intersubjetividad. Tampoco son objetivas, en el sentido en que pueden serlo las proposiciones científicas que, aún siendo interpretaciones de hechos que ya incluyen valores, pretenden referirse a estados de cosas. Las cuestiones morales de justicia pretenden formalmente intersubjetividad. De ahí que un Comité Asesor del Gobierno de la

nación deba esforzarse por encontrar esos mínimos que ya se comparten y sacarlos a la luz, ampliando al máximo los acuerdos de fondo, para lo cual es indispensable entablar un amplio debate, convenientemente nutrido de una sólida información.

Para valorar éticamente una determinada práctica, una comisión de bioética debería seguir al menos los siguientes pasos: I) describir en profundidad los distintos aspectos de la práctica desde el punto de vista científico, como se ha hecho en este informe; II) tratar de sacar a la luz y formular los valores éticos que ya comparten los distintos grupos sociales con respecto a ella; III) desvelar los principios éticos que orientan tales valores; IV) indagar en la orientación de las actuaciones concretas hasta dónde es ya real el acuerdo y dónde empiezan las desavenencias; V) abrir un amplio debate sobre los puntos sobre los que existe desacuerdo; VI) intentar llegar al menos al punto en que todas las posiciones parecen moralmente respetables; y VII) ofrecer recomendaciones para la actuación concreta desde la posición mayoritaria, pero dejando obviamente constancia de las discrepancias.

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

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

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

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

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

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

Tales valores éticos y actitudes compartidos, de suma relevancia, son los siguientes: I) el respeto a la vida humana desde la etapa de embrión, en el sentido de que la vida humana desde la etapa de embrión merece un especial respeto, que no merecen otros organismos vivos; II) el valor intrínseco de intentar aliviar el sufrimiento humano por medio de investigaciones que vayan dirigidas en ese sentido; III) el valor de la libertad de investigación, siempre que no atente contra derechos humanos, es decir, siempre que exista conciencia de que el poder técnico no coincide con el poder ético; y IV) el valor de la libertad y, por tanto, su defensa, en este caso, la libertad de las parejas afectadas y, por tanto, la necesidad de pedir su consentimiento, tras una información suficiente.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

En lo que se refiere, en concreto, al tipo de respeto y a la protección legal que merece el embrión temprano pueden distinguirse al menos tres tendencias en el contexto actual de la bioética. Desde la perspectiva de la primera tendencia, un embrión *in vitro* debe protegerse como persona desde que el óvulo ha sido fecundado como ser humano porque desde ese momento debe ser tenido como realidad personal. Desde esta perspectiva, la investigación con embriones está prohibida y, por consiguiente, la derivación de células troncales a partir de ellos, aún en el caso de que la alternativa fuera la destrucción.

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

condiciones puede hacerse éticamente depende del grado de respeto que se entiende que merece el embrión.

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

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

IV.4. El problema del estatuto del embrión humano

El problema del estatuto del embrión humano puede considerarse al menos desde una triple perspectiva: la ética, la biológica y la ontológica. Desde un punto de vista ético, la cuestión central consiste en aclarar desde cuándo puede empezar a hablarse de realidad personal, porque entonces se trata de un ser al que se reconoce dignidad. El predicado “digno” no es un predicado descriptivo, sino evaluativo. Esto significa que en la descripción biológica u ontológica de un ser, de “lo que es”, no puede entrar el predicado “digno”, porque no es un predicado de ser, sino de valor. La cuestión entonces es que reconocemos el valor de dignidad a determinados seres, que presentan unas características tales que instrumentalizarlos es ir en contra de ellos. Por eso entendemos que son dignos de respeto y de empoderamiento. Ese respeto significa que esos seres tienen un valor prioritario con respecto a cualquier otro valor.

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

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

Por lo que hace al proceso de desarrollo biológico, es importante distinguir tres aspectos. El primero de ellos es la continuidad, que imposibilita distinguir con exactitud entre el “antes” y el “después”. En segundo lugar, la continuidad o gradualidad de los procesos biológicos que es compatible con la emergencia instantánea de propiedades nuevas, cualitativamente diferentes a las existentes en el momento anterior. Y, en tercer lugar, el todo biológico no es igual a la suma de las partes. El ciclo vital de un ser humano se inicia a partir del cigoto, formado por la fecundación de los gametos masculino y femenino. Según algunos autores, el proceso de individualización de la nueva vida humana, iniciado en la fecundación, está relacionado con las propiedades de unicidad y de unidad. También con el aspecto de la mismidad o identidad genética, que es la capacidad genética del organismo de distinguir lo propio de lo extraño. Habría que añadir el aspecto embriológico del desarrollo embrionario en referencia al individuo nacido y el problema filosófico de la suficiencia constitucional desde el punto de vista ontológico.

La pregunta científica, la pregunta biológica, es cuándo la nueva vida humana está individualizada de forma que no pueda dar lugar a otra vida humana individualizada, es decir, posea las características de unicidad y unidad, porque su constitución sea ser intrínsecamente uno y único. Esta limitación de la capacidad de ser vario parece comen-

zar con la anidación. Aunque hay casos en que esto no es tan claro, pues no se puede descartar que después de la anidación se desprendan algunas células y éstas den lugar a otro individuo, por estar situadas en el nicho apropiado.

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

Ahora bien, si existe un amplio consenso científico en reconocer que la vida humana empieza con la fecundación, para responder a la cuestión de cuándo la vida humana es vida personal no basta el punto de vista biológico, sino que es preciso tener en cuenta consideraciones ontológicas. La cuestión de cuál sea el estatuto del embrión desde un punto de vista ontológico sigue siendo ampliamente debatida, también en nuestro país. También aquí se perfilan distintas posturas, que podrían tal vez sintetizarse en dos. La primera perspectiva sería la que podríamos denominar “tradicional”. Según este punto de vista, el ser humano personal se encuentra en el cigoto en potencia desde el momento de la fecundación. No es persona en acto, pero sí en potencia tendente al acto. Esta posición se entiende en el horizonte de la filosofía griega, que es el del cambio, y concretamente en el contexto aristotélico. Si los cambios que se producen en la naturaleza no consisten en actos de aniquilación y de creación, sino efectivamente de cambio, debe haber algo permanente a través de los cambios, algo subyacente que explique la conexión entre potencia y acto, de modo que en cada momento del proceso debe estar de algún modo prefigurado en potencia lo que después se convertirá en acto. Evidentemente qué estaba en potencia se entiende desde su actualización posterior. El ser en potencia tiende necesariamente a su télos, que es su actualización. En el óvulo fecundado ya está presente en potencia el individuo personal, en un proceso en el que es imposible marcar un momento del que se pueda decir que antes no estaba ya prefigurado. Si no hay una intervención o condicionamiento externos en sentido contrario, llega a término.

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

en continuidad, en el que en tiempos definidos se originan novedades. El individuo permanece el mismo en un continuo durante todo el proceso de desarrollo, pero experimenta cambios que colocan a la entidad “el mismo” en escalas de constitución diferente: no permanecerá siempre lo mismo.

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

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

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

En lo que se refiere a la utilización de embriones humanos para derivar células troncales, se presentan obviamente distintos argumentos a favor y en contra. Entre los argumentos en contra se pueden espigar los siguientes. En primer lugar, quienes consideran que el embrión tiene el estatus de persona desde la concepción se pronuncian en contra de la investigación con embriones considerándola intrínsecamente inmoral. Desde esta perspectiva, no se puede admitir ningún procedimiento experimental que comporte la destrucción de embriones. El embrión tiene los mismos derechos que el niño ya nacido. Un segundo argumento consiste en afirmar que la utilización del embrión humano supone su instrumentalización y, por lo tanto, la vida humana se convierte en “commodity”. En tercer lugar, se entiende que si está permitida la clonación de tejidos, esto podría llevar a la clonación de humanos, puesto que las técnicas son las mismas. Habría que poner límites y controles claros de lo que está permitido. Sin una legislación clara no se podrá detener la clonación reproductiva. En cuarto lugar, si se permite la investigación con embriones sobrantes de fecundación *in vitro*, parece imposible detener la tendencia a provocar la existencia de embriones sobrantes. Por último, permitir la investigación abre un camino difícil de controlar, que es el de la investigación con seres humanos no nacidos, que podría ir en el futuro más allá de los catorce días.

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

Por otra parte, grupos de pacientes con enfermedades graves afirman que no es ético privarles de la posibilidad de que se investigue sobre células troncales embrionarias, ya que

con ello podría llegarse a aliviar su sufrimiento, y lo consideran un derecho. En este punto, sin embargo, existe una responsabilidad por parte de los medios de comunicación de no crear expectativas sin un rigurosísimo fundamento. Por último, se entiende que es preciso evitar la “pendiente resbaladiza”, como en tanto otros casos, con responsabilidad, reflexión y control. Más vale que las investigaciones estén permitidas y legalmente controladas que dar por buena una situación de descontrol en la actuación con los embriones sobrantes.

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

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

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

V. Aspectos jurídicos de la investigación sobre células troncales

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

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

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

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

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

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

La obtención de estas células, a salvo de las de la sangre y hemoderivados, que tienen su regulación propia, está sometida al régimen jurídico relativo a la utilización de tejidos humanos; en concreto resulta aplicable el Real Decreto 411/1996, de 1 de marzo, por el que se regulan estas actividades. A los solos efectos de acreditar su aplicabilidad baste con recordar que dicho real decreto regula “todas las actividades relacionadas con la obtención y utilización clínica de los tejidos de origen humano”, así como otras relacionadas instrumentalmente (artículo 1), y que contiene una definición de tejido humano tan amplia que no cabe duda de que se incluyen asimismo las células troncales: “Todas las partes constituyentes del cuerpo humano, incluyendo los residuos quirúrgicos y las células. También se incluyen los productos que incorporen tejidos o células de origen humano o deriven de ellos” (artículo 2.1).

El principal requisito para poder proceder a la extracción de células de donantes vivos recae sobre el consentimiento (artículo 7), además del cumplimiento de otras obligaciones relacionadas con la confidencialidad (artículo 3) y la gratuidad de estas donaciones (artículo 5). Los centros sanitarios de obtención de células y los de implantación deberán contar con la autorización previa del órgano competente de la correspondiente comunidad autónoma.

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

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

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

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

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

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

El problema jurídico con el que se enfrenta la creación de embriones tempranos con un desarrollo no superior a los catorce días para obtener de ellos células troncales es doble: comporta la creación de éstos para un fin no reproductivo, la investigación y, en segundo lugar, podrán obtenerse no sólo por fecundación gamética sino también mediante técnicas de transferencia nuclear. Por su parte, la utilización de células de embriones supernumerarios o sobrantes de las técnicas de reproducción asistida abre unos análisis en parte diferentes.

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

V. 3.1. El marco jurídico de protección del embrión

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

El ordenamiento jurídico español no reconoce al *nasciturus* (embrión implantado y feto humanos), ni al embrión *in vitro*, la condición de persona ni la de sujeto de derechos y obligaciones, lo cual ocurre después del nacimiento de acuerdo con las prescripciones del

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

En el ordenamiento jurídico español es posible distinguir, además, la incidencia de diversas fases o estadios en el desarrollo de la vida humana, teniendo en cuenta aquellos momentos o estadios que son relevantes para determinar la capacidad de continuar y culminar ese mismo proceso de desarrollo vital. Podrá parecer artificioso tal procedimiento de diferenciación, pues no cabe duda de que la vida humana es desde que ocurre la concepción natural un continuo biológico en constante evolución y desarrollo. Pero el derecho debe operar frecuentemente también de este modo en otros ámbitos de la vida social que somete a su foco de atención, seccionando la realidad para así poder captarla mejor y poder proceder a continuación a las valoraciones que le son características. En resumen, el derecho puede matizar su valoración jurídica sobre cada una de las fases o etapas de la vida prenatal, materializándose en una protección jurídica de diferente intensidad para cada una de ellas, en atención a la culminación de esas etapas.

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

No obstante, el embrión *in vitro* es una realidad a la que, como se apuntaba más arriba, no debe ser completamente ajena el derecho, que debe ofrecer a la vida del embrión sus mecanismos apropiados de protección, en la medida en que constituye una forma de vida humana y puede dar lugar al nacimiento de un ser humano. Del derecho se requiere que ofrezca algún medio de protección a esa forma de vida humana, pero, sobre todo, que si

existe un proyecto procreativo cierto respecto a ese embrión, garantice que no será objeto de intervenciones que puedan poner en peligro la integridad o identidad del nuevo ser, sin perjuicio de que se pondere la oportunidad de admitir concretas excepciones, también discutidas, en beneficio del propio individuo (fines terapéuticos o de prevención de enfermedades) o de terceros, si en este último supuesto tal proyecto procreativo no puede satisfacerse.

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

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

Algunos especialistas entienden que esta vía de protección jurídica del embrión *in vitro*, y en general de toda forma de vida humana prenatal, es insuficiente, y por ello debería reforzarse, elevando todas sus fases vitales como supuestos de personalidad y de titularidad de derechos, modificación que podría hacerse sin dificultades, al tratarse de una creación jurídica. De acuerdo con lo que se expuso más arriba esta propuesta va más allá del marco constitucional, pero no es, ciertamente, incompatible con él. Sin embargo, otros especialistas han recordado que esta modificación tendría un difícil encaje tanto en rela-

ción con los atributos que se han venido confiriendo casi de forma universal en el tiempo y en el espacio a dichas categorías jurídicas como respecto a su propia operatividad en relación con la vida prenatal. Además, no reflejaría coherentemente las valoraciones jurídicas que se han venido proyectando tradicionalmente sobre la misma y las que, en particular, se han ido dibujando más recientemente en torno al embrión *in vitro* que, en todo caso, sería preferible construir otra categoría jurídica específica, como la que se ha mencionado más arriba.

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

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

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

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

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

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

En el ámbito internacional apenas se han dado pasos claros para definir el marco jurídico de la investigación con embriones o sus células. La Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y los derechos humanos, de 1997, no toma posición

al respecto, aunque rechaza la clonación humana reproductiva, por ser contraria a la dignidad humana. En el seno de las Naciones Unidas se está trabajando sobre un convenio con el propósito de prohibir la clonación con tales propósitos, pero es incierto en estos momentos si incluirá finalmente también la llamada clonación “terapéutica”.

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

La experimentación con embriones *in vitro* aparece recogida en estos términos: “1. Cuando la experimentación con embriones *in vitro* esté admitida por la ley, ésta deberá garantizar una protección adecuada del embrión. 2. Se prohíbe la constitución de embriones humanos con fines de experimentación” (artículo 18). Centrando la atención ahora en el segundo párrafo del artículo 18, no cabe duda de que establece la prohibición de que se creen embriones humanos *in vitro* con el objetivo de experimentar con ellos. Del conjunto del Convenio y del Protocolo al mismo sobre clonación humana de 1998 se deduce un abanico de principios valorativos en torno al embrión humano *in vitro*, que podría constituir el germen de su estatuto jurídico, pendiente de desarrollo por medio de un nuevo Protocolo.

Se ha defendido en alguna ocasión que en este conjunto valorativo del Convenio es admisible, puesto que, además, no se prohíbe expresamente, la creación de embriones humanos con fines terapéuticos directos, como sería el caso de obtener células troncales. Tal conclusión se sustentaría en el nivel valorativo inferior que comportaría dicha finalidad frente al límite prohibitivo máximo constituido por la creación de embriones con fines de experimentación y por la propia clonación reproductiva. El Convenio no prohibiría la creación de embriones con el fin directo e inmediato de mejorar la salud o salvar la vida de una persona, al tratarse de una actividad radicalmente diferente a la de la experimentación, y habría reconocido primacía al interés de la vida del embrión frente al interés colectivo que supone la promoción de ciertos sectores de investigación, pero no en relación con la salud y la vida de personas concretas. En cualquier caso, esta interpretación ha encontrado posiciones tanto contrarias como coincidentes y comporta reflexiones éticas de especial calado.

La importancia de este Convenio es evidente, pero lo es más aún para el ordenamiento jurídico español, al formar parte del mismo desde el 1º de enero de 2000. Por consiguiente, sin perjuicio de las adaptaciones legales que deba acometer el legislador, el alcance del artículo 18 es relevante para el derecho interno. En el derecho español, la Ley 35/1988, ya mencionada, impone estrechas limitaciones a la investigación o experimentación con embriones *in vitro*. Por lo pronto, está prohibida “la fecundación de óvulos humanos con cualquier fin distinto a la procreación humana” (artículo 3). Esta prohibición ha sido elevada con posterioridad, en sus mismos términos, al rango de infracción penal, pues constituye delito desde la entrada en vigor del Código penal de 1995 (artí-

culo 161.1; pena: prisión de uno a cinco años e inhabilitación especial para empleo o cargo público, profesión u oficio de seis a diez años), lo que significa que no pueden crearse embriones *in vitro* con destino directo para la investigación.

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

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

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

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

La previsión legal de la crioconservación de embriones humanos en un contexto procreativo comporta que la ponderación del interés del bienestar de la paciente frente al riesgo de que queden embriones sobrantes se ha resuelto a favor de aquélla, es decir, la resolución de este conflicto mediante la oportuna ponderación de todos los intereses en juego significa que para el ordenamiento jurídico que así lo haya establecido son más valiosos los intereses representados por la mujer paciente que los que se refieren al embrión, incluso aunque implique el riesgo de que no pueda ser destinado al inicial propósito reproductivo.

Varias legislaciones contemplan expresamente la investigación con embriones sobrantes. Ejemplos de ello son Finlandia (Ley nº 488/1999), los Países Bajos (Ley sobre embriones, en vigor desde el 1º de septiembre de 2002) y Suecia (Ley nº 1991:115), aunque se

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

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

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

En el derecho español está permitida la crioconservación de embriones con fines reproductivos por un período máximo de cinco años (artículo 11.3 de la Ley 35/1988), lo que significa al mismo tiempo que no está excluida legalmente la posibilidad de que se de lugar a embriones sobrantes, por ejemplo, si se produjo el fallecimiento de los progenitores, su separación o su renuncia al proyecto procreativo, y que, transcurrido aquel plazo sin haberse sustanciado su destino procreativo, deberán ser descongelados o, lo que es lo

mismo en cuanto a su efecto, destruidos. De forma similar lo entendió la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida en su primer informe de diciembre de 1998, al considerar que agotado dicho plazo, debería procederse a su descongelación o a otras medidas legalmente posibles.

Sobre esta cuestión de la crioconservación de embriones y de la eventual existencia de embriones supernumerarios o sobrantes, el Tribunal Constitucional ha señalado en su sentencia 116/1999, fundamento jurídico nº 11 que “de la Constitución no se desprende la imposibilidad de obtener un número suficiente de preembriones necesario para asegurar, con arreglo a los conocimientos biomédicos actuales, el éxito probable de la técnica de reproducción asistida que se esté utilizando, lo que, desde otra perspectiva, supone admitir como un hecho científicamente inevitable la eventual existencia de preembriones sobrantes. Así entendida, la crioconservación no sólo no resulta atentatoria a la dignidad humana, sino que, por el contrario y atendiendo al estado actual de la técnica, se nos presenta más bien como el único remedio para mejor utilizar los preembriones ya existentes, y evitar así fecundaciones innecesarias”.

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

En resumen, la experimentación con embriones humanos *in vitro* sólo está permitida por la Ley en España cuando aquellos son inviables. Para la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida, en su informe de 2000, el significado legal de “no viable” aplicado a los embriones es de índole biológica, en el sentido de que no sean aptos para iniciar o continuar el proceso de división celular. En efecto, en diversos pasajes de la Ley 35/1988, la palabra “viabilidad” parece tener unívocamente este sentido. Así los artículos 12, 13.2, 15.3, 17, 20.2, B, I) indican que no pueden ser considerados legalmente inviables los embriones crioconservados que por diversos motivos o circunstancias, personales o sociales relacionados con los progenitores, no pueden ser destinados a la reproducción (inviabilidad funcional), pues sería una interpretación claramente enfrentada al espíritu y a la letra de la Ley, con independencia del juicio que merezca esta conclusión.

Significa esto que cualquier pretensión de extender la experimentación con células de embriones sobrantes de cualquier tipo pasa necesariamente por la reforma de los preceptos correspondientes, en particular de los artículos 15, 16 y 17 de la Ley 35/1988. Por otro lado, el artículo 11 de esta ley no ha parecido suficientemente claro a los miembros de la comunidad científico-sanitaria, los más inmediatos destinatarios de la ley, en con-

creto sobre cómo proceder una vez transcurrido el período máximo de cinco años de congelación, y qué sentido preciso contiene la disposición de que “pasados dos años de crioconservación de gametos o preembriones que no procedan de donantes, quedarán a disposición de los bancos correspondientes” (artículo 11.4, con el que, por cierto, parece estar en contradicción el artículo 12.1, b, 2º del RD 413/1996, de 1º de marzo), aparentemente no muy armónica con los artículos anteriormente citados en relación con los consentimientos de los progenitores y, en su caso, de los donantes. Por lo tanto, estas revisiones vienen exigidas, además, por la seguridad jurídica, a la vista de las discusiones interpretativas que han suscitado los referidos preceptos.

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

V.3.4. La obtención de líneas celulares embrionarias

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

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

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

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

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

V.4.1. Las investigaciones y experimentaciones preclínicas

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

Por lo que se refiere a la donación de células o de tejidos de vivo se establece que sólo podrá tener “finalidad terapéutica...”, sin perjuicio de las investigaciones adicionales que puedan realizarse adicionalmente, mientras que la obtención de tejidos de fallecidos podrá ser también con fines científicos (artículo 6 del Real Decreto 411/1996, de 1º de marzo, por el que se regulan las actividades relativas a la utilización de tejidos humanos). Esta limitación se concilia mal con el contexto específico de la investigación sobre células troncales, pues en realidad el acto de extracción es inocuo en principio, según se apuntó más arriba, y a la larga se pretende favorecer a los propios donantes, en cuanto potenciales receptores de las líneas celulares y beneficiarios de estos tratamientos. Por tal motivo, y sin perjuicio de que deban ser satisfechos los demás requisitos reglamentarios, debe ahondarse en el verdadero espíritu de la siguiente aclaración reglamentaria: “...es decir, con el propósito de favorecer la salud o las condiciones de vida de su ulterior receptor o receptores, sin perjuicio de las investigaciones que puedan realizarse adicionalmente” (continuación del artículo 6, citado más arriba); en el sentido de que las muestras que aporta el donante podrán beneficiarle a él mismo. Pero no se oculta cuán frecuentes son las asperezas jurídicas que se van detectando ante prácticas de las que apenas se discute su licitud ética y jurídica, pero que ponen de relieve, una vez más, el desa-

juste al que se enfrentan las reglas jurídicas ante nuevos escenarios científicos. Afortunadamente, más adelante podrá comprobarse que las investigaciones clínicas disponen de otra vía jurídica que no se ve entorpecida por ésta.

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

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

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

V.4.2. Los ensayos clínicos con células troncales

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

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

De acuerdo con lo señalado más arriba, el Convenio sobre derechos humanos y biomedicina en vigor en España nos ofrece asimismo un marco general: “La investigación cien-

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

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

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

La reflexión anterior no significa que la investigación clínica sobre células troncales carezca en estos momentos de un régimen jurídico que le sea aplicable. La normativa vigente sobre ensayos clínicos no es incompatible ni excluye que pueda ser asimismo aplicable, directamente o por analogía, a otras modalidades de investigación clínica,

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

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

En consecuencia, la aplicación de la normativa vigente sobre ensayos clínicos a los que se realicen con células troncales es además preferible a la relativa a los trasplantes de órganos y de tejidos por el conjunto de garantías que establece para los pacientes y la mayor claridad de las pautas de comportamiento que aporta a los investigadores, para sus respectivas confianza y seguridad. Como principios rectores de los ensayos clínicos se señala que éstos habrán de realizarse en condiciones de “respeto a los derechos fundamentales de la persona y a los postulados éticos que afectan a la investigación biomédica con seres humanos”, aludiéndose a este respecto explícitamente la vinculación a la Declaración de Helsinki y la necesidad de obtener y documentar el consentimiento informado, libremente expresado de cada uno de los sujetos del ensayo antes de su inclusión (artículo 60.2 y 4 de la Ley 25/1990 y artículo 10.2 del Real Decreto 561/1993). No menos importante es la exigencia de que los ensayos clínicos habrán de contar, antes de

poder ser realizados, con el “informe previo del correspondiente Comité Ético de Investigación Clínica” (artículo 10.1), al que se aludía más arriba, así como que “los datos preclínicos sobre el producto en estudio sean razonablemente suficientes para garantizar que los riesgos para el sujeto en quien se realiza el ensayo son admisibles, que el diseño del estudio minimice los riesgos para los sujetos participantes en el mismo y que la importancia de la información buscada justifique el riesgo al que se exponen los sujetos participantes en el ensayo clínico” (artículo 10.3 del Real Decreto 561/1993).

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

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

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

normativa específica de carácter reglamentario, respecto a la que se halla muy avanzada la preparación de una Directiva comunitaria.

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

Voto particular

Mónica López Barahona

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

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

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

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

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

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

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

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

Premisas previas

- 1) El empleo de los embriones congelados sobrantes de procesos de reproducción asistida para obtener a partir de ellos células troncales embrionarias supone la muerte de los embriones y por ello presenta unas importantes connotaciones éticas. En el punto 2 de las recomendaciones del informe del Comité se mencionan otras fuentes para obtener células troncales embrionarias que no generan una problemática ética; entre ellas fetos abortados. Considero importante puntualizar que sólo el empleo de fetos abortados espontáneamente no genera problemas éticos, pues el inducir un aborto para obtener las células troncales del feto sí los generaría.
- 2) Es imposible saber si el embrión congelado está vivo o muerto tras su congelación. El único modo de determinarlo es descongelándolo.
- 3) El proceso de congelación y descongelación supone una agresión hacia el embrión que puede dañar seriamente su viabilidad y que puede provocar la muerte del embrión.
- 4) No existe un criterio bioquímico que permita definir la viabilidad de un embrión, sin embargo sí existen criterios morfológicos y ritmos anormales de fragmentación embrionaria que permiten declarar un embrión como no viable.
- 5) El embrión no puede mantenerse vivo *in vitro* más allá de su estado de blastocisto, momento a partir del cual necesita transferirse al útero de una mujer para sobrevivir.
- 6) La razón del debate sobre el uso de células troncales embrionarias no es otra -en la actualidad- que el poder investigar con ellas; pues si se tratara de emplearlas con fines terapéuticos, habría que generar embriones inmunológicamente compatibles con el paciente para evitar problemas de rechazo. Este punto se descarta en el apartado 9 del informe del Comité.
- 7) Es necesario conocer el número exacto de embriones congelados sobrantes de España, así como el tiempo que llevan congelados y las condiciones en las que se congelaron para aplicar con rigor la propuesta que se resume a continuación.
- 8) La propuesta que a continuación se plantea tiene como premisa el obtener el consentimiento informado de los padres de los embriones congelados para cualquiera de las alternativas que se plantea.
- 9) La ley 35/88 debe modificarse –al menos- en el ánimo de no generar más embriones de los que se van a transferir, favorecer la congelación de oocitos y definir qué hacer con los ya congelados.

Propuesta

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

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

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

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

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

Anexo 1. Fuentes bibliográficas

1. Aspectos científicos

Altman J.

(1969). Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *J Comp Neurol* 137, 433-457.

Amit M, Carpenter MK, Inokuma M. et al.

(2000). Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture. *Dev Biol* 227, 271-278.

Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL.

(2001). Can stem cells cross lineage boundaries? *Nature Med* 7, 393-395.

Anversa P, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B.

(2002). Myocyte growth and cardiac repair. *J Mol Cell Cardiol* 34, 91-105.

Arney KL, Bao S, Bannister AJ, Kouzarides T, Surani MA.

(2002). Histone methylation defines epigenetic asymmetry in the mouse zygote. *Int J Dev Biol*. 46, 317-320.

Arney KL, Erhardt S, Drewell RA, Surani MA.

(2001). Epigenetic reprogramming of the genome from the germ line to the embryo and back again. *Int J Dev Biol*. 45, 533-40.

Asashima M, Okada TS.

(2001). Spemann's influence on Japanese developmental biology. *Int J Dev Biol* 45, 57-65.

Bach SP, Renahan AG, Potten CS.

(2000). Stem cells: the intestinal stem cell as a paradigm. *Carcinogenesis* 21, 469-476.

Baker RK, Lyons GE.

(1998). Embryonic stem cells and *in vitro* muscle development. *Curr Top Dev Biol* 38, 133-165.

Balakier H, Casper RF.

(1993). Experimentally induced parthenogenetic activation of human oocytes. *Hum Reprod* 8, 740-743.

Barton ER, Morris L, Musaro A, Rosenthal N, Sweeney HL.

(2002). Muscle-specific expression of insulin-like growth factor I counters muscle decline in mdx mice. *J Cell Biol* 157,137-148.

Betts DH, King WA.
(1999). Telomerase activity and telomere detection during early bovine development. *Dev Genet* 25, 397-403.

Bianco, P., Cossu, G.
(1999). Uno, nessuno e centomila: searching for the identity of mesodermal progenitors. *Exp. Cell Res* 251, 257-263.

Billon N, Jolicoeur C, Ying QL. *et al.*
(2002). Normal timing of oligodendrocyte development from genetically engineered, lineage-selectable mouse ES cells. *J Cell Sci Pt18*, 3657-3665.

Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL.
(1999). Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells *in vivo*. *Science* 283, 534-547.

Boheler KR, Czyz J, Tweedie D. *et al.*
(2002). Differentiation of pluripotent embryonic stem cells into cardiomyocytes. *Circ Res* 91, 189-201.

Bradley A, Evans M, Kaufman MH, Robertson E.
(1984). Formation of germ-line chimaeras from embryo-derived teratocarcinoma cell lines. *Nature* 309, 255-256.

Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM.
(2000). From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 290, 1775-1779.

Brenner S, Dave W, Hewrskowitz H, Thomas R.
(1990). Genes and development: molecular and logical themes. *Genetics* 126, 479-486.

Brüstle O, Jones KN, Learish RD., *et al.*
(1999). Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating transplants. *Science* 285, 754-756.

Cai J, Wu Y, Mirua T, Pierce JL, Lucero MT, Albertine KH, Spangrude GJ, Rao MS.
(2002). Properties of a Fetal Multipotent Neural Stem Cell (NEP Cell). *Dev Biol* 251, 221-240.

Campbell KHS, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I.
(1997). Sheep cloned by nuclear transfer from cultured cells line. *Nature* 385, 810-813.

Caplan AI, Bruder SP.
(2001). Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Mol Med* 7, 259-264.

Cervantes RB, Stirnger JR, Shao C. *et al.*
(2002). Embryonic stem cells and somatic cells differ in mutation frequency and type. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 3586-3590.

Clarke D, Frisen J.
(2001). Differentiation potential of adult stem cells. *Curr Opin Genet Dev* 11, 575-580.

Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Frisen J.
(2000). Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 288, 1660-1663.

Colman A, Kind A.
(2000). Therapeutic cloning: concepts and practicalities. *Trends Biotechnol* 18, 192-196.

Costantini LC, Lin L, Isacson O.
(1997). Medial fetal ventral mesencephalon: a preferred source for dopamine neuron grafts. *Neuroreport* 8, 2253-257.

D'Agostino D.
(1994). Proliferation and differentiation of the small intestinal epithelium: from Petri dish to bedside. *It J Gastroenterol* 26, 459-470.

Dani C.
(1999). Embryonic stem cell-derived adipogenesis. *Cells Tissues Organs* 165,173-180.

De Sutter P, Dozortsev D, Creslak J. *et al.*
(1992). Parthenogenetic activation of human oocytes by puromycin. *J Assist Reprod Genet* 9, 328-337.

De Sutter P, Dozortsev D, Vrijens P, *et al.*
(1994). Cytogenetic analysis of human oocytes parthenogenetically activated by puromycin *J Assist Reprod Genet* 11, 332-338.

Devine SM, Bartholomew AM, Mahmud N, Nelson M, Patil S, Hardy W, Sturgeon C, Hewett T, Chung T, Stock W, Sher D, Weissman S, Ferrer K, Mosca J, Deans R, Moseley A, Hoffman R.
(2001). Mesenchymal stem cells are capable of homing to the bone marrow of non-human primates following systemic infusion. *Exp Hematol* 29,244-255.

DiGirolamo CM, Stokes D, Colter D *et al.*
(1999). Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. *Br J Haematol* 107, 275-281.

Doetschman TC, Eistetter H, Katz M. *et al.*
(1985). The *in vitro* development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium. *J Embriol Exp Morphol* 87, 27-45.

Domen J, Weissman IL.

(1999). Self-renewal, differentiation or death: regulation and manipulation of hematopoietic stem cell fate. *Mol Med Today* 5, 201-208.

Drukker M, Katz G, Urbach A. *et al.*

(2002). Characterization of the expression of MHC proteins in human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 9864-9869.

Eguchi G.

(1976). Transdifferentiation of vertebrate cells in cell culture. In: *Embryogenesis in Mammals*. New York: Elsevier. Ciba Foundation Symposium 40, 241-258

Elsasser, W.

(1987). *Reflections on the Theory of Organisms*, Orbis Publishing, Quebec.

Englund U, Bjorklund A, Wictorin K, Lindvall O, Kokaia M.

(2002). Grafted neural stem cells develop into functional pyramidal neurons and integrate into host cortical circuitry. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 17089-17094.

Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH.

(1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4, 1313-1317.

Eto K, Murphy R, Kerrigan SW. *et al.*

(2002). Megakaryocytes derived from embryonic stem cells implicate CalDAG-GEFI in integrin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 2449-2456.

Evans MJ.

(1972). The isolation and properties of a clonal tissue culture strain of pluripotent mouse teratoma cells. *J Embryol Exp Morphol* 28, 163-176.

Evans MJ, Kaufman MH.

(1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292, 154-156.

Goodell MA, Jackson KA, Majka SM, Mi T, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK.

(2001). Stem cell plasticity in muscle and bone marrow. *Ann N Y Acad Sci* 938, 208-218.

Gook DA, Osborn SM, Johnston WI.

(1995). Parthenogenetic activation of human oocytes following cryopreservation using 1, 2-propanediol. *Hum Reprod* 10, 654-658.

Guan K, Chang H, Rolletschek A, Wobus AM.

(2001). Embryonic stem cell-derived neurogenesis. Retinoic acid induction and lineage selection of neuronal cells. *Cell Tissue Res* 305, 171-176.

Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, Buzney EA, Khan MK, Flint AF, Kunkel LM, Mulligan RC.

(1999). Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 401, 390-394.

Hajkova P, Erhardt S, Lane N, Haaf T, El-Maari O, Reik W, Walter J, Surani MA. (2002). Epigenetic reprogramming in mouse primordial germ cells. *Mech Dev* 117, 15-23.

Hardy K, Handsyde AH.

(1996). Metabolism and cell allocation during parthenogenetic preimplantation mouse development. *Mol Reprod Dev* 143, 313-322.

Hashimoto S, Itoh M, Nishimura M, Assai T.

(2002). Effect of filgrastim administration for steady-state mobilization of peripheral blood stem cells. *Ther Apher* 6, 431-436.

Hirose J, Kouro T, Igarashi H, Yokota T, Sakaguchi N, Kincade PW.

(2002). A developing picture of lymphopoiesis in bone marrow. *Immunol Rev* 189, 28-40.

Hogan B, Beddington R, Constantini F, Lacey E.

(1994). *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, edn 2. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Holtzer H.

(1978). Cell lineages, stem cells and the 'quantal' cell cycle concept. In: *Stem cells and tissue homeostasis*. Eds: B.I. Lord, C.S. Potten, and R.J. Cole. (Cambridge, New York: Cambridge University Press).

Hory Y, Rulifson IC, Tsai BC. et al.

(2002). Growth inhibitors promote differentiation of insulin-producing tissue from embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 16105-16110.

Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA.

(2001). Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 107, 1395-1402.

Jacobson L, Kahan B, Djamali A, Thomson J, Odorico JS.

(2001). Differentiation of endoderm derivatives, pancreas and intestine, from rhesus embryonic stem cells. *Transplant Proc* 33, 674.

Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM.

(2002). Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418, 41-49

- Jiang LI, Nadea JH.
(2001). 129/Sv mice – a model system for studying germ cell biology and testicular cancer. *Mammal Genome* 12, 89-84.
- Jones EA, Tosh D, Wilson DI, *et al.*
(2002). Hepatic differentiation of murine embryonic stem cells. *Exp Cell Res* 272, 15-22.
- Kahan BW, Ephrussi B.
(1970). Developmental potentialities of clonal *in vitro* cultures of mouse testicular teratoma. *J Natl Cancer Inst* 44, 1015-1036.
- Karam SM.
(1999). Lineage commitment and maturation of epithelial cells in the gut. *Front Biosci* 15, D286-D298.
- Kaufman MH, Evans MJ, Robertson EJ, Bradley A.
(1984). Influence of injected pluripotential (EK) cells on haploid and diploid parthenogenetic development. *J Embryol Exp Morphol* 80, 75-86.
- Kaufman MH, Robertson EJ, Handyside AH, Evans MJ.
(1983). Establishment of pluripotential cell lines from haploid mouse embryos. *J Embryol Exp Morphol* 73, 249-261.
- Kaufman MH, Sachs L.
(1976). Complete preimplantation development in culture of parthenogenetic mouse embryos. *J Embryol Exp Morphol* 35, 179-190.
- Kawano Y, Takaue Y, Watanabe T, Abe T, Okamoto Y, Iwai A, Iwai T, Watanabe A, Ito E, Makimoto A, Nakagawa R, Watanabe H, Sato J, Suenaga K, Suzuya H, Ohnishi T, Kanamaru S, Kaneko M, Kuroda Y.
(1999). Efficacy of the mobilization of peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor in pediatric donors. *Cancer Res* 59:3321-3324.
- Kim JH, Auerbach JM, Rodríguez-Gómez JA. *et al.*
Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 418, 50-56.
- Kleinsmith LJ, Pierce GB.
(1964). Multipotentiality of single embryonal carcinoma cells. *Cancer Res* 24, 1544-1552.
- Kocher AA, Schuter MD, Szabolcs MJ, Homma S, Edwards NM, Itescu S.
(2001). Neurovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat. Med.* 7, 430-436.
- Krause DS, Theise ND, Collector MI *et al.*
(2001). Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 105,369-377.

Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, Neutzel S, Sharkis SJ.

(2001). Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 105, 369-377.

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

Kuhn HG, Palmer TD, Fuchs E.

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

Lagasse E, Connors H, Al Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M.

(2000). Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nature Med.* 6, 1229-1234.

Lanza R. *et al.*

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

Leblond CP.

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

Levenberg S, Golub JS, Amit M, *et al.*

(2002). Endothelial cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 4391-4396.

Lois C, Alvarez-Buylla A.

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

Lovell-Badge R.

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

Lumelsky N, Blondel O, Laeng P. *et al.*

(2001). Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 292, 1389-1394.

Maddox J.

(1992). Finding wood among the trees. *Nature* 356,11.

Majka SM, Jackson KA, Kienstra KA, Majesky MW, Goodell MA, Hirschi KK.

(2003). Distinct progenitor populations in skeletal muscle are bone marrow derived and exhibit different cell fates during vascular regeneration. *J Clin Invest* 111, 71-79.

Martin GR.

(1981). Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 78, 7634-7638.

Mauro A.

(1961). Satellite cell of eskeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 9, 493-495.

McCreath KJ, Howcroft J, Campbell KH, Colman A, Schnieke AE, Kind AJ.

(2000). Production of gene-targeted sheep by nuclear transfer from cultured somatic cells. *Nature* 405, 1066-1069.

McKay R.

(2000). Stem cells—hype and hope. *Nature* 406, 361-364.

Merrill BJ, Gat U, DasGupta R, Fuchs E.

(2001). Tcf3 and Lef1 regulate lineage differentiation of multipotent stem cells in skin. *Genes Dev* 15, 1688-1705.

Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA, McKercher SR.

(2000). Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science* 290, 1779-1782.

Minasi MG, Riminucci M, De Angelis L, Borello U, Berarducci B, Innocenzi A, Caprioli A, Sirabella D, Baiocchi M, De Maria R, Boratto R, Jaffredo T, Broccoli V, Bianco P, Cossu G.

(2002). The meso-angioblast: a multipotent, self-renewing cell that originates from the dorsal aorta and differentiates into most mesodermal tissues. *Development* 129, 2773-2783.

Mognetti B, Sakkas D.

(1996). Defects in the allocation of cells to the inner cell mass and trophectoderm of parthenogenetic mouse blastocysts. *Reprod Fertil Dev* 8, 1193-1197.

Moore A.

(2001). Body heal thyself. *EMBO Rep* vol. 2.

Morrison SJ.

(2001). Stem cell potential: can anything make anything? *Curr Biol* 11, R7-R9. Skinner JE, Molnar M, Vybiral T, Mitra M. (1992). Application of chaos theory to biology and medicine. *Integ Physiol Behav Sci* 27, 39-53.

Morrison SL, White PM, Zock C, Anderson DJ.

(1999). Prospective identification, isolation by flow cytometry, and *in vivo* self-renewal of multipotent mammalian neural crest stem cells. *Cell* 96, 737-749.

Morshead CM, van der Kooy KD.

(2001). A new “spin” on neural stem cells? *Curr Opin Neurobiol* 11, 59-65.

Muechler EK, Graham MC, Huang KE. *et al.*
(1989). Parthenogenesis in *Xenopus* eggs injected with centrosomes from synchronized human lymphoid cells. *J in vitro Fert Embryo Transf* 6, 335-337.

Musaro A, McCullagh KJ, Naya FJ, Olson EN, Rosenthal N.
(1999). IGF-1 induces skeletal myocyte hypertrophy through calcineurin in association with GATA-2 and NF-ATc1. *Nature* 400, 581-585.

Musaro A, McCullagh K, Paul A, Houghton L, Dobrowolny G, Molinaro M, Barton ER, Sweeney HL, Rosenthal N.
(2001). Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. *Nat Gene.* 27,195-200.

Musaro A, Rosenthal N.
(1999). Maturation of the myogenic program is induced by postmitotic expression of insulin-like growth factor I. *Mol Cell Biol* 19, 3115-3124.

Odorico JS, Kaufman DS, Thomson JA.
(2001). Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines. *Stem Cells* 19,193-204.

Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P.
(2001). Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 410, 701-705.

Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P.
(2001). Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 98, 10344-10349.

Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Bodine DM, Leri A, Anversa P.
Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice; *Ann N Y Acad Sci* 938,221-229.

Osawa M, Hanada K, Hamada H, Nakauchi H.
(1996). Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD 34 low negative hematopoietic stem cell. *Science* 273, 242-245.

Panicker M, Rao M.
(2001). Stem cells and neurogenesis. Marshak, D.R., Gardner, D.K., and Gottlieb, D. eds. (Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press). 399-438.

Penlou LI, Platonou ES, New DA.
(2001). Induced parthenogenesis in oocytes. *in vitro cell der Biol Anim* 37, 440-444.

Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD *et al.*
(1999). Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 284, 1168-1170.

Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284,143-147.

Poliard A, Nifuji A, Lamblin D. et al. (1995). Controlled conversion of an immortalized mesodermal progenitor cell towards osteogenic, chondrogenic, or adipogenic pathways. *J. Cell Biol* 130,1461-1472.

Poole TJ, Finkelstein EB, Cox CM. (2001). The role of FGF and VEGF in angioblast induction and migration during vascular development. *Dev Dyn* 220, 1-17.

Potten CS. (1991). Regeneration in epithelial proliferative units as exemplified by small intestinal crypts. *Ciba Found Symp* 160, 54-71.

Potten CS, Booth C. (2002). Keratinocyte stem cells: a commentary. *J Invest Dermatol* 119, 888-899.

Renard JP, Chastant S, Chesne P, Ricard C. et al. (1999). Lymphoid hypoplasia and somatic cloning. *Lancet* 353, 1489-1491.

Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky, S. et al. (2001). Neural progenitors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 12, 1134-1140.

Rhton-Vlasak A, Lu PY, Barud KM. et al. (1996). Efficacy of calcium ionophore A23187 oocyte activation for generating parthenotes for human embryo resarch. *J Assist Reprod Genet* 13, 793-796.

Risau W, Sariola H, Zerwes HG., et al. (1988). Vasculogenesis and angiogenesis in embryonic-stem-cell-derived embryoid bodies. *Development* 102, 471-478.

Rosenthal MD, Wishnow RM, Sato GH. (1970). *in vitro* growth and differentiation of clonal populations of multipotential mouse cells derived from a transplantable testicular teratocarcinoma. *J Natl Cancer Inst* 44, 1001-1014.

Sachinnidis A, Kolossov E, Fleischmann BK. et al. (2002). Generation of cardiomyocytes from embryonic stem cells experimental studies. *Herz* 27, 589-597.

Saitou M, Barton SC, Surani MA. (2002). A molecular programme for the specification of germ cell fate in mice. *Nature* 418, 293-300.

Schuldiner M, Eiges R, Eden A. *et al.*
(2001). Induced neuronal differentiation of human embryonic stem cells. *Brain Res* 913, 201-205.

Seale, P., and Rudnicki, M.A.
(2000). A new look at the origin, function, and “stem cell” status of muscle satellite cells. *Dev. Biol.* 218, 115-124.

Sekiya I, Larson BL, Smith JR, Pochampally R, Cui JG, Prockop DJ.
(2002). Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality. *Stem Cells* 20, 530-541.

Shamblott MJ. *et al.*
(1998). Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 13726-13731.

Sherly J.
(2002). Asymmetric Cell Kinetics Genes: the key to expansion of adult stem cells in culture. *Stem Cells* 20, 561-572.

Shi Q, Rafi S, Wu MH, Ishidra A, Fujita Y, Sauvage LR, Moore MA, Hammond WD.
(1998). Evidence for circulating bone marrow derived endothelial cells. *Blood* 92, 362-367.

Six I, Gasan G, Mura E, Bordet R.
(2003). Beneficial effect of pharmacological mobilization of bone marrow in experimental cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol* 458, 327-328.

Shimizu N, Asai T, Hashimoto S, Narita M, Kobayashi M, Ito M, Onoda M, Yokota A, Cho R, Nakaseko C, Nishimura M, Saito Y.
(2002). Mobilization factors of peripheral blood stem cells in healthy donors. *Ther Apher* 6,413-418.

Slack JM.
(2000). Stem Cells in Epithelial Tissues. *Science* 287, 1431-1433.

Soria B, Roche E, Berna G. *et al.*
(2000). Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* 49,157-162.

Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T.
(2001). Stem cells find their niche. *Nature* 414, 98-104.

Stevens LC.
(1967). Origin of testicular teratomas from primordial germ cells in mice. *J Natl Cancer Inst* 38, 549-552.

- Stevens LC.
(1967). The biology of teratomas. *Adv Morphogen* 6,1-31.
- Stevens LC.
(1980). Teratocarcinogenesis and spontaneous parthenogenesis in mice. *Results Probl Cell Differ* 11, 265-274.
- Sun XS, Yue KZ, Zhon JB, *et al.*
(2002). *in vitro* spontaneous parthenogenetic activation of golden hamster oocytes. *Therioyenology* 57, 845-851.
- Surani MA, Barton SC, Kaufman MH.
(1977). Development to term of chimaeras between diploid parthenogenetic and fertilised embryos. *Nature* 270, 601-603.
- Takasahi T, Kalka C, Masuda H, Silver M, Magner M, Isner JM, Asahara T.
(1999). Ischemia and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 5, 434-438.
- Tamas V.
(2002). Complexity. *Nature* 418, 131.
- Taylor AS, Brande PR.
(1994). The early development and DNA content of activated human oocytes and parthenogenetic human embryos. *Hum Reprod* 9, 2389-2397.
- Temple S, Alvarez-Buylla A.
(1999). Stem cells in the adult mammalian central nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 9, 135-141.
- Theise S, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, Krause DS.
(2000). Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 32,11-16.
- Thomson JA, Odorico JS.
(2000) Human embryonic stem cell and embryonic germ cell lines. *Trends Biotechnol* 18, 53-57.
- Thomson JA. *et al.*
(1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282, 1145-1147.
- Tichelli A, Passweg J, Hoffmann T, Gregor M, Kuhne T, Favre G, Wodnar-Filipowicz A, Gratwohl A.
(1999). Repeated peripheral stem cell mobilization in healthy donors: time-dependent changes in mobilization efficiency. *Br J Haematol* 106, 152-158.

Toda H, Fabel K, Palmer T.

(2003). Copernican stem cells: regulatory constellations in adult hippocampal neurogenesis. *J Cell Biochem* 88, 41-50.

Verfaillie CM.

(1998). Adhesion receptors as regulators of the hematopoietic process. *Blood* 92, 2609-2612.

Vogel G.

(2000). Cell biology. Stem cells: new excitement, persistent questions. *Science* 2000, 290,1672-1674.

Watt FM, Hogan BL.

(2000). Out of Eden: stem cells and their niches. *Science* 287,1427-1430.

Weissman IL.

(2000). Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 100, 157-168.

Western PS, Surani MA.

(2002). Nuclear reprogramming—alchemy or analysis? *Nat Biotechnol* 20, 445-446.

Wiesneth M, Schreiner T, Friedrich W, Bunjes D, Duncker C, Krug E, Maccari B, Muller S, Nowak S, Kubanek B.

(1998). Mobilization and collection of allogeneic peripheral blood progenitor cells for transplantation. *Bone Marrow Transplant* 21, S21-S24. Kind A, Colman A.

(1999). Therapeutic cloning: needs and prospects. *Semin Cell Dev Biol.* 10, 279-286.

Winston N, Johnson M, Pickeviu S. *et al.*

(1991). Parthenogenetic activation and development of fresh and aged human oocytes. *Fertil Steril* 56, 904-912.

Woodbury D, Reynolds K, Black IB.

(2002). Adult bone marrow stromal stem cells express germline, ectodermal, endodermal, and mesodermal genes prior to neurogenesis. *J Neurosci Res* 69, 908-917.

Xu C, Police S, Rao N. *et al.*

(2002). Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Circ Res* 91, 501-508.

Yamane T, Hayashi S, Mizoguchi M, *et al.*

(1999). Derivation of melanocytes from embryonic stem cells in culture. *Dev Dyn* 216, 450-458.

Yamashita J, Itoh H, Hirashima M, Ogawa M, Yurugi T, Nakao K, Nishikawa S.

(2000). Flk-1 positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors. *Nature* 408, 92-96.

Zappone MV, Galli R, Catena R, Meani N, De Biasi S, Mattei E, Tiveron C, Vescovi AL, Lovell-Badge R, Ottolenghi S, Nicolis SK.

(2000). Sox2 regulatory sequences direct expression of a (beta)-geo transgene to telencephalic neural stem cells and precursors of the mouse embryo, revealing regionalization of gene expression in CNS stem cells. *Development* 127, 2367-2382.

Zawada WM, Cibelli JB, Choi PK, Clarkson ED, Golueke PJ, Witta SE, Bell KP, Kane J, Ponce de Leon FA, Jerry DJ, Robl JM, Freed CR, Stice SL.

(1998). Somatic cell cloned transgenic bovine neurons for transplantation in parkinsonian rats. *Nat Med* 4, 569-574.

Zhang SC, Wernig M, Duncan ID. *et al.*

(2001). *in vitro* differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 12, 1129-1133.

Zhu AJ, Watt FM.

(1999). Beta-catenin signalling modulates proliferative potential of human epidermal keratinocytes independently of intercellular adhesion. *Development* 126, 2285-2298.

Zulewski, H., Abraham, E.J., Muller, B., Vallejo, M., Thomas, M.K., and Habener, J.F.

(2001). Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate *ex vivo* into pancreatic endocrine, exocrine, and hepatic phenotypes. *Diabetes* 50, 521-533.

2. Aspectos éticos

Alonso C.

(1989). Reflexiones sobre cuestiones de vida y muerte: hacia un nuevo paradigma de comprensión del valor ético de la entidad biológica humana en desarrollo. En F. Abel, E. Bone, J.C. Harvey (eds.), *La vida humana: Origen y desarrollo*, Madrid, UPC, pp. 57-81.

Alonso C.

(2002). Terapia génica: realidades y promesas. En J.J. Ferrer y J. L. Martínez (eds.), *Bioética: un diálogo plural*, Madrid, UPC, pp. 331-366.

Comité de Expertos sobre Bioética y Clonación.

(1999). *Informe sobre clonación. En las fronteras de la vida*, Madrid, Fundación de Ciencias de la Salud.

Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida.

(1999). Primer Informe, Madrid.

Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida.

(2000). Segundo Informe: *Investigación con embriones sobrantes*, Madrid.

Committee on the Biological and Biomedical Applications of Stem Cell Research, National Research Council and Institute of Medicine.

(2001). *Stem Cells and the Future of Regenerative Medicine*, National Academy Press, Washington D.C.

Consejo de Europa/Council of Europe. Convenio para la Protección de los Derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina.

(1997). Madrid, Asociación de Bioética Fundamental y Clínica.

Cortina, A.

(1993). *Ética aplicada y democracia radical*, Madrid, Tecnos.

Cortina A.

(2002). Bioética transnacional como quehacer público. En J.J. Ferrer y J. L. Martínez (eds.), *Bioética: un diálogo plural*, Madrid, UPC, pp. 541-554.

European Science Foundation Policy Briefing.

(2001). *Human stem cell research: scientific uncertainties and ethical dilemmas* nº 14.

Gracia D.

(1988). *Fundamentos de Bioética*, Madrid, EUEDEMA.

Gracia D.

(1989) El estatuto del embrión. En J. Gafo (ed.), *Procreación humana asistida*, Madrid, UPC, pp. 79-110.

Grigger BJ, Kaebnick GE.
(1999). Symposium: Human primordial stem cells. En *Hastings Center Report*, 29, 30-48.

Geron Ethics Advisory Board
(1999). Research with human embryonic stem cells: ethical considerations. *Hastings Center Report*, 29, 31-36.

Honnenfelder L.
(1997). Naturaleza y status del embrión. Aspectos filosóficos. *Cuadernos de Bioética* 37, 1034-1047.

Kant, I.
(1946). *La Fundamentación de la Metafísica de las Costumbres*. Espasa Calpe.

Lacadena JR.
(2000). Embriones humanos y cultivo de tejidos: reflexiones científicas, éticas y jurídicas. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 12,191-212

Lacadena JR.
(2002). *Genética y ética*, Madrid, Universidad Pontificia Comillas.

National Bioethics Advisory Commission.
(1999). *Ethical Issues in Human Stem Cell Research*, Executive Summary, Maryland.

Rager G.
(1997). Embrión-hombre-persona. Acerca de la cuestión del comienzo de la vida personal. *Cuadernos de Bioética* 31, 1048-1062.

3. Aspectos jurídicos

AAVV.

(2001). *Genética y Derecho, Estudios de Derecho Judicial*, Consejo General del Poder Judicial, Madrid.

AAVV.

(2003). *Genética y Derecho II, Estudios de Derecho Judicial*, Consejo General del Poder Judicial, Madrid.

Ansuategui FJ.

(1999). Derechos humanos y ensayos clínicos. Derechos y libertades. *Revista del Bartolomé de las Casas* 7, 115-130.

Arruego G, Chueca R.

(2000). Tribunal Constitucional y nuevos escenarios de la biomedicina. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 12, 91-111.

Bellver V.

(1999). El Tribunal Constitucional ante la Ley sobre Técnicas de Reproducción Asistida: una valoración crítica. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 11, 119-144.

Bellver V.

(2000). *¿Clonar? Ética y derecho ante la clonación humana*, Biblioteca de derecho y ciencias de la vida, Servicio de Publicaciones del Ministerio de Sanidad y Consumo y Editorial Comares, Madrid - Granada.

Bustos JE.

(1996). *El Derecho civil ante el reto de la nueva genética*, Dykinson, Madrid.

Chueca R.

(1998). La experimentación con fármacos en humanos: un nuevo escenario para derechos fundamentales. *Revista Aragonesa de Administración Pública* 401-421.

Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida.

(1999). Primer Informe, Madrid.

Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida.

(2000). Segundo Informe: *Investigación con embriones sobrantes*, Madrid.

Comité de Expertos sobre Bioética y Clonación,

1999. *Informe sobre clonación. En las fronteras de la vida*. Instituto de Bioética, Fundación de Ciencias de la Salud, Madrid.

Femenía PJ.

(1999). *Status jurídico del embrión humano, con especial consideración al concebido in vitro*. Madrid

- Friele MB.
(2001). Embryo Experimentation in Europe, Europäische Akademie, Bad Neuenahr-Ahrweiler.
- Gómez Y.
(1994). *El derecho a la reproducción humana*, Madrid.
- Gómez Y.
(2000). *Las mujeres y la delimitación constitucional de la bioética*. En “Mujeres y Constitución en España”. Centro de Estudios Políticos y Constitucionales, Madrid, pp. 623-668.
- González L.
(1998). Comentario a la Sentencia del Tribunal Constitucional 212/1996 de 19 de diciembre de 1996 I. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 9, 183-192.
- González L.
(1999). Comentario a la Sentencia del Tribunal Constitucional 212/1996 de 19 de diciembre de 1996 II. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 10, 157-192.
- Hernández JU.
(2002). La protección penal del embrión preimplantatorio En “Genética y Derecho Penal”, Cátedra Interuniversitaria Fundación BBVA – Diputación Foral de Bizkaia de Derecho y Genoma Humano, Universidad de Deusto y Universidad del País Vasco y Editorial Comares, Bilbao – Granada pp. 109-126.
- Higuera JF.
(1995). *El Derecho Penal y la Genética*, Trivium, Madrid.
- Hidalgo MC.
(2002). *Análisis jurídico-científico del concebido artificialmente*, Bosch, Barcelona.
- Junquera R.
(2000). El embrión humano: una realidad necesitada de protección. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review* 12, 31-45.
- Junquera R.
(1998). *Reproducción asistida, Filosofía ética y Filosofía jurídica*, Tecnos, Madrid.
- Lema C.
(2000). Los problemas pendientes de la regulación jurídica española sobre reproducción asistida: la sentencia del Tribunal Constitucional y el primer Informe de la Comisión Nacional de Reproducción Asistida I. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review*, 12, 47-66.

Lema C.

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

Matthiessen L.

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

Mendizábal R.

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

Observatori de Bioètica i Dret:

(2000). *Documento sobre investigación con embriones*, Barcelona.

Observatori de Bioètica i Pret.

(2001). *Documento sobre células madre embrionarias*, Barcelona.

Pardo J.

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

Pelayo A.

(2002). Bioética y experimentación con seres humanos, Biblioteca de derecho y ciencias de la vida, Editorial Comares, Granada. *Revista de Derecho y Genoma Humano / Law and Human Genome Review*.

(1999). El Tribunal Constitucional español y las técnicas de reproducción asistida 11: Editorial.

Roca E.

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

Roca E.

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

Romeo CM.

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

Romeo CM.

(2002). El Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina. Su entrada en vigor en el ordenamiento jurídico español, Cátedra Interuniversitaria Fundación BBVA – Diputación Foral de Bizkaia de Derecho y Genoma Humano, Universidad de Deusto y Universidad del País Vasco y Editorial Comares, Bilbao – Granada.

Romeo CM.

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

Romeo CM.

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

Romeo CM.

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

Serrano JM.

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

Serrano JM.

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

Vidal J, Benítez IF, Vega AM.

(1998). *Derechos reproductivos y técnicas de reproducción asistida*, Granada.

Vidal J.

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

Vidal J.

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

Anexo 2. Listado de expertos externos

Manuel García Verdugo

Catedrático de Parasitología y Biología Celular, Universitat de València

Yolanda Gómez Sánchez

Catedrática de Derecho Constitucional, Universidad Nacional de Educación a Distancia

Ramón Gomis de Barbarás

Jefe del Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Clínic de Barcelona

Diego Gracia Guillén

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

Juan Ramón Lacadena

Catedrático de Genética, Universidad Complutense de Madrid

Natalia López Moratalla

Catedrática de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Navarra

Manuel López Pérez

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Zaragoza

Encarna Roca i Trias

Catedrática de Derecho Civil, Universidad de Barcelona

Manuel Serrano Ríos

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

José Miguel Serrano Ruiz-Calderón

Profesor Titular de Filosofía del Derecho, Universidad Complutense de Madrid

Agradecimientos:

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

Report / Stem Cell Research
Advisory Committee on Ethics of Scientific
and Technical Research

Advisory Committee on Ethics of Scientific and Technical Research

PRESIDENT

César Nombela Cano

Professor of Microbiology, Complutense University of Madrid

MEMBERS

Carlos Alonso Bedate

Research Lecturer, Severo Ochoa Centre for Molecular Biology, Autonomous University of Madrid-CSIC

Luis Balairón Ruiz

State Meteorologist, National Institute of Meteorology

Francisco Belil Creixell

President of the Business Federation of the Spanish Chemical Industry

Adela Cortina Orts

Professor of Philosophy of Law, Morality and Politics, University of Valencia

Manuel Elices Calafat

Professor of Science and Technology of Materials, Technical University of Madrid

Antonio Fernández-Rañada Menéndez de Luarca

Professor of Electromagnetism, Complutense University of Madrid

Mónica López Barahona

Dean of Biohealth Sciences, University of Francisco de Vitoria

Daniel Ramón Vidal

Professor of Food Technology, University of Valencia

Joan Rodés Teixidor

Director of Research, Clinical Hospital of Barcelona

Carlos M. Romeo Casabona

Professor of Criminal Law, University of the Basque Country

Mateo Valero Cortés

Professor of Computer Architecture, Technical University of Catalonia

Table of contents

I. Presentation of the report	99
II. Recommendations for stem cell research	101
III. Scientific aspects of stem cell research	103
III.1. Stem cells	103
III.2. Recent advances in stem cell research	105
III.3. Embryonic stem cells	106
III.3.1. Sources of embryonic stem cells	
III.3.2. Differentiation of embryonic stem cells	
III.3.3. Therapeutic use of embryonic stem cells	
III.4. Adult stem cells	110
III.4.1. Cellular dedifferentiation and transdifferentiation	
III.4.2. Sources of adult stem cells	
III.4.3. Localisation and differentiation of adult stem cells	
III.5. The future of stem cell research	119
IV. Ethical aspects of stem cell research	121
IV.1. The ethics of the Ethics Committee	122
IV.2. Deliberations on research involving adult stem cells	125
IV.3. Deliberations on research involving embryonic stem cells	126
IV.4. The question of the status of the human embryo	128
IV.5. Points of discrepancy in research involving embryonic stem cells	131
V. Legal aspects of stem cell research	133
V.1. Deliberations on obtaining adult stem cells	134
V.2. Deliberations on obtaining stem cells from umbilical cords, embryos and aborted fetuses	135
V.3. Deliberations on obtaining stem cells from <i>in vitro</i> human embryos	136
V.3.1. The legal framework for the protection of the embryo	
V.3.2. Embryos created in order to obtain stem cells	
V.3.3. Obtaining stem cells from the surplus embryos of the techniques of assisted reproduction	
V.3.4. Obtaining embryonic stem cell lines	
V.4. Research or clinical trials performed using products obtained from stem cells	145
V.4.1. Preclinical research and experimentation	
V.4.2. Clinical trials with stem cells	
Individual position	150
Annex 1. Bibliographic references	153
1. Scientific aspects	
2. Ethical aspects	
3. Legal aspects	
Annex 2. List of external experts	155

I. Presentation of the report

The Ministry of Science and Technology, through the State Office for Scientific and Technological Policy, has requested this Committee to prepare a report on stem cell research. This involves the detailed analysis of areas of research currently of great relevance, the advance of which may lead to considerable progress both of basic knowledge and of its medical applications. The Committee undertook the preparation of this report convinced that scientific advancement, as a truly humane activity, is of fundamental value to society. For this purpose, the scientific questions involved have been analysed from an ethical point of view and within the present legal framework, which is of undeniable relevance to the values which are under consideration.

The preparation of the report has involved an in-depth analysis of rapidly developing scientific questions, as well as an enquiry into fields of knowledge under continual expansion, but in which numerous aspects are still to be discovered. The biological principles of the questions under consideration are only clearly established in part, making it necessary to maintain an open mind regarding the significance of new findings. The social impact of the questions under consideration is undeniable, justifying the interest and the debate surrounding stem cell research. In view of all the above, the Committee has striven to offer a discussion of this subject and a number of recommendations, in the belief that they may aid scientific progress, also driven by fundamental ethical principles.

The objective of this report is to provide a clear summary of the present situation of stem cell research, the experimental strategies applied, the established facts and concepts and the hypotheses on which future proposals are based (section III of this report). After painstaking deliberation of this scientific field, the Committee has expressed its opinion on the ethical (section IV) and legal (section V) aspects which the regulation of this research by regulatory authorities should aim to promote.

The Committee is responsible for the content of this report. In drawing up this report, conducted in accordance with the procedures employed in its normal mode of function, the committee has taken into account and debated the information available on this subject (annex 1), the opinions expressed by its members and those of a group of external experts who were consulted (annex 2). For the purposes of this consultation, the Committee has approached experts within our country, presumably representative of the differing opinions that are usually apparent in Spanish society.

As already indicated, all of the technical content and considerations of this report are presented in the following sections. In summary, and as a conclusion of these deliberations, this Committee proposes the recommendations which are presented below.

II. Recommendations for stem cell research

1. Research using animal stem cells must be prioritised when the results may be directly extrapolated to those which can be obtained with human cells.
2. Research involving adult human stem cells does not give rise to specific ethical questions, since these cells are obtained from adult tissues. A similar situation occurs when these cells are obtained from the umbilical cord or from aborted fetuses. Considering the great plastic potential of these cells, this Committee recommends that research be intensified on these cell types.
3. Research employing established stem cell lines presents no specific ethical questions.
4. Research involving human embryonic stem cells does give rise to ethical problems, since these cells must be obtained from early embryos. This Committee understands these problems, and believes that the early embryo has a value and is worthy of special respect, but that this value may be weighed against other values.
5. In our country there are thousands of surplus human embryos derived from in vitro fertilisation procedures. Taking into account the possible negative effect of prolonged freezing on these embryos, as well as their possible destruction after expiry of the legal time limit, this Committee recommends that, as an alternative to the destruction of the surplus embryos, these may be used to obtain embryonic stem cells, since research with these cells may generate results potentially applicable to the prevention and/or treatment of serious diseases.
6. The use of surplus embryos as a source of stem cells would be acceptable so long as the following conditions are adhered to: I) that the informed consent of the parents is obtained or, if this is not possible, the authorisation of the centre for assisted reproduction responsible for their custody in accordance with current legislation, II) the research must be aimed at relieving human suffering and not simply at satisfying economic interests, III) it must be carried out exclusively by research groups with proven experience in this field of research and iv) the research protocol must be evaluated previously by the relevant ethics committees and be subject to comprehensive follow-up by these committees. To this end, it is recommended that a national committee should control and supervise this research.
7. It would be advisable to avoid the accumulation of surplus human embryos in the centres for assisted reproduction, and their production should therefore be reduced to the minimum possible compatible with the techniques of in vitro fertilisation, with greater emphasis being placed on their cataloguing and control. Moreover, it would be desirable to promote the donation of these embryos to the couples that need them for purposes of reproduction.
8. Current legislation will have to be modified in order to establish an appropriate legal framework referring to stem cell research harvested from surplus human embryos.

9. The creation of human embryos for the specific purpose of generating stem cells for research is not recommended.
10. Experimentation on human beings involving any type of stem cell must only take place after extensive studies in animal models and must be carried out in accordance with the current legislation governing clinical trials and clinical research in general. This legislation must be revised so as to include provisions specific to these techniques.
11. Since adult and embryonic stem cells have specific characteristics, this Committee believes that the two lines of research are not in competition and recommends that research be carried out with both cell types.

III. Scientific aspects of stem cell research

III.1. Stem cells

The ability to multiply is inherent to all living cells. However, in complex organisms such as mammals, made up of a wide variety of cells, this capacity is manifest in very diverse forms and with differing degrees. In this context, the so-called stem cells are defined by being able to divide, thereby generating new stem cells, and also to differentiate, in the course of their multiplication, giving rise to different cell types. This occurs with the best known stem cells, those of the bone marrow, which have the task of producing each day, in the organism, cell types as different as the red blood cells, the white blood cells and the platelets through the biological process known as haematopoiesis. However, there are many other stem cells, both in tissues of the adult organism and, particularly, in the embryo, throughout the different stages of its development.

The ability of stem cells to multiply and differentiate, independently of the degree to which they possess this ability, is apparent not only in the adult organism or embryo, but also in cultures under laboratory conditions. It is, thus, reasonable to propose the possibility of cultivating stem cells in a controlled manner, and to induce their differentiation in order to generate different cell types, which may serve to regenerate tissues or organs damaged by pathological processes. There are many illnesses whose treatment could benefit, at least in theory, from the use of this “cell therapy”, even though it must be stated that we find ourselves in the earliest stages of this type of research and there is much yet to learn. However, initial results allow us to gauge this possibility and justify the need to continue gathering information on this type of possible future treatments. For all the above, research involving stem cells is necessary.

It has become well established that not all stem cells have the same potential for generating different cell types, allowing us to differentiate between totipotent, pluripotent and multipotent stem cells. There is a relationship between the different stem cells and the stage of development of the organism from which they originate. Thus, totipotent stem cells occur only in very early phases of embryonic development and are able to generate all cell types. Moreover, they are also able to generate the membranes and tissues, such as the placenta, which give support to the development of the foetus, and they would therefore be able to give rise to a whole organism; it is this characteristic which confers the property of totipotency. In the human species, it is believed that only those cells contained in an embryo up to the phase of a sixteen-cell morula are totipotent.

In the later phases of embryonic development, the cells of the embryo lose their totipotent nature and can only produce pluripotent stem cells, able to give rise to a single lineage of cells of the adult organism, but not to generate a whole organism. In particular, the cells of the inner cell mass of the blastocyst do not have the ability to generate the membranes and tissues to support foetal growth. Being unable to give rise to a complete individual, under normal conditions of growth, these cells only possess pluripotency. The cells with the ability to form pluripotent stem cells are present in the human embryo up to the fourteenth day after fertilisation. The embryo subsequently differentiates into three cell layers, each one of which is programmed to generate specific tissues or organs

with the consequent loss of pluripotency of its constituent cells. Despite this, there are special cases in which pluripotent stem cells can be derived from the later states of embryonic development. These are the so-called germinal stem cells and they may be obtained from the primitive cells of the germinal crests of aborted foetuses which, in the human species, must be of between five and nine weeks gestation.

Finally, stem cells may be found in certain locations in the adult organism and, under specific conditions, these are able to generate certain cell types. Their plasticity is lower and therefore possess a certain degree of multipotency.

In accordance with the above, it is necessary to highlight that stem cells may come from the embryo or from the adult organism, thus giving rise to the terms embryonic stem cells and adult stem cells. The former are present in the embryo and are responsible for generating the more than two hundred different cell types found in the adult organism. Throughout embryonic development there is a gradation of the possible potency of these cells for generating cell types, ranging from multipotency to various degrees of pluripotency. In contrast, adult stem cells are present in adult tissues and fulfil a specific biological function, being responsible for the renewal of damaged cells in the organism and therefore, for maintaining the integrity and function of the tissue in which they are found.

III.2. Recent advances in stem cell research

The development of any type of stem cell, depending on its potency, is not completely predetermined. Stem cells reach a predetermined stage of development, but their possibilities are not limited to generating only those cell lines and types specific to the organ or tissue in which they are found.

This statement is supported by recent scientific evidence of enormous interest which documents the possibility of reprogramming the development and differentiation, in various degrees, of many cell types. On the one hand, the experiment which gave rise to the creation of the cloned sheep Dolly, establishes the possibility that the transfer of a nucleus from an adult cell to an enucleated ovum produces a totipotent cell able to produce a whole organism. The nucleus of differentiated mammalian cells therefore essentially conserves all the possibilities for directing development.

On the other hand, and as will be discussed later in this report, a number of experiments carried out on mice and other animals have managed to generate various types of cells from adult stem cells harvested from organs or tissues very different from the cell type which they generate. Thus, bone marrow cells have produced neuronal, cardiac and hepatic cells, and the transformation of adult stem cells of neuronal or muscular origin has produced myeloid and even lymphoid cells. All these results suggest the possible existence of pluripotent stem cells in adult tissues or the effect of a phenomenon of transdifferentiation which would convert an adult stem cell from one tissue into the stem cell of another.

With regard to embryonic stem cells, the techniques for their *in vitro* culture have been refined during recent years such that it has been possible to isolate them from blastomeres and generate specific cell types in the laboratory. Cell populations formed principally of neurones, hepatocytes or astrocytes, amongst other cell types, may be produced as a function of the different growth factors present in the medium or of the culture conditions and parameters.

This body of scientific information, built up over recent years, increases the interest in the understanding of stem cells, as well as the expectations of their possible use in the generation of different cell types which may be employed in treating disease.

With respect to stem cell research, it is now clear that the biological source for obtaining these cells, depending on their class, will have to be embryos or adult tissues. A large part of the stem cell research, already developed or still to be developed, is based on experimental animal models. The mouse stands out very prominently amongst these experimental models, but there are many other models which include even non-human primates. Therefore, stem cell research is based ever more on the use of materials of human origin. It is here that the ethical and legal implications of the research arise, particularly when dealing with human embryos.

With the aim of producing a report and in order to situate the scientific questions in their appropriate context, we describe below the status of research involving embryonic and adult stem cells, respectively.

III.3. Embryonic stem cells

Embryonic stem cells are characterised by their capacity for indefinite multiplication which enables them to generate a progeny of specialised cells of very different types. They are not terminally differentiated but rather, after completing a process of division and depending upon the environment in which this multiplication takes place, the daughter cells may persist as stem cells or may initiate a process of differentiation which is, *a priori*, irreversible. As has been indicated above, totipotent cells, which show the capacity to differentiate into the tissues specific to the organism and into the extra-embryonic membranes, are present only in the very initial stages of the embryo. The continued development of the embryo leads to the formation of the blastocyst. Embryonic-type stem cells, which are above all pluripotent cells with the capacity for self-renewal and for producing all the cell types specific to the foetus and to the complete organism, originate from the cells of the inner cell mass of the blastocyst. The understanding of the processes which govern cellular differentiation and give rise to such a variety of cell phenotypes is the basis for the scientific interest of studies using embryonic stem cells. It is only with this knowledge that it will be possible to direct these processes to produce *in vitro* cell cultures or tissue cultures which could substitute in-situ the tissues damaged by pathological processes, developing the corresponding medical applications from this research. In order to study these questions, an ambitious worldwide research plan is being developed, both with cells from experimental animals and with human cells, based on the use of embryonic stem cells from different sources.

III.3.1. Sources of embryonic stem cells

There are various sources for obtaining pluripotent embryonic stem cells. The first of these are those derived from embryonic teratocarcinomas or embryonic carcinomas which, though not strictly of embryonic origin, present known characteristics which would indicate their inclusion in this section. The cells are derived from gonadal tumours which contain a wide variety of cells representative of the cells derived from the three cell layers which form an embryo. They include cells characteristic of cartilage, epithelium, primitive neuroectoderm, ganglionic structures, muscle, bone and glandular epithelium. All these develop from a number of pluripotent stem cells which are, in turn, derived from the primordial germ cells of the post-implantation embryo. These are the principal components of human testicular tumours, from which they are isolated and cultured; it has also been shown that certain tissue types can be obtained from these cells.

The second source is the embryos generated by the fertilisation of an ovum by a spermatozoon. Usually, embryonic stem cells are derived from the inner cell mass of the pre-implantation embryo, in its blastocyst state. All the cell types of the tissues which make up an adult organism may be obtained from these cells. Embryonic stem cells have been cultured from mouse and human blastocysts. Cells cultured in this way appear to have the ability to persist indefinitely in culture. It is also possible to obtain pluripotent cells from the tissues of aborted foetuses. Embryonic germ cells have been obtained in this way, derived from the primordial germ cells of the post-implantation embryo. These stem cells, in culture and in the presence of serum and certain factors,

are morphologically indistinguishable from the cells derived from teratocarcinomas or embryos.

The final source is from embryos of agamic origin, in which there has been no fertilisation process of an intact ovum by a spermatozoon, rather they are formed by nuclear replacement or by parthenogenesis. Cloning by nuclear transfer commences with the elimination of the nucleus of an ovum but not of its mitochondrial genetic information. A diploid nucleus, obtained from a somatic or embryonic cell, is then inserted into the enucleated ovum by microinjection. Embryo clones of various species have been generated in this way. The technique has also been carried out with human ova, though the results are far from complete. This type of experiment carried out in animals has demonstrated that the zygote thus produced is a totipotent diploid cell whose development and uterine implantation lead to the formation of a complete organism. The transferred diploid nucleus therefore directs embryonic development in the same way as this is directed by the genetic material resulting from the combination of the male and female genetic complements. It is appropriate to draw attention to the fact that the generation of hybrid clones, man-animal, has been attempted by the transfer of a human somatic nucleus to the enucleated ovum of an animal such as the cow or the pig. Although the system is designed to provide stem cells, there are numerous unresolved scientific and ethical questions concerning this type of experimentation. Of particular note amongst these questions are the coexistence of distinct genomes (a human nucleus and animal mitochondrial DNA) and the lack of data regarding their possible viability.

Parthenogenesis involves the stimulation of the ovum by physical or chemical methods whilst it is still in its diploid state, with the aim of inducing in it the ability to programme its genome for it to direct later cell divisions associated with embryonic development. Once again, the zygote generated by parthenogenesis of an ovum fits the classic definition of this cell with respect to its genetic complement and totipotency. Using stimuli which simulate the effects of fertilisation of the ovum by the spermatozoon, the parthenogenesis of ova from different mammals such as mice and rabbits has been directed artificially. However, the embryo thus generated has not achieved development beyond the first stages of the foetal state. Recently, the parthenogenetic induction of human ova has been reported, though the resulting product did not reach a blastocyst structure with its differentiated cell masses.

III.3.2. Differentiation of embryonic stem cells

Both embryonic and germinal pluripotent stem cells have been obtained from the blastocysts of mice and other mammals. The pluripotency of the cells found in the inner cell mass of the blastocyst is evident when these are extracted from this region of the embryo and are cultured in an appropriate medium. It has been observed that they undergo vigorous multiplication in culture, giving rise to masses of various cell types (embryoid bodies) or to diverse types of cell lines when their differentiation is stimulated in a specific direction. Their characteristics of infinite cell proliferation are the consequence of their biological origin from the initial states of development in which the cells are fundamentally programmed to multiply. Their capacity for controlled differentiation, when stimulated in the laboratory, provides a very clear opportunity for obtaining clones of spe-

cialised cells with a stable chromosome complement and which are susceptible to genetic modification by genetic engineering techniques.

It should be remembered that experimentation with pluripotent cells from the mouse has given rise to a large volume of scientific information about the genetic elements in the murine embryo and the processes which regulate its differentiation. Many of these are preserved over the evolutionary ladder of the mammals, but a number of differences have been observed in the mechanisms of embryonic differentiation between primates and humans. Because of this, the publication of the obtaining of embryonic stem cells from human blastocysts derived from embryos which had been generated by assisted reproduction using *in vitro* fertilisation caused a great impact, due to its bringing this field closer to possible its application in human medicine.

Since then, research has been carried out into the behaviour of embryonic stem cells in culture and their responses to stimulation by specific agents. For example, the use of retinoic acid has induced the differentiation of mouse embryonic stem cells to neuronal cells. Dopaminergic neurones and oligodendrocytes have also been generated from embryonic stem cells of this same species. Furthermore, retinoic acid has been used to achieve neuronal differentiation in human embryonic stem cells, obtaining neuronal precursors. The differentiation of embryonic stem cells to cardiomyocytes has also been achieved, both in the mouse and in the human species. Furthermore, the selection of human embryonic stem cells for their later differentiation to endothelial cells able to form structures similar to vessels has been achieved by the use of the platelet endothelial adhesion molecule. Finally, attention must be drawn to the results documenting the differentiation of mouse embryonic stem cells to insulin secreting cells, haematopoietic progenitor cells and skeletal myocytes, muscle cells, adipocytes, chondrocytes, endothelial cells, melanocytes and hepatocytes.

Research activity in this field is not exempt from certain controversy, when new findings appear to contradict well established questions, such as occurred recently with the apparent demonstration that the intended differentiation of mouse embryonic stem cells to insulin producing cells had not occurred, but rather that the supposedly differentiated cells accumulated this hormone present in the medium.

III.3.3. Therapeutic use of embryonic stem cells

The possibility of using embryonic stem cells to treat illnesses has been investigated in experimental animals. In this context, the repair of genetic deficiencies in glial function has been achieved in mice by the transplant of glial stem cells from embryonic cell lines. Similarly, in animal models, it has been shown how dopaminergic neurones, derived from embryonic stem cells, can function appropriately in the treatment of Parkinson's disease. The correction of diabetes has also been described in mice with experimental diabetes using insulin-producing cells derived from embryonic stem cell cultures. It should be emphasised that all these experiments are considered preliminary, require immunosuppression in the mice to avoid problems of immunological rejection and it has been stated as the subject of controversy.

Without forgetting that the therapeutic use of embryonic stem cells is, at this time, only a research hypothesis, a number of difficulties must be mentioned. Firstly, it must be stat-

ed that the obtaining of the cells is, of itself, problematic since either an embryo must be created specifically for this purpose or an embryo must be used which was originally created for reproductive purposes, diverting it to research. In both situations, the embryo, as a biological unit, is destroyed in the process. Other sources of embryonic stem cells include the teratomas. These cells present, however, an altered growth rhythm and, thus, should not be used for the directing of their differentiation for therapeutic objectives; and the embryonic germ cells with the technical difficulties inherent to this source.

Another difficulty is presented by the marked capacity for growth which these stem cells present, a capacity which is maintained indefinitely as a consequence of the maintenance of telomerase. Because of this, the induction of their terminal differentiation is complex and there is a risk of tumour generation if they are implanted directly into an animal. A recent publication reported how the maintenance of embryonic stem cells in culture gives rise to losses and re-duplications of a gene which codes for an enzyme which affects the expression of certain tumours suppressor genes. In fact, cell lines obtained from early embryos retain the capacity to generate teratomas *in vivo*.

Finally, as it has been indicated above, there are problems related with immunological rejection due to the possible immunological incompatibility between the embryo from which the cells were derived and the host organism. As in the case of organ transplant, this would involve the need for permanent immunosuppressant treatments in the patient. In order to resolve this problem, work is being carried out on the manipulation or replacement of the major histocompatibility complex antigens of the embryonic stem cells which control the nature of the antigens relevant to immunological rejection. Obviously, the technique described above for the development of embryos by nuclear replacement could, at least in theory, solve this problem.

III.4. Adult stem cells

Embryonic development to the adult state involves a reduction in the differentiation potential of the cells, from the totipotency of the zygote to the final stages of differentiation. However, as has been indicated above, the repair and replacement of the cells of certain tissues, for example, after suffering damage, occurs in the adult organism throughout its life. There is, therefore, a generation of cells in the adult, with a degree of plasticity with respect to their phenotype, this term referring not only to the observable external characteristics of an organism or cell, but also to the properties which define its interactions with other cells and extracellular products, the surface proteins and the functional behaviour of the whole.

From this we can conclude that the repair and replacement of cells and tissues in the adult organism involves the existence of cells which are not in a terminal state of differentiation or, if they are, which can revert to a non-specialised or undifferentiated state which is not irreversibly terminal. These are the somatic cells which merit the name of adult stem cells.

Adult stem cells give rise to specialised cells by the generation of other cells with intermediate specialisation called progenitor cells. The progenitor cells are destined to produce a specific cell type, depending on their situation with respect to neighbouring cells. For example, the progenitor cells of the intestine are situated at the bases of the intestinal crypts. These cells divide at a high rate but remain as a reserve group for producing intestinal cells. Adult stem cells, therefore, do not possess the degree of functional non-definition of embryonic stem cells due to the immediate cellular environment. In fact, as indicated by several authors, adult stem cells are part of a group of undifferentiated foetal cells and their function is to maintain homeostasis when the death of some cells occurs due to tissue damage.

For a cell, whether embryonic or adult, to be considered as a stem cell, it must be able to give rise to cells with an immature phenotype which may be integrated in the corresponding tissue as well as carry out the specialised functions of that tissue. Organogenesis and cell differentiation require biochemical signals to which to respond, expressing genes in a differential manner and acquiring specialised cytoplasmic structures. These ideas have given rise to the search for the factors which regulate the differential expression of the genes, without forgetting other factors of an epigenetic character, since the site at which a cell is found determines its final state. Some molecular signals which act by re-programming precursor cells in an appropriate location appear to be fundamental factors, for example, in neurogenesis. A similar logic to that of neurogenesis appears to be applicable to the formation of any other organ.

III.4.1. Cellular dedifferentiation and transdifferentiation

The theory of dedifferentiation and transdifferentiation, signifying that some adult cells can revert to an earlier stage, or give rise to another state of different lineage, is of particular interest with respect to stem cells since their genetic information is not irreversibly fixed in the state in which they are found.

The reality of these phenomena is based on various observations on the re-programming of cell development. As has been mentioned above, the cloning of the sheep Dolly established that genetic material from the nucleus maintains its informational integrity throughout the process of differentiation which gives rise to the phenotypes, a process controlled by this information together with the information provided by the cytoplasmic architecture. The genetic material of the differentiated cell remains basically intact during development and it may therefore be re-programmed by introducing it into a particular environment, such as the cytoplasm of an ovum. It is true that the nucleus of the differentiated cell may have acquired mutations during its somatic life, but the state of nuclear DNA differentiation does not appear to be irreversible.

However, cloning by nuclear transfer is a relatively inefficient possibility, with a high failure rate. Perhaps the number and quality of the acquired mutations could explain this inefficiency, frequently preventing the nucleus from surviving a process of dedifferentiation, with the corresponding ontogenic development. In fact, it may be that dedifferentiation is not such a generalised process as has been thought. The essential point, in any case, is that the information in the cytoplasm of the ovum into which the nucleus from the already differentiated cell is introduced, determines what information must be extracted from the DNA. This concept is essential in order to understand the process of stem cell derivation and of their later specialisation, whether looking at embryonic cells or adult cells.

Dedifferentiation is well established as a concept and as an experimental possibility. However, the complexity of the signalling systems and of the regulatory circuits which control this dedifferentiation are far from understood. The terms dedifferentiation and transdifferentiation were coined to describe the ability of an apparently differentiated embryonic cell to become the cell of another tissue in response to its surgical excision and transfer to an adjacent tissue or to an *in vitro* culture. At present, these terms may also be applied to certain cells in post-natal tissues.

We may therefore conclude that stem cells exist in the adult, as they exist in the embryo, though their properties are not identical. As stem cells, they have not reached the terminal stage of differentiation and are able to self-regenerate indefinitely, giving rise to the different specialised cell types which make up an organism. This plasticity of certain cells of the mature organism has demolished the classical belief of embryology, which stated that the destiny of a cell was irreversibly determined and directed by the time it became a part of one of the three germ layers of the embryo. It was not possible to move from one layer to another. Furthermore, the plasticity of specialisation attributed to adult stem cells was limited to giving rise to the cell types present within the tissue in which that stem cell was found. In fact, it was thought that neural stem cells, for example, could give rise only and exclusively to neural type cells.

However, evidence obtained both *in vivo* and *in vitro* has shown that adult stem cells coming from a specific tissue are able to produce cells with a genetic expression characteristic of other tissues when they are transferred to the environment of another different tissue. Close attention has been paid especially to the ability of bone marrow cells to produce cells with the properties of hepatocytes, neurones and cardiomyocytes, given the ease with which bone marrow cells can be extracted from donors and used in clinical

practice. Cell therapy has been being carried out for some time, for example, by the transplant of the haemopoietic stem cells from the bone marrow to re-establish immune function in patients.

Nor has the presence of stem cells in other tissues which also present a high a rate of proliferation, such as the epidermis, been ignored. Only recently, stem cells have been discovered in organs which usually have a low rate of turnover, such as the brain. The novelty, therefore, has been in recognising the existence of multipotent or adult stem cells in tissues in which it was assumed that there was no type of self-regenerating cell. And what is even more interesting is that some of these cells, if not all, show sufficient “flexibility” to generate specialised cells of other, lineages different from those determined by their specific origin and localisation.

III.4.2. Sources of adult stem cells

The list of adult tissues in which it is known that stem cells may be found is increasing continuously and currently includes the bone marrow, peripheral blood, brain, vertebral column, dental pulp, blood vessels, skeletal muscle, epithelium of the skin and of the digestive tract, cornea, retina, liver and pancreas. Demonstration of their existence is achieved in various ways, such as the genetic marking of certain cells *in vivo* and their later localisation, the isolation and marking of these cells, followed by transplant and their later localisation, and the isolation of the cells followed by differentiation, transplant and later follow-up. The majority of these observations have been made in the mouse. The multipotential stem cell character is evidenced by demonstrating that the cells can integrate into the environment of a new tissue, survive in this environment and carry out their functions as any mature cell of this tissue.

The microenvironment of the tissues supporting the stem cells appears to be of decisive importance in determining the future of the cell due to the sum of signals and interactions in its make up. The future of adult stem cells studies and their possible therapeutic application depends, to a large extent, on the identification of these microenvironments and the demonstration of the presence of stem cells within them.

The analysis of the mechanisms of growth and differentiation of adult stem cells is also proposed as a clear objective. The multiplication of adult stem cells in culture has been achieved over more than 100 generations, without losing the potential for multiplication and differentiation and without observing signs of senescence. However, it is clear that the technical difficulties of their culture are greater than for embryonic cells. Adult stem cells have their specific constitutive history within the tissues from which they are derived and, in principle, they would be most useful for repairing tissues of the same type. In any case, future conceptual and technical progress using adult stem cells, their capacity for multiplication and differentiation, their periods of viability and their applications depend to a large extent on the analysis of there patterns of multiplication, showing asymmetric kinetics.

This asymmetry in division assumes that a precursor cell or adult stem cell divides to give rise to a cell which will become specialised and another which will maintain its precursor or stem state. The difference between a precursor cell and stem cell *in vivo* may

reside in the fact that the precursor cell can give rise to several cell types of the tissue whilst the stem cells can give rise to all the cell types of the tissue. In this context, precursor cells would not be true stem cells. Although experimental evidence is still limited, an in-depth understanding of these phenomena is of great interest, in particular, from the point of view of the possible *in vivo* mobilisation of stem cells to generate specialised cells of tissues very different from those from which they originate.

Adult stem cells are infrequent in the tissues in which they are present, and this is one of the reasons for the difficulty in their identification, isolation and purification. For example, one of every 10,000 cells in the bone marrow is a haemopoietic stem cell. In the crests of the intestine, it is thought that the proportion of stem cells may vary, according to the classification criteria, between 4% and 50%. The proportion of stem cells may differ greatly between tissues, and it is probable that this proportion varies as a function of the need for repair of the specialised cells of the tissue *in vivo*.

Since the process of differentiation is not irreversible, but rather dependent upon the DNA and the microenvironment, it is conceivable that, under laboratory conditions, cell development may be directed and reprogrammed in a similar manner to that which occurs spontaneously in nature. It would therefore be interesting to identify which cells of the organism have not reached total specialisation in order to place them under conditions in which they may acquire the required specialisation. This is the basis for cell therapy using stem cells and, in particular, adult stem cells.

With respect to the culture of adult stem cells under laboratory conditions, it has proved difficult, up to now, to maintain them in conditions of proliferation in an undifferentiated state for long periods of time. However, exceptions already exist, such as the mesenchymal precursor cells of the bone marrow with which growth can be maintained for more than 120 generations. Difficulties have also occurred, in general, in directing their specialisation towards functionally useful cells, though this limitation can also be applied to embryonic stem cells. For this reason, one of the great scientific objectives of the moment is to discover which genes can maintain the stem state.

In order to characterise adult stem cells, it is very important to define the markers which provide information about their state of differentiation, since observation of their morphology is probably an insufficient criterion. Amongst these markers, the surface proteins which act as receptors are particularly important, since they usually provide information about the singularity of each type of stem cell. The binding of specific reagents for these receptors permits the discrimination between cell populations and the separation of those which respond to certain characteristics, using instruments for the selection of cell populations. Genetic markers which provide information about the undifferentiated character of the cells, and their inactivation when differentiation or specialisation occurs have also been used.

From all the above, it may be concluded that the management and study of adult stem cells is based on: I) the confirmation of their capacity for stable sustained multiplication; II) the capacity to generate specific cell types in the presence of the corresponding stimuli, demonstrated by means of their morphology and biochemical and genetic markers; and III) their capacity to repopulate the corresponding tissue in the experimental animal.

III.4.3. Localisation and differentiation of adult stem cells

As has been indicated above, adult stem cells have been identified in tissues which develop from the three germ layers of the embryo (endoderm, mesoderm and ectoderm). They are found throughout the organism, behaving differently according to the environment. For example, the haemopoietic cells are constantly being formed in the bone marrow, where they differentiate to mature blood cells to replace the cells in the blood. Those of the intestine are in a stationary state and physically separate from the mature cells which they generate. In the mid-intestine, the stem cells are situated in the lowest regions of the rings, in a relatively exact position. In contrast, in some tissues their position is known with a degree of accuracy though this does not appear to be a single position. We shall now analyse some of these cases in depth.

In the case of neural cells, the presence of stem cells was originally demonstrated in the hippocampus and in the olfactory bulb of the brain of the adult rat. It has been demonstrated that they can generate astrocytes, oligodendrocytes and neurones, as has also been observed in the adult brain of other mammals. Groups of stem cells are located in the ventricular and sub ventricular spaces, cerebral spaces which contain cerebrospinal fluid, specifically in the ependymal and subependymal regions. During foetal development, the cells of the neural crest emigrate from sites on the crest as this closes. Another group of stem cells in the nervous system is found on the line that connects the lateral ventricle and the olfactory bulb. In rodents, the neurones of the olfactory bulb regenerate in this manner. The cells migrate to a wide variety of tissues, though some do not form part of the central nervous system. Once more, this suggests the *in vivo* plasticity of the neural precursors. For these reasons, the stem cells of the neural crest are acquiring such importance. These cells can give rise to a wide variety of tissues of various embryonic layers, and they frequently undergo self-regeneration. Another site of stem cells in the brain of the rat and of human adults is found in a region of the hippocampus. It is currently accepted that the ependymal cells of the central nervous system may be considered as stem cells and proliferate in an asymmetric manner. Furthermore, they may be activated to divide by *in vitro* use of mitogens or *in vivo* induction of damage, giving rise to astrocytes but not to neurones.

Haemopoietic stem cells, responsible for the formation of all types of blood cells, as well as the stromal cells, a group of cells which *in vivo* generate bone, cartilage, connective tissue and the reticular network which gives support to blood cell formation, are found in the bone marrow. The third important group of cells of the bone marrow is made up of mesenchymal cells which also give rise to various tissues. Despite the very well known capacity of the haemopoietic cells of the bone marrow to regenerate cellular elements of the blood and immune system, the research carried out to induce the *in vitro* proliferation of these cells, has not achieved much success. They show excellent proliferation *in vivo*, but *in vitro* they usually spontaneously attain a specialised state or die. Because of this, a large part of the research into these cells has been directed at understanding the factors and cell-cell and cell-matrix interactions which control their *in vivo* proliferation and differentiation. Of the soluble factors which regulate *in vivo* differentiation, certain cytokines and a number of adhesion molecules of the extracellular matrix of the bone marrow stroma should be mentioned. The interest of these studies is to be able to reproduce the same conditions *in vitro* for haemopoietic cell multiplication without their irreversible specialisation, prior to transplant.

It must be mentioned that there is a significant reserve of stem cells, equivalent to those of the bone marrow, in the blood of the umbilical cord of the neonate. They are more abundant than in adult blood and are easier to obtain, expand and store. They have been used for therapeutic purposes in oncological treatments.

Stromal cells, similar to those of the angioblast, which gives rise to the vessels, are also formed from the embryonic mesoderm during development. It is thought that common progenitor cells exist during embryonic development for the haemopoietic stem cells, mesodermal precursor cells and the stromal cells of the bone marrow. The endothelial cells form the interior surface of the blood vessels throughout the body. During embryonic development, immediately after gastrulation, a type of cell called the haemangioblast, derived from the mesoderm, appears to be the precursor of the haemopoietic and endothelial cell lines. The existence of the haemangioblast has been demonstrated by studies which show that mouse embryonic stem cells can be directed to differentiate *in vitro* forming vessels.

Recently, the existence of certain cells called mesangioblasts, derived from the clonal progeny of a single cell of the dorsal aorta of a mouse embryo, or from small juvenile vessels after their expansion, has been demonstrated. These cells express certain specific proteins in the early and late phases and remain pluripotent in culture when transplanted to a chick embryo. When wild-type mesangioblasts are transferred to the artery of a mutant mouse suffering a morphological and functional dystrophic lesion, repair of the lesion is achieved without immunological rejection occurring against the reconstituted fibres. Furthermore, mesangioblasts have been isolated from small vessels of a mutant juvenile mouse and the wild-type copy of the mutant gene has been added *in vitro* by genetic engineering techniques. These “molecularly repaired” mesangioblasts reconstitute muscle when they are injected into the femoral artery of mutant mice. The sum of these results represents the first successful attempts at experimental treatment of a myopathy with a new class of autologous cells.

The mesenchymal cells form another group of cells which is achieving ever greater protagonism due to their *in vitro* plasticity; these cells are present in various human tissues during development and are prevalent in the adult bone marrow. The mesenchymal cells can produce various cell lines which result in the *in vitro* generation of typical differentiated cells of visceral mesoderm, neuroectoderm and endoderm. The demonstration of the plasticity of the mesenchymal progenitor cells has been based on their stable multiplication in culture and their functional incorporation into the structure of the blastocyst. It has been shown that these cells contribute to the formation of the majority of somatic cell types, if not all of them. When they are transplanted to a non-irradiated organism, it is observed that the cells become inserted and differentiate to cells of the haemopoietic lineage and to the epithelium of the liver, lung and intestine. Insertion increases when the cells are transplanted into an organism which has been subjected to a minimal irradiation.

Whether the mesenchymal cells and stromal cells are equivalent and whether they come from a common endothelial progenitor cell which forms the embryonic vessels is currently under discussion. There appears to be no doubt that the stromal cells are different from the haemopoietic stem cells. It is also important to emphasise that the stromal cells

can be separated relatively easily from the haemopoietic stem cells although, to date, a pure population of stromal cells has not been obtained despite the existence of specific markers. This point is of extraordinary importance if the aim is to obtain pure colonies of differentiated cells *in vitro*. Furthermore, it has been shown that these cells can give rise to osteoblasts, chondrocytes, myoblasts, adipocytes and early neural cell progenitor cells. Standardization of stromal cell cultures is necessary if differentiation is to be achieved, since, as they expand in culture, these cells lose the capacity to proliferate and to generate adipocytes and chondrocytes.

It has been reported that cells derived from adult mouse skeletal muscle can have the capacity for haemopoietic differentiation. The origin of haemopoietic cells derived from muscle is not accurately known, but it may be that they are identical to the satellite muscle cells which lack the myogenic regulators and which could, therefore, respond to haemopoietic signals. Similarly, bone marrow stem cells can contribute to the repair of cardiac muscle and to neovascularisation after ischaemic damage. After transplant, the bone marrow cells are found to be forming cardiomyocytes in the ischaemic area and are functional. This datum provides further evidence of the versatility of muscle and bone marrow cells when they find themselves in the appropriate microenvironment or medium.

Skeletal muscle is well known for its capacity for self-renewal. Evidence exists that damaged muscle can regenerate and acquire its original state and that muscle fibres can increase in number. These responses are due to the satellite cells which reside within the muscle. Curiously, the damage can stimulate the satellite cells to enter into a stem cell state, proliferate and thus repair the fibres. It is likely that the factor called IGF-1, the production of which is stimulated by damage, is involved *in situ* in this process. This type of cell therapy could be used to regenerate muscle tissue although, *in vivo*, the systematic administration of IGF-1 would not be useful to mobilise the satellite cells since it could give rise to neoplasia and cancer. It must not be forgotten that this factor regulates the proliferation and growth of many other types of tissue.

Six of every ten differentiated cells in the body are epithelial cells. They are responsible for covering external and internal surfaces, including the vessels and other cavities. The cells of the skin and of the digestive tract are in constant regeneration. Other epithelial cells of the biliary tract and pancreatic ducts are renewed more slowly. The cell populations which renew the epithelium of the small bowel are found in the intestinal crypts, deep invaginations within the lining of the intestine. The crypts are embedded in connective tissue and each one contains about two hundred and fifty cells, depending on the species and on the anatomical location. In a crypt with multiple stem cells, an interesting question is to discover whether each stem cell produces only one type of cell, or if each one is totally pluripotent, is able to produce all the cell types of the intestinal epithelium. A single stem cell is, in fact, able to produce more than one cell line, as has been observed under situations of regeneration, in which one clonogenic cell re-establishes the full range of cells of the crypt. The most likely probability is that during the embryonic period, the haemangioblast which derives from the mesoderm is the progenitor of the haemopoietic stem cells and epithelium.

The skin of mammals contains at least three types of epithelial cell: epidermal cells, hair follicle cells and cells of the glandular epithelium. The patterns of substitution differ in

the three compartments and stem cells have been defined in each one of them. For example, stem cells of the hair follicle give rise to multiple cell types which migrate to the base of the follicle where they are converted into matrix cells which can give rise to seven different cell types within the hair follicle. Another population of stem cells in the skin is found in the basal layer of the epidermis. These stem cells proliferate in the basal region and differentiate as they move towards the more external layers of the skin surface. The stem cells of the skin can divide asymmetrically to produce two types of daughter cell, one of which is another stem cell with capacity for self-renewal. The second type is an intermediate precursor cell which will undergo replication before differentiating into keratinocytes. The first type of cell can be distinguished from the second by the marked expression of a molecule which induces the proliferation of keratinocytes. Another induction pathway includes a different molecule which promotes the maintenance of the cells in the stem cell state.

The existence of stem cells in the liver and pancreas has not been defined in as great detail as in the previous cases. Both tissues are derived from embryonic endoderm. In adult mammals, both the pancreas and the liver contain multiple differentiated cell types which can be repopulated or regenerated by multiple types of stem cells. In the pancreas, the endocrine cells are found in the islets of Langerhans. These include the beta cells which produce insulin, the alpha cells which secrete glucagon, and the cells which liberate the peptide hormones somatostatin and pancreatic polypeptides. Stem cells are found in the pancreas in various locations. Various studies indicate that the stem cells which express a molecule called nestin can generate all the cell types found in the islets. The identity of the stem cells which can repopulate the liver in adult mammals has not been fully clarified. Recent studies in rodents indicate that the HSC cells may be able to repair a liver after it has suffered damage, and demonstrate plasticity, transforming into hepatocytes.

A system which has still not been satisfactorily explored is the transformation of somatic or embryonic stem cells from experimental animals for their transplant to other organisms. In this area, it has been shown that dopaminergic cells may be obtained from the ventral region of the mesencephalon of cloned fifty-day bovine foetuses and that these may be transplanted to immunosuppressed rats with Parkinson's disease, achieving an improvement in the physiological symptoms of the illness suffered by these animals.

It may therefore be stated that embryonic development generates progenitor cell systems from which the distinct tissues differentiate, and that these progenitor cells (or stem cells) exist in the adult organism. The main problem at the present time is to identify them and expand them in a way such that they generate homogeneous cell populations *in vitro*. Amongst the most important factors to be determined before the *in vitro* differentiation of stem cells can be carried over to clinical practice are the specific markers of differentiation. These markers enable it to be shown whether the cell population generated is uniform. If the differentiation is not homogeneous, selection of the appropriate cells must be considered. An alternative method for achieving a homogeneous propagation of the stem cells would be their insertion into the tissue with the aim of achieving their homogeneous expansion controlled by the microenvironment, or their *in vivo* mobilisation to the sites at which they are required.

Amongst the problems created by the use of these cells, attention must be drawn to the difficulties associated with obtaining these cells due to their rarity and also that there is very little evidence that their plasticity is clonal. There is no absolute, repeatedly observed evidence that adult stem cells are sufficiently plastic to generate totally functional mature cells and that these cells may restore the *in vivo* functions of the tissue into which they are inserted. However, there is indirect evidence that this occurs. Furthermore, in a similar way to the problems presented above in the case of embryonic stem cells, adult stem cells can also generate an uncontrolled proliferation. Although their potential for multiplication and differentiation is more limited than embryonic stem cells, the possibility for the spontaneous generation of tumours by adult stem cells is more reduced; however though, if they are in a true stem cell state, necessary for them to be considered stem cells, the control of their division and proliferation may become uncontrolled if they are not cultivated or implanted under appropriate conditions.

III.5. The future of stem cell research

As was indicated at the beginning of this report, stem cell research constitutes a field of research of enormous relevance to the field of biomedicine, since important applications may be derived from the fundamental knowledge which this research should provide. The bases and objectives of the studies are centred on an understanding of the control of multiplication and differentiation in mammals, organisms generated by the successive multiplications of a single cell, giving rise to a cellular progeny with a great variety of phenotypic specialisations, constitutive of the different organs and tissues. Only from an understanding of the multiplication and differentiation of mammalian cells, can the possibility arise for intervening in these processes through cell culture, under laboratory conditions, enabling the generation of the most diverse cell types to be controlled.

Many questions remain to be answered with respect to stem cell research and its potential application in cell therapy. Some of these questions, referring in some cases to embryonic stem cells and, in others, to adult stem cells or both, are now presented. Is it true that all the cells of the inner cell mass of the blastocyst have the same capacity to generate a specific type of stem cell or are they polarised at origin? What are the signals which convert them into stable stem cells? Do all the stem cells of a culture have the same capacity? What are the *in vitro* and *in vivo* signals which induce stem cell proliferation and differentiation? Is there a universal embryonic stem cell? Is there any type of general adult stem cell with the capacity for differentiation to cells of the three germ layers? How are adult stem cells generated? What determines their undifferentiated state in a specific tissue and why? What is their degree of *in vivo* plasticity? Can they be maintained and multiplied *in vitro* after differentiation? What are the most appropriate markers to define each type of adult stem cell and what signals maintain their stem state?

In the answers to these questions we may find the bases for a reparative and regenerative medicine which leads to the correction of disturbances in tissues and organs caused by a wide range of pathological processes. Research must be continued in order to achieve this. However, for this purpose, stem cell research will have to be considered as a whole in which the fundamental questions on the control of multiplication and differentiation can become manifest as numerous specific phenomena which must be subject to analysis. Many of the advances which occur will be based on the use of experimental animal models, particularly the mouse. A large part of experimentation can only be undertaken in animal models and the focus must therefore be maintained in these fields in order to generate new knowledge. Special attention should be paid to the models which may be developed in primates and which, in some cases, could represent the most appropriate alternative to human experimentation.

With regard to the possible therapeutic application of stem cells, it must be stated that we are in a research stage, not a stage of the application of consolidated treatments, and any test, now or in the future, on the therapeutic application of stem cells in persons must be carried out in accordance with the consolidated practice for clinical trials. Furthermore, it must be remembered that it is neither ethical nor scientifically acceptable to create false hopes in the population concerning research which is still in a preliminary phase and which cannot provide immediate results. As has been stated above, when its clinical application becomes a visible possibility, the questions relating to the

specific nature of stem cells, referring in particular to their capacity for multiplication and differentiation and possible immunological rejection, will have to be weighed up. All these facts must undergo a profound analysis, particularly in the case of embryonic stem cells.

In view of that stated above, it is evident that, with our current knowledge, this research into both adult and embryonic cells is considered to be of great interest. There are differing opinions, preferring one or other type of cell because they are considered to offer better prospects. Even so, the majority opinion of the scientific community is that we still have much to learn before being able to opt for one of these cells, if that should prove necessary. In summary, the sum of the knowledge which, it is hoped, will be obtained through research into stem cells of both types could permit, in the future, the effective reprogramming and mobilisation of the regenerative potential of some cells of the organism. This research will indicate whether it is necessary to choose one of the strategies or whether each one has particular characteristics for clinical application. Only well designed research will be able to give the answer.

All these deliberations are summarised in the recommendations which appear at the beginning of this report.

IV. Ethical aspects of stem cell research

As may be deduced from the reading of the previous section, it may presently be stated that there is broad consensus amongst scientists regarding the potential therapeutic interest of human stem cells and, thus, the consideration that research into this type of cell is promising in virtue of its possible therapeutic application. Obviously, from an ethical point of view, any hope for a cure for serious diseases in human beings is a powerful motivation to promote the type of research which moves in this direction because, at the end of the day, it is the happiness of human beings, within a framework of fairness, that is the goal of ethical deliberation.

However, it is precisely for this reason that a detailed analysis of the moral problems which may arise from this type of intervention is necessary, as is the adoption of an attitude of caution in order to avoid that certain activities do not respect values worthy of respect, and also to prevent economic benefit from being the true driving force behind the decisions. As various organizations and commissions have already expressed on this matter, respect for those values and the possible relief of human suffering are the two principal reasons which may be proposed, from an ethical point of view, for strengthening research, reasons which cannot be subordinated to commercial interests.

In order to tackle these questions in the field of human stem cell research, it would appear appropriate to structure this ethical report into two sections which, though within the ethical field, belong to two different levels of deliberation.

The first part refers to the type of ethics from which to evaluate morally the propriety of the research in a pluralistic society which has reached the post-conventional level in the development of society's moral conscience, such as is the case in Spain and in those societies which share with Spain the legacy of Western culture. The second part attempts to evaluate specifically the research into human stem cells from the point of view of the ethical principles and values to which it has been possible to arrive on consideration of the core of civil ethics of pluralistic societies.

IV.1. The ethics of the Ethics Committee

The first problem to be resolved in a morally pluralistic society is that of establishing what type of ethics may be used to evaluate those interventions which affect society as a whole, more important still if, as is the case with stem cells, they affect present and future humanity in its totality.

It is true that there is a diversity of political, economic and personal interests in all societies, but in “morally monistic” societies, moral evaluations are undertaken from the officially accepted morality, consulting the appropriate representatives. However, in the case of morally pluralistic societies, this evaluation cannot be undertaken from a single moral conception, nor do the “appropriate representatives” exist.

In this context, if stem cell research represents a novelty in the scientific panorama, requiring rigorous debate in order to define the ethical orientation and recommendations related to such research, the explicit recognition that we live in morally pluralistic societies is also a novelty. This refers to societies which do not accept as appropriate the “moral monism”, corresponding to the existence of a single moral code accepted by the whole society, nor “moral polytheism”, which implies the existence of codes which differ to such an extent that there is an absence of common principles and values which would allow the members of that society to build it together, nor “moral subjectivism”, the conviction that moral questions are subjective and that it is not possible to arrive at inter-subject agreement.

It is precisely because morally pluralistic societies are aware that it is possible to arrive at inter-subject agreements in the diversity of mutually respected codes that it is necessary to nominate ethics committees which try to discover the agreements from which ethical guidance may be derived for new problems. The task of these committees does not consist of evaluating the problems from the subjective positions of their members, since a sum of subjective opinions does not give rise to inter-subjectivity, nor from the position arrived at by a vote without prior discussion. What it actually involves is an attempt to unravel what are principles and values of the civic ethics of that society, situated in the post-conventional level in the development of moral conscience, and how it is possible to evaluate the specific matter from these principles and values.

Obviously, the interpretation of what are the requirements of civic ethics for this specific subject in particular cannot be made without taking account of personal conceptions of the matter. A process of dialogue is therefore important, attempting to discover common convictions without letting political, economic or personal interests coming into play.

Moral questions of justice are not subjective, a majority of subjective opinions does not constitute inter-subjectivity. Nor are they objective in the way that scientific proposals can be; even though scientific proposals are interpretations of facts which already include values, they aim to refer to the state of things. Moral questions of justice formally intend inter-subjectivity. From this, a national Government Advisory Committee must make an effort to find those minimums already shared and bring them into the open, broadening the fundamental agreements as far as is possible, for which extensive debate, appropriately based on solid information, is a necessity.

To provide an ethical evaluation of a specific practice, a bioethical commission must carry out at least the following steps: I) to describe in detail the various aspects of the practice from a scientific point of view, as has been performed in this report; II) attempt to bring into the open and specify those ethical values which the different social groups already share in this field; III) define the ethical principles which orientate these values; IV) study the orientation of the specific activities for which there is already true agreement, and where disagreement begins; V) initiate a broad debate on the points of disagreement; vi) attempt to arrive at the point at which the positions at least appear morally respectable; and vii) offer recommendations for the specific activity from a majority point of view whilst, obviously, making known the discrepancies.

Clearly, it is disputable whether the discrepancies in these cases must be of interests or convictions, but it appears that in ethical questions, economic, political and personal or group interests are not to be weighed up, but rather the convictions expressed about which has priority in a specific matter and try to discover the areas of agreement.

Through this slow unveiling of shared ethical values and principles from which to judge what type of practices are humanising and which are not, civil bioethics, ever more complex, enables an already present ethical inter-subjectivity, rather than relativism and subjectivism, to be brought to light and this will gradually be revealed as transnational.

It is certainly not an easy task to determine what is the nucleus of a modern civic ethic such as that which makes up the moral social conscience of our country and those of its ethical environment. The discussions between rival ethical theories are as commonplace as those which exist between the morals of daily life. Despite this, a reflection on the social and political culture of these countries appears to show that the core of their civic ethics, the basis of human rights, is summed up by Kant's statement that the individual being is an end in himself, and cannot be treated as a simple means, and possesses an absolute value and, thus, dignity. The list of human rights which has been developed over history is based on this recognition of personal dignity.

The extrapolation of the content of this statement of an individual as an end in himself leads to the recognition of an individual being, primarily, as a limiting end of actions and interventions, i.e. which should not be instrumentalised and which can only be treated as a means with his consent. However, in the second place, and no less important than the first, the declaration that an individual is an end in himself leads to the understanding that the individual is a positive result of human actions and interventions. This assumption would suggest that it is necessary to act to avoid suffering and to strengthen the individual's abilities, such that science, technology and economy should be at his service.

This would substantially explain the double content of the declaration of dignity. What occurs is that, on occasions, it may appear that these two ethical aspects to dignity enter into conflict and that it becomes necessary to prioritise one of them. This may be the case with stem cell research, since these cells are obtained from human embryos. In this case, it certainly appears that there is conflict between the demand not to instrumentalise the embryos and that of benefiting persons who could possibly be freed from serious illnesses in the future. This is one of the important moral problems to be resolved though, it is true, that this must be within a framework in which it is necessary to take into

account other elements such as whether the embryos are the surplus embryos from the application of techniques of assisted human reproduction in which case the alternative to their implantation would be their destruction. The declarations of dignity and worthiness of respect are certainly ethical and not biological or ontological, and cannot be inferred from biological data.

From the perspective which we have been discussing, it is possible to detect a group of ethical values and attitudes which all the “ethical maxims” of Western societies share with respect to possible research involving embryonic stem cells. These are what may give rise to specific ethical problems, whereas research involving adult stem cells would give rise to problems similar to those of other types of research.

Such shared ethical values and attitudes, of extraordinary relevance, are the following: I) the respect for human life from the embryo stage, meaning that human life from the stage of the embryo is worthy of particular respect which other living organisms do not merit; II) the intrinsic value of attempting to relieve human suffering through research directed towards this end; III) the value of the freedom of research, so long as it does not contravene human rights, i.e. as long as there is an awareness that technical power is not equivalent to ethical power; and IV) the value of freedom and, therefore, its defence, in this case, the freedom of affected couples and, thus, the need to request their consent after they have received sufficient information.

Before continuing, it should be remembered that in the texts and reports on bioethics drawn up by committees and commissions, a double approach to moral problems can be seen which, in reality, have already been overcome in the major ethical theories: on the one hand, the approach which has been termed “deontological” which attempts to evaluate moral questions from the perspective of the rights of the persons or beings involved in the intervention and, on the other, the approach which may be called “consequentialist” which attempts to evaluate moral questions from the perspective of the beneficial consequences of the intervention for different groups of persons. However, in the most important ethical theories of our times, it may be understood that this approach to moral questions is confusing. Indeed, no ethical evaluation can avoid taking into account the rights of the human beings involved in the matter, nor may it avoid the weighing up of the beneficial consequences of specific interventions on groups of humans. An exception to this widespread belief between the ethical theories that it is necessary to take into account both perspectives, without excluding either of them, would be the versions of utilitarianism which do not include the defence of rights amongst the parameters of utility.

This said, in the case that any of the rights should turn up as a “trump card” in the face of which any other consideration should take secondary ranking, the benefit of the consequences would be irrelevant. The question would then become whether we are dealing with an absolute right to carry out stem cell research, a right which may be taken as a “trump card”, or whether, in contrast, it is necessary to weigh up the commensurate rights and values.

IV.2. Deliberations on research involving adult stem cells

The moral evaluation of research with stem cells requires the separate consideration of the evaluation of research involving adult stem cells and the evaluation of research involving embryonic stem cells since, in virtue of their differences, they give rise to different moral questions.

Research involving adult stem cells, given their origin, does not appear to give rise to problems which affect rights in a way which may be considered absolute from any perspective. For the time being, it appears that the greatest problems are economic and technical, though these, of course, must also be evaluated since they can give rise to questions of fairness in the same way as occurs in any other type of research. Furthermore, although initially it appeared that the potential of embryonic stem cells was more promising than that of adult stem cells, the present state of research makes it difficult to compare them, since each has specific characteristics. It is therefore important to promote research involving adult stem cells since, in the future, it may be shown that their use is more fruitful than is currently thought. On this line, the stimulation of the study of stem cells from adult organs is one of the recommendations which this report puts forward.

IV.3. Deliberations on research involving embryonic stem cells

Research involving embryonic stem cells has given rise to great debate since objections to research with these cells have been presented for moral reasons referring to their origin. As has been indicated above, embryonic stem cells may be obtained, amongst other sites, from the inner cell mass of the surplus embryos from *in vitro* fertilisation programmes or from the inner cell mass of somatic embryos obtained by cloning techniques.

From this perspective, there are basically three situations relevant to the harvesting of this type of cell: the embryos may be produced *ex professo* by *in vitro* fertilisation techniques specifically for research, they may be the surplus embryos from *in vitro* fertilisation programmes, or they may be embryos from abortions, spontaneous or provoked. In all cases, the technique requires the use of cells from the inner cell mass of the blastocyst in order to try to establish stem cell cultures from which differentiated cells may be obtained by biochemical signalling. The impossibility for the embryo, as a biological unit, to progress in its embryonic development is an inherent consequence of the obtaining of stem cells from the inner cell mass. This action would therefore be equivalent to the interruption of its natural process.

In the ethical judgement of these situations, the starting point is conditioned by various factors. One of these is, without doubt, the value which is given to the status of the embryo during the first 14 days of development, when it still has not acquired the properties of unicity, a single and unrepeatable being, and of unity, being only one, thus determining its individuality. However, we shall see that this is not the only factor which has to be taken into account; the fact that it is a surplus embryo from *in vitro* fertilisation techniques, the alternative for which is destruction if it is not implanted, or if it comes from a spontaneous abortion, or is created *ex professo* for research, must also be considered. Together with these factors, it is also necessary to consider the possibility that the harvesting of stem cells from these embryos and the research which is to be carried out on them may be of therapeutic use in the future.

With regard, specifically, to the type of respect and legal protection to which the early embryo has a right, at least three tendencies may be distinguished in the current bioethical context. From the perspective of the first tendency, an *in vitro* embryo must be protected as a person from the moment at which the ovum has been fertilised as a human being, since it is from this moment that it must be accepted as a true person. From this perspective, research with embryos is prohibited and, in consequence, the obtaining of stem cells from embryos is also prohibited, even when the alternative might be their destruction.

From the perspective of the second tendency, the human embryo always merits special respect. But, taking into account that qualitatively different stages may be recognised during its development towards constitution as a human being, the type of respect required and, therefore, the type of legal protection, depends on the phase and context of development. From this perspective, the acceptability of research and the ethical con-

ditions under which it may be carried out depend on the degree of respect which the embryo is understood to deserve.

With reference to the third tendency, it is assumed that the human embryo is a group of human cells which are no different from other human cells from the point of view of their value and of the respect and protection which they merit. From this perspective, there are few, if any, limitations to the use of embryos as a source of stem cells.

This is certainly a matter under discussion and includes scientific, ontological and ethical arguments which continue to be widely debated and on which agreement has not been found in democratic societies. In this report, we attempt to gather the pivotal points of the debate, in the clear knowledge that they continue to be at the centre of discussion.

IV.4. The question of the status of the human embryo

The question of the status of the human embryo may be considered from at least a triple perspective: ethical, biological and ontological. From an ethical point of view, the central question consists of establishing when one may start to speak of a true person since at this time it is a being whose dignity is recognised. The term “dignity” is not a descriptive term, rather it is evaluative. This means that in the biological or ontological description of a being, of “that which is”, the term “dignity” may not be used, since it is not a term referring to being but to value. The question then is that we should recognise the value of dignity in certain beings which present characteristics such that their instrumentalisation is to act as against them. In this context, we understand that they are worthy of respect and of empowerment. This respect means that these beings have a value which takes priority over any other value.

These characteristics differ according to different traditions. It is clear that even in the case of human beings already born, the problem arises that some of them do not give signs of possessing these characteristics, either because they appear never to have possessed them or because they appear to have lost them. In any case, the recognition of dignity is applied to any being born of persons.

With regard to the life of a human being before birth, the positions concerning the value given to that being and the respect which that being is due differ markedly in current ethical thinking and in the social conscience. These positions are very broad, from the philosophy that we should not speak of a person until birth or until cerebration, until constitutional sufficiency is acquired, or until nidation. The understanding of when there is a true person would therefore become a biological and ontological question.

Concerning the process of biological development, there are three aspects which must be defined. The first of these is continuity, which makes it impossible to distinguish exactly between “before” and “after”. Secondly, the continuity or gradual nature of biological processes, compatible with the instantaneous emergence of new properties, qualitatively different from those existing a moment before. And, thirdly, the biological whole is not equal to the sum of the parts. The life cycle of a human being begins in the zygote, formed by the fusion of the male and female gametes. According to some authors, the process of individualisation of the new human life, initiated at fertilisation, is related to the properties of unicity and unity. There is also a relationship with the aspect of genetic sameness or identity, which is the genetic capacity of the organism to distinguish between self and non-self. The embryological aspect of embryological development must be added in reference to the individual after birth and the philosophical problem of constitutional sufficiency from the ontological point of view.

The scientific question, the biological question, is when the new human life is individualised in such a way that it cannot give rise to another individualised human life, i.e. it possesses the characteristics of unicity and unity because its constitution is to be intrinsically one and unique. This limitation of the ability of being various appears to commence with nidation. There are cases, however, in which this is not so clear, since there is

a possibility that some cells may separate after nidation and that these give rise to another individual, if they are situated in the appropriate environment.

An important consequence for the problem which concerns us in this report may be drawn from this reflection on the biological status of the human embryo, and it is that, from this perspective, it may be stated that no scientist puts in doubt that human life begins at the time of fertilisation. This implies that it has the value that it merits as human life and that it therefore merits respect. Because of this, any research which requires the use of early embryos must be carried out under strict conditions which may be summarised as: I) having performed previous research with animal cells and not carrying out research on human cells unless a direct extrapolation of the results has not been possible; II) that the aim of the research has an equivalent value, such as the relief of human suffering; III) submission of the research protocols for consideration by ethics committees with proper control and authorisation; and IV) that the driving force for the research is not economic.

This said, although there is broad scientific consensus recognising that human life begins with fertilisation, the biological point of view is not sufficient as an answer to the question of when human life is personal life, and ontological considerations must be taken into account. The question of what should be the status of the embryo from an ontological point of view is still under extensive debate, including in our country. Different postures are also seen here, though these perhaps may be grouped in two. The first perspective would be one we would term “traditional”. According to this point of view, the personal human being is considered to exist in the zygote from the moment of fertilisation. It is not a true person, but it does have the potential for this. This position is contemplated in Greek philosophy, which is that of change, and specifically in the Aristotelian context. If the changes which occur in nature do not consist of acts of destruction and of creation but, rather, effectively of change, there must be something permanent throughout the changes, an underlying factor which would explain the connection between the potential and the real, such that at any moment of the process, the potential must be in some way prefigured to that which will later become reality. Clearly, the potential is understood from its later reality. The potential being tends naturally towards its endpoint, which is its realisation. The personal individual is already present in potential in the fertilised ovum, in a process in which it is impossible to demarcate a moment prior to which it may be said that it was not already prefigured. If there is no contrary external intervention or conditioning, it will reach fulfilment.

The second position considers that although continuity may exist from the fertilised ovum, the process is constitutive of the personal reality and stages may be distinguished throughout the process which give rise to new qualities until constitutional sufficiency is acquired, which would not have been present at origin but rather acquired over time. According to some authors, the embryo does not intrinsically and autonomously possess all the abilities to transform itself into something else which has new qualities, as interactions are essential. It is necessary to distinguish between the act of creation from nothing and the emergence of something new: the phenotypic whole is not the sum of individual processes but a new reality. The process is not continuous but is a process in continuity, in which new aspects develop at specific times. The individual remains him-

self in a continuum lasting the whole development process, but undergoes changes which place the entity of “self” in scales of different constitution: it will not always remain the same.

From this perspective, the embryo has the ontological status of the human being when it acquires constitutional sufficiency. The reality is a structured field or a closed structure of elements and notes. When this structure is coherent, it reaches constitutional sufficiency and, therefore, substantiality. From this time, the foetus will have personhood and, ontologically, will be a person. Also at this time, constitutional sameness is reached. From this position, the zygote does not contain the evaluable whole of the endpoint, since it does not contain the whole even as a possibility, as it does not have the intrinsic and autonomous potential to achieve a true being, the person. That which emerges in an evolutionary process cannot be understood without what came before.

IV.5. Points of discrepancy in research involving embryonic stem cells

The debate currently continues around two pivotal points. The first of these is research using viable early embryos of less than 14 days, indispensable in our case to obtain embryonic stem cells. The second refers to the creation of embryos not for reproductive aims, but for research.

With reference to the use of human embryos to obtain stem cells, there are obviously various arguments in favour and against. Amongst the arguments against, the following may be singled out. In first place, those who consider that the embryo has the status of a person from the time of conception, vote against research with embryos, considering it intrinsically immoral. From this perspective, no experimental procedure which involves the destruction of embryos may be contemplated. The embryo has the same rights as a child already born. A second argument consists of stating that the use of the human embryo involves its instrumentalisation and, thus, human life is converted into a “commodity”. Third, it is considered that if the cloning of tissues is permitted, this could lead to the cloning of humans, since the techniques are the same. Clear limits and controls would have to be placed on what is permitted. Without clear legislation, it will not be possible to prevent reproductive cloning. Fourth, if research with the surplus embryos of *in vitro* fertilisation were permitted, it would appear impossible to prevent the tendency to create these surplus embryos. Finally, permitting this research would open a path difficult to control, which it is that of research on unborn human beings which, in the future, could extend beyond fourteen days.

The following arguments in favour are of particular note. The first, which is pivotal, consists of the statement that the embryo of less than fourteen days has human life, but not personal life, signifying that it definitely has special value and, therefore, merits special respect, but in a conflict with other values of a high moral level, this may be weighed against and compared with these other values. It would therefore be morally acceptable to use embryos for purposes which foreseeably result in better therapy for serious diseases, thus relieving human suffering. This attitude is supported by the argument that many early embryos are lost naturally. A second argument, linked to the previous argument when dealing with the surplus embryos of *in vitro* fertilisation techniques, is that the alternative for the embryos is their destruction in any case after they have exceeded the prescribed time limits and cannot be implanted. In this situation, it appears more reasonable to use them for good, since they are going to be destroyed in any case. All the more so when they have not been produced for research purposes, but for procreation, and it has not been possible to implant them.

In another line, groups of patients with serious illnesses state that it is not ethical to deny them the possibility of research on embryonic stem cells, since this could lead to a relief of their suffering, and they consider it a right. On this point, however, there is a responsibility on the part of the media not to create expectations which are not extremely well founded. Finally, it is understood that the “slippery slope”, as has been encountered in so many other cases, must be avoided by responsibility, deliberation and control. It would be better that research is permitted and legally controlled than to accept the situation of no control over the activities undertaken with surplus embryos.

With respect to the creation of embryos *ex professo* in order to provide a source of stem cells, once again there are arguments in favour and against. The arguments in favour include the following. First, there may be an insufficient supply of embryos for research from the surplus embryos of *in vitro* fertilisation and, therefore, it would be necessary to create new embryos for non-reproductive aims. Furthermore, embryos created by the transfer of somatic nucleus cells may offer the most promising course for obtaining autologous tissues for transplant. Finally, if the embryo has an intermediate status, there would be no problem in creating them since their moral value would not be greater than the good which they may provide to individual persons.

For their part, the arguments against would have a central theme on which the Committee has insisted, which is that the creation of a valuable entity in order to subject it to experimentation is to admit its character of being manipulable, a means to a different end, however dignified that end may be. This is, at the end of the day, to remove its internal value and give it only instrumental value. The European Convention on Bioethics, in its article 18.2, prohibits the creation of embryos for experimentation, and this Committee votes likewise.

It is from these deliberations that the recommendations which appear at the beginning of this report have been drawn.

V. Legal aspects of stem cell research

As has been indicated in section III of this report, current scientific developments are opening the doors to research with the so-called human stem cells of various origins, and their possible later therapeutic application. It is also true that, as usually occurs in biomedical research, the animal model is being used, requiring specific legal study which is outside the scope of the purposes of the present report.

Each one of these lines of investigation, and its therapeutic potential, presents legal implications of varying relevance. Although clinical trials, that is, experimentation in humans with the cell lines which may be obtained, give rise to certain problems of particular interest, there is no doubt that the question of experimentation with stem cells obtained from embryos, whatever the origin of the embryos, is generating intense social debate which has also been reflected in the legal sphere.

There is no doubt that whatever position is held on the different legal profiles presented in this discussion, the creation of specific legislation on the multiple aspects related to this research is both necessary and inevitable. It is therefore appropriate to carry out a brief study of the areas which are of greatest legal interest, and why, as well as to examine what is the current legal situation in Spain with respect to these activities. For this purpose, in this section we shall describe the legal framework applicable, or which could be applicable, to the activities of obtaining the different specimens indicated above, to the research process itself and, finally, to the experimental application of these techniques in humans. This examination will, at the same time, define whether the current Spanish legal framework is appropriate, or the extent to which incongruities, inconsistencies or omissions have been detected in this regulation, in view of the novelty of the aspects linked to this research.

V.1. Deliberations on obtaining adult stem cells

The interest of the law in the activities of obtaining adult stem cells centres on the prevention of significant risks to the life or health of the person from whom these cells are obtained. The withdrawal of biological specimens from adults is considered innocuous, both in terms of the sample withdrawn, as long as this does not involve vital areas of the organism, and in terms of the techniques usually used for their withdrawal. This matter will therefore only rarely affect the life, integrity or health of those persons involved, and, hence, only exceptionally will there be cases involving some form of criminal or civil liability for negligence.

Another point of interest related to the harvesting of human tissues and cells, and their later use in therapy, refers to guaranteeing the quality and safety of the biological elements obtained; to this end, the comprehensive identification of their origin is an essential requisite. It is true that this concern is heightened when these substances are destined to be used in third parties, particularly if they come from a human cadaveric source. For the time being, this worry is less marked with the stem cells, since the protocols on these practices start with the obtaining of the cells from the patient himself.

The obtaining of these cells, except those of the blood or blood derivatives, which is regulated separately, is subject to the legal framework relative to the use of human tissues; specifically, Royal Decree 411/1996 of 1st March, is applicable in the regulation of these activities. For the sole purpose of justifying their applicability, it is sufficient to remember that this royal decree regulates “all those activities concerned with the obtaining and clinical use of tissues of human origin”, and also with other, instrumentally related activities (article 1), and it contains a definition of human tissue so broad as to leave no doubt that stem cells are included in this: “all the constituent parts of the human body, including surgical residues and the cells. The products which form part of the tissues and the cells of human origin, or derived from these, are also included” (article 2.1). The principal requirement for carrying out the extraction of cells from living donors is placed on the consent form (article 7) as well as compliance with other obligations concerning confidentiality (article 3) and the gratuity of these donations (article 5). The health centres in which cells are obtained and those in which they are implanted must have prior authorisation from the competent body of the corresponding autonomous community.

V.2. Deliberations on obtaining stem cells from umbilical cords, embryos and aborted fetuses

The broad regulatory concept of human tissue expressed above also includes the cells, including those coming from the umbilical cord, in accordance with the Single Final Provision, letter f of Royal Decree 411/1996, but not the placenta which is considered a human waste product, and the regulatory framework described previously would also be applicable to the cells of this origin. In this case, it is the mother who should give consent.

Furthermore, the protection of life, integrity and the correct development of embryos and fetuses during the course of pregnancy in the face of outside interests are the principal reasons which justify legal intervention when the obtaining and use of cells or other elements derived from them is intended. Human life during pregnancy is protected under the Constitution and in criminal law as is also, in recent years, the integrity and health of the foetus by means of the criminal offence of lesions to the foetus (articles 157 et seq. of the Criminal Code).

Law 42/1988 of 28th December on the donation and use of human embryos and fetuses and their cells, tissues and organs, refers to this matter, though *in vitro* embryos, as will be seen below, are the subject of different regulations from embryos in utero and fetuses. With regard to the latter, it is sufficient to remember that the consent of the progenitors is required and that the embryos and fetuses must be clinically non-viable or dead. In this respect, it is appropriate to review the text of the law which states that “aborted embryos, spontaneously or otherwise, will be considered non-viable on the basis of their degree of development for the purposes of this law” (article 5.3), amongst other requirements (articles 2, 3, 6 and 7). In contrast, spontaneously prematurely delivered fetuses which are considered biologically viable will be treated clinically with the sole aim of furthering their development and vital autonomy (article 5.4).

V.3. Deliberations on obtaining stem cells from *in vitro* human embryos

As has been indicated in the previous sections of this report, at the present time the use of embryonic stem cells refers to laboratory research which has still not given rise to any therapeutic applications for humans, though it is not possible to predict when this situation may change. In consequence, the current problems are centred on the legal evaluation of the use of cells from the human embryo as a material or medium for research or experimentation and not for specific treatments for patients; in the light of this, the expression “therapeutic cloning” is inappropriate at this time. In any case, the possibility for these techniques to be adequately developed in order then to constitute treatments of known efficacy will raise its own specific legal dimension which must not be ignored when this situation becomes reality.

There is a dual legal problem concerning the creation of early embryos, with a development of not over fourteen days, in order to obtain these stem cells: this involves the creation of these embryos for a non-reproductive aim, research, and secondly, they may be obtained not only by gametic fertilisation but also by nuclear transfer techniques. For their part, the use of cells from supernumerary or surplus embryos from assisted reproduction techniques gives rise to analyses which are different in part.

The difficulty of the legal treatment of this question may already be observed in the inconsistent regulatory situation and in the trends of comparative law. In effect, despite what may be said below on the various legal initiatives adopted or which are under study in Europe, some of the European states have neither applicable legislation nor legislation under preparation (Greece, Ireland, Luxembourg, Portugal). Parliamentary agreement has still not been reached in other states, despite attempts on various occasions, and the absence of an express prohibition or limitation gives rise to a *de facto* permissibility, despite the fact that mechanisms of professional control and other, non-formal mechanisms may exist.

V.3.1. The legal framework for the protection of the embryo

There is probably a widespread acceptance of the statement that traditional legal instruments for the protection of prenatal life, from the *in vitro* embryo to the viable foetus, are frequently insufficient in view of the new scientific and other phenomena which may affect this field. These problems have been detected in various sectors of the legal framework, firstly in the Civil Code. The re-elaboration of better defined criteria for the general legal protection of the *nasciturus* is still pending, as is the decision on the legal treatment corresponding to the *in vitro* embryo in the diverse situations which affect it. This is the so-called legal status of the embryo and of the foetus.

The Spanish legal code does not award the condition of person or of subject with rights and obligations to the *nasciturus* (implanted human embryos and foetuses) or to the *in vitro* embryo; this occurs after birth in accordance with the terms of the Civil Code (articles 29 and 30). This double conclusion, i.e. the lack of the entitlement to the fundamental rights and the absence of legal status of the *nasciturus* and the *in vitro* embryo as a legal

person, may be drawn even from the Spanish Constitution (S.C.) itself, or at least this is the understanding of the Constitutional Court. In evidence of this, in its judgment 53/1985, of 11th April, concerning the claim of unconstitutionality presented against the law of partial depenalisation of the voluntary interruption of pregnancy, this body rejected that the *nasciturus* was entitled to the fundamental right to life established in article 15 of the Constitution, and this has later been confirmed in its judgments 212/1996, of 19th December, and 116/1999, of 17th June, concerning appeals of unconstitutionality against law 42/1988, of 28th December, already cited, and against law 35/1988, of 22nd November, relating to techniques of assisted reproduction, respectively. As was cited in judgment 116/1999, legal foundation No. 11: “it must be remembered that neither non-implanted pre-embryos nor, with still greater reason, simple gametes are, to these effects, human persons, and therefore that they may be made available to banks after the elapsing of a specified period of time can hardly be considered as contrary to the right to life (article 15, S.C.) or to human dignity (article 10.1, S.C.)”. Whilst, in 1985, the Constitutional Court only went so far as to negate the entitlement of the *nasciturus* to the fundamental right to life, in 1996 and 1999, it even negated the condition of person, in its legal dimension, to the *in vitro* embryo.

In the Spanish legal code, it is also possible to distinguish the existence of different phases or stages in the development of human life, taking into account those moments or stages which are relevant to determining the capacity to continue and fulfil this same process of vital development. Such differentiation may appear artificial, since it may not be doubted that human life is, from the moment of natural conception, a biological continuum in constant evolution and development. But the law must also frequently operate in this manner in other areas of social life on which it focuses its attention, segmenting reality in order to define it better and be able then to proceed to its characteristic evaluations. In summary, the law can qualify its legal evaluation regarding each one of the phases or stages of prenatal life, concluding in a different intensity of legal protection for each one of them, in regard to the fulfilment of these stages.

In effect, the situation of the *in vitro* embryo constitutes a different reality within our legal code whilst it has not been transferred to a woman and the subsequent implantation of the embryo in this woman has not taken place, since the resulting zygote is not itself able to develop until the stated transfer has taken place. Deliberations of a similar nature have led the Constitutional Court to state that the *in vitro* embryo is in a different situation from that which is implanted, as may be concluded from judgment 116/1999, legal foundation No. 12, in which it says “as has been repeatedly stated, the *in vitro* pre-embryos do not enjoy an equivalent protection to that given to those already transferred to the maternal uterus”.

However, the *in vitro* embryo is a reality which, as has been stated above, must not be completely ignored by the law, which must offer its appropriate protective mechanisms to the life of the embryo to the extent that it constitutes a form of human life and may give rise to the birth of a human being. The law is required to offer some means of protection to this form of human life but, above all, that if a certain procreative project exists with respect to that embryo, it should guarantee that it is not the object of interventions which may endanger the integrity or identity of the new being, even though the possibility may be considered of allowing specific exceptions, also discussed, for the benefit of

the individual (therapeutic aims or disease prevention) or of third parties, if in this latter case the procreative project cannot be fulfilled.

The lack of personality of the *nasciturus* and of the *in vitro* embryo does not mean that the Spanish legal code can take them to be mere objects of law and, as such, susceptible to appropriation, since they enjoy, and must enjoy, other different and superior privileges to those awarded to other parts of the human body when separated from this. The Constitutional Court reached an important conclusion in this respect which involves the recognition of an objective dimension to the constitutional precepts which conform fundamental rights and public liberties, i.e. an institutional or regulatory dimension, as a group of objective values was positivised from the community, redirecting the protection of the life of the *nascituri* to that which is conferred on the constitutional legal goods (constitutionally protected legal good): “the unborn may not be considered in our constitutional code as entitled to the fundamental right to life which is guaranteed in article 15 of the S.C. though this does not signify, however, that they are deprived of all constitutional protection, since, “the constitutional precepts relating to fundamental rights and public liberties may not conclude their content in the recognition of these but, beyond this, they may contain requirements directed at the legislator in his labour of continual configuration of the legal code, whether in the form of the so-called institutional guarantees, or in the form of broader based governing principles, or, as we shall shortly see, in the form of constitutionally protected legal goods” (CC judgment 212/1996, legal foundation No. 3)” (judgment 116/1999, legal foundation No. 5).

If the above considerations conclude that the *in vitro* embryo is not a person in the Spanish legal code, nor should it be given the category of a thing in the opinion of some legal experts. It is neither subject nor object of rights, since it is a non-subject of law destined, by an evolutionary process, to become a subject of a law. For this line of thinking, it would thus be erroneous to confer it an intermediate legal status between one category and the other, person and thing, but rather to create a different, autonomous status on a level consistent with the degree of value of prenatal life which may be deduced from the legal code. This implies a third course, not merely intermediate between person and thing. In this way, the conflicts which may arise concerning the *in vitro* embryo and, with the appropriate variations, similar to the *nasciturus*, these must be resolved in accordance with the legal principle of the consideration of all interests present in such conflicts.

Some specialists understand that this course of legal protection for the *in vitro* embryo and, in general, all forms of prenatal human life, is insufficient and, therefore, should be reinforced, elevating all the life phases to assumptions of personality and with entitlement to rights, a modification which could be made without difficulty since it would be a legal creation. In accordance with that expressed above, this proposal goes beyond the constitutional framework though it is certainly not incompatible with this. However, other specialists have pointed out that this modification would be difficult to accommodate with respect both to the attributes which have been almost universally conferred over time and in space to those legal categories, and to its own operability in relation to prenatal life. Furthermore, it would not coherently reflect the legal valuations which have traditionally been made on this issue and which, in particular, have been drawn more recently on the subject of the *in vitro* embryo. In any case, it would be preferable to create another, specific legal category, such as that which has been mentioned above.

Finally, another line of thought maintains that the legal protection of prenatal life must go no further than the wishes of the mother, at least until the foetus reaches a stage of extra-uterine viability and, specifically that the *in vitro* embryo should enjoy no special protection if it can be used to further other individual or collective interests considered superior. This is to say that while the embryo does not embody an interest worthy of protection, it would not receive such protection. In accordance with that expressed above, this criterion does not appear to find constitutional endorsement in the Spanish legal system either.

V.3.2. Embryos created in order to obtain stem cells

There is no doubt that the legal view of prenatal life briefly described above, would provide differing and contrasting answers to the question of creating *in vitro* human embryos for the direct and exclusive aim of obtaining cells from them for research. It is difficult to state how this would be resolved by those who maintain that the *nasciturus* and the *in vitro* embryo constitute an independent legal category, different from a person but also different from a thing. This will also depend to a large extent on the specific legal framework within which the answer must be found.

In any case, their creation would involve the prohibition on their use for human reproduction, apart from other requirements such as the consent of the donors, justification, authorisation and control of the trials, etc.

There are very few examples of comparative law which demonstrate the adoption of this solution, namely the United Kingdom and its law from 1990 on human fertilisation and embryology, and the Netherlands, where a legal moratorium has been set up for a period of 5 years. In other countries, the competent bodies have announced their authorisation, whilst in some European Parliaments such as those of Austria, Belgium, Norway and Sweden, several draft bills may be found in various phases of debate and some decision on this matter will probably soon be adopted.

As was mentioned in section III of this report, another alternative consists of the creation of embryos by nuclear transfer from a somatic cell of an individual to a human ovum. At present, only one country, the United Kingdom, has taken the step to give legal permission to carry out this technique in its law of 1990, modified in 2001 to broaden the aims for which non-reproductive cloning may be authorised.

In the international arena, very few clear steps have been taken to define the legal framework for research with embryos or their cells. The 1997 Universal Declaration of the UNESCO on the human genome and human rights does not take a position in this respect, although it rejects reproductive human cloning as being contrary to human dignity. Work is being carried out in the United Nations on an agreement with the aim of prohibiting cloning for such purposes, but, at this time, it is uncertain whether this will finally also include the so-called “therapeutic” cloning.

In Europe, a set of core regulations has been configured. The Council of Europe has adopted a more or less open and compromise solution in the 1997 Agreement on human rights and biomedicine, also known as the “Oviedo Convention”, after failing to achieve

broad consensus in this respect in the European forum. In actual fact, it was one of the matters which gave rise to greatest discrepancy and, probably, was the most relevant reason that some European states such as the Federal Republic of Germany and the United Kingdom, France and Italy, have still not subscribed to or ratified the Convention, though each one of them has done this for different reasons.

Experimentation with *in vitro* embryos figures in these terms: 1. When experimentation with *in vitro* embryos is admitted by law, this law must guarantee an adequate protection of the embryo; 2. The creation of human embryos for experimental aims is prohibited (article 18). Focusing our attention on the second paragraph of article 18, there is no doubt that it establishes the prohibition of the creation of *in vitro* human embryos in order to carry out experiments with them. A wide range of valuation principles concerning the *in vitro* human embryo may be deduced from the Convention as a whole and from its 1988 Protocol on human cloning, and this may constitute the seed of its legal status, pending development by means of a new Protocol.

On some occasions, it has been argued that the creation of human embryos for direct therapeutic aims, as would be the case when obtaining stem cells, is admissible since it is not expressly prohibited. This conclusion would be based on the lower level of value which this aim would hold compared to the maximum prohibitive limits constituted by the creation of embryos for experimental aims and by reproductive cloning itself. The Convention would not prohibit the creation of embryos for the direct and immediate aim of improving the health or saving the life of a person, since this is a radically different activity from that of experimentation and would have recognised the primacy of the interest of the life of the embryo against the collective interest which would be the promotion of certain research sectors, but not in relation with the health and life of specific persons. In any case, positions in support and against this interpretation have been seen and the issue involves ethical deliberation of particular import.

The importance of this Convention is clear, and even more so for Spanish law, as this forms part of the Convention since 1st January, 2000. In consequence, and subject to the legal adaptations which lawmakers may enact, the scope of article 18 is relevant to internal law. In Spanish law, Law 35/1988, already cited, places strict limits on research and experimentation with *in vitro* embryos. At present, “the fertilisation of human ova for any aim which is not human procreation” is prohibited (article 3). This prohibition has subsequently been elevated, in the same terms, to the level of criminal offence, constituting a crime since the coming into effect of the 1995 Criminal Code (article 16 1.1; judgment: one to five years imprisonment and specific disqualification from public employment or office, profession or occupation for six to ten years), signifying that *in vitro* embryos may not be created directly for the purpose of research.

The literal reading of this criminal law precept, “whomsoever carries out the fertilisation of human ova with any aim which is not human procreation”, and the method of obtaining the embryo for non-reproductive ends by the technique of nuclear transfer or cloning, has raised doubts as to whether this practice would be included in this offence and, if this were not so, as to whether it would violate the principle of legality by analogous application to the prejudice of the offender. The question is not clear, but it has also been noted that a human ovum may be fertilised by this procedure, though without the

contribution of a spermatozoon. This consideration coincides with the scope of the prohibition implied in that precept, which prohibits, despite its literal imperfection, the creation of human embryos for purposes other than their use in reproduction.

In any case, the more explicit wording of the Convention on human rights and biomedicine mentioned above states these limits with total clarity, with respect both to the prohibition of the creation of embryos without consideration for the procedure, and to the aim of experimentation, in which it is more concise than the current Spanish Criminal Code. And whilst the first assertion would oblige Spanish lawmakers to correct it, depending on the viability of the initial interpretation of article 16 1.1 of the Criminal Code, the second is optional, as this precept signifies a broader protection of the embryo than the Convention.

V.3.3. Obtaining stem cells from the surplus embryos of the techniques of assisted reproduction

As is known, one of the techniques of assisted reproduction consists of obtaining *in vitro* embryos by the extracorporeal fertilisation of human ova. When the cryopreservation of embryos is carried out as a support technique in order to achieve a pregnancy in the patient in whatever successive attempts may be necessary, it may occur that, for various reasons, some of these embryos are not finally used in the procreational project. We thus find ourselves with the so-called supernumerary or surplus embryos.

The legal provision concerning the cryopreservation of human embryos in a procreational context states that the weighting of the interest of the well-being of the patient against the risk of there remaining surplus embryos has been resolved in favour of the former, that is, the resolution of this conflict after the opportune deliberation of all the interests involved signifies that, for the legal system which thus resolved the matter, the interests represented by the woman patient are more valuable than those represented by the embryo, even if this involves the risk that the embryo may not be used for the original reproductive purpose.

Legislation exists which expressly contemplates research involving surplus embryos. Examples of this include Finland (Law No. 488/1999), the Netherlands (law on embryos, in force since 1st September, 2002) and Sweden (Law No. 1991:115), although its inclusion of stem cells is considered dubious. In some cases, it is required that the embryos are not viable, whilst in others, such as in Denmark, research is permitted under certain circumstances, though the harvesting of stem cells is not included. Examples also exist of legislation which explicitly prohibits research with embryos, as occurs in Austria, in its Law of 1992 on the techniques of assisted reproduction, and in France, Law No. 94-653 of 1994; however, the two countries each have draft bills under parliamentary discussion which foresee the approval of this research under certain conditions, and the same is occurring in the legislative houses of Belgium and Switzerland. Finally, there are a few legal systems which have prohibited the creation of a number of embryos greater than that necessary for a single transfer, thus indirectly excluding the possibility of their cryopreservation, attempting in this way to avoid the question of surplus embryos; however, at the same time, this will involve subjecting the woman to a new operation for the extraction of fresh oocytes for fertilisation each time treatment by transfer and implan-

tation of embryos is to be attempted. This is the case in the Federal Republic of Germany in its Law of 1990 on the protection of embryos.

The distinction between a viable and non-viable embryos has been used in a few isolated cases, establishing a different legal framework for each one. There is a widely accepted criterion that there is no serious basis for opposing research with non-viable embryos. A number of legislative references exist on the legal significance of the concepts of viability and non-viability, such as the German Law of 1990 “when, after a period of twenty-four hours has elapsed since the fusion of the nuclei, it is confirmed that the ovum will not be able to develop beyond a unicellular state” (article 8.2).

It has been indicated above how the states signing the Convention can authorise experimentation on human embryos by law (article 18.1) in accordance with the Convention on human rights and biomedicine. It is left to the discretionary decision of the States to authorise or prohibit this activity. The authorisation does not consist of creating embryos for this purpose – this has already been seen to be prohibited — but of using embryos. Which then? Specifically, the surplus embryos from the techniques of assisted reproduction. Should experimentation be authorised, there is an obligation that the law must guarantee an adequate protection of the embryo, that is, it must include some form of guarantee in order to comply with this objective. The decision on what these guarantees should be is complex, since the Convention provides no guidance in this respect, nor does the Explanatory Report of the Convention, in which it is only indicated that “the article does not adopt a posture on the admissibility of the principle of research on *in vitro* embryos” (side note 116). Furthermore, the use of the embryo for research excludes *per se* its use for procreation, although it should not be forgotten that these are embryos which have already been excluded from procreation.

The cryopreservation of embryos for reproductive aims is permitted under Spanish law for a maximum period of 5 years (article 11.3 of law 35/1988), which also means there is no legal exclusion of the possibility that surplus embryos may be produced, for example if the parent couple has died, separated or has abandoned the procreative project, and that after that period has elapsed without having fulfilled the procreative purpose, they must be unfrozen or, synonymous in terms of effect, destroyed. The National Commission on Assisted Human Reproduction understood this in a similar manner in its first report of December, 1998, considering that after expiry of the said period, unfreezing or other legally acceptable measures should be undertaken.

On the question of the cryopreservation of embryos and the possible existence of super-numerary or surplus embryos, the Constitutional Court has indicated in its judgment 116/1999, legal foundation No. 11 that “the impossibility of obtaining a sufficient number of pre-embryos necessary to ensure the probable success of the technique of assisted reproduction being used, in accordance with current biomedical knowledge, cannot be concluded from the Constitution; this, from another perspective, means that the possible existence of surplus pre-embryos has to be accepted as scientifically inevitable. This accepted, cryopreservation not only is not contrary to human dignity but, rather, and in consideration of the current state of the technique, it may be considered as the only remedy for the better use of the existing pre-embryos and avoid, in this way, unnecessary fertilisations”.

If any intervention is carried out on the viable *in vitro* embryo for reasons of research and experimentation, this must be applied research of a diagnostic character with therapeutic and prophylactic aims, and the non-pathological genetic make-up must not be modified (article 15.2). If the embryo is not viable, the intervention may include other types of research, so long as this cannot be undertaken in an animal model, the project is subject to external control, and the authorised periods are respected (article 15.3). Finally, if they are aborted embryos, they must be considered dead or non-viable and may be used for research or experimentation; in the first condition of dead embryos, they may be used for scientific, diagnostic or therapeutic aims and, in the second (non-viable), for previously defined and authorised pharmaceutical, diagnostic or therapeutic aims (article 17). In particular, certain activities are expressly authorised whilst others, qualified as undesirable, are prohibited, providing for a very lengthy list of circumstances in both groups of cases (article 16).

In summary, experimentation with *in vitro* human embryos is only legally permissible in Spain when those embryos are non-viable. For the National Commission on Assisted Human Reproduction, in its report from the year 2000, the legal significance of “non-viable” as applied to embryos is of a biological character, in the sense that they are not apt for the initiation or continuation of the process of cell division. In effect, the word “viability” appears unequivocally to hold this meaning in various segments of Law 35/1988. Articles 12, 13.2, 15.3, 17, 20.2, B, I) indicate that cryopreserved embryos which for various reasons or circumstances, personal or social, related to the progenitors, cannot be used for reproduction (functional non-viability), cannot legally be considered non-viable as this would be an interpretation clearly contrary to the spirit and letter of the law, independently of the judgement which this conclusion merits.

This means that any attempt to broaden the field of experimentation with cells from surplus embryos of any type requires the reform of the corresponding precepts, in particular of articles 15, 16 and 17 of Law 35/1988. Furthermore, article 11 of this Law has not appeared sufficiently clear to the members of the scientific-health community, the most immediate subjects of the law, specifically regarding how to proceed after the expiry of the maximum period of 5 years of cryopreservation, and as to the exact meaning of the statement that “after 2 years of cryopreservation of gametes or pre-embryos which do not originate from donors, these will be placed at the disposition of the corresponding banks” (article 11.4 which, in fact, appears to be contradicted by article 12.1, b, 2nd of RD 413/1996 of 1st March), apparently not very concordant with the above cited articles with respect to the consent of the progenitors and, in such event, the donors. These revisions are therefore also required for legal security in view of the interpretative debates arising from the cited provisions.

This question has been an object of study for many institutions, such as Parliament, giving rise to a number of debates and parliamentary initiatives, and the National Commission for Assisted Human Reproduction, which raised a proposal for the modification of the current legal situation. The recent approval by the government of Royal Decree 120/2003, of 31st January, regulating the requirements for the undertaking of controlled experiments on the fertilisation of previously frozen oocytes or ovarian tissue, with reproductive aims, could also contribute to a degree of alleviation of the problem of the large number of surplus human embryos.

V.3.4. Obtaining embryonic stem cell lines

This includes an examination not of the process of obtaining cell lines from the stem cells of human embryos, but the obtaining of lines developed by other centres, whether national or foreign. With respect to the former centres, there would be no appreciable limitation except for the requirements of security and quality of the sample provided, and protection from commercialisation, as will be commented below.

With regard to foreign centres, there is the possibility for commercialisation, the import or export of human embryos or their cells (e.g. stem cells cultivated or not in the laboratory), which is the solution which has been found in some countries in which there is a restrictive legislation (the German Parliament has thus authorised the import and use of human embryonic stem cells by its Law — *Stammzellgesetz* — of 28th June, 2002; the importation of embryonic cell lines is permitted in France by a Decree of 23rd February, 2000), but this is expressly prohibited in others (in Sweden, Law 1991: 115).

Law 35/1988 expressly prohibits commerce with pre-embryos or with their cells as well as their import or export (article 20.2, B, e). Although the relative prohibition of importation will require minute study, it may be stated that it is very doubtful that it would be applicable to obtaining these cell lines, always non-commercially, from established research centres or banks of biological material within the European Union.

V.4. Research or clinical trials performed using products obtained from stem cells

The various lines and techniques of research which are being developed in the field of stem cells are, as is known, aimed at developing a new form of treatment for certain degenerative and other diseases for which, in the majority of cases, there is still no other effective treatment. In consequence, in the logic of this research, after completion of the preclinical experiments in the laboratory, including animal models, the testing of their efficacy in human beings must be started, that is, experimentation in human beings using the biological materials derived from stem cells. Apart from the desired benefits which it is hoped to achieve for the patients, little is known on the incidents and adverse events which could arise in the still minimal number of clinical experiments known to date.

V.4.1. Preclinical research and experimentation

The intervention of society, through the corresponding authorities and administrative bodies, is ever more frequent in certain research and experimental practices with biological structures of human origin. The reason for this control is probably to be found in the desire to ensure the seriousness of the research in its objectives and methodologies which justifies the use of such structures, due to the respect given to all human beings, with even greater reason when dealing with embryos and fetuses. The absence of economic exploitation of biological structures as such and not in the production process itself, and the protection of the genetic information which they contain, are some of the principles informing preclinical research with material of human origin.

With reference to the donation of cells or tissues *ex vivo*, it is established that this may only have “therapeutic aims...”, although additional research may also be carried out, whereas tissues obtained from deceased persons may also be used for scientific purposes (article 6 of Royal Decree 411/1996, of 1st March, regulating the activities involving the use of human tissues). This limitation is difficult to reconcile with the specific context of stem cell research since the act of extraction is, in principle, innocuous, as was noted above, and it is the same donors who it is aiming to favour in the long run as potential receptors of the cell lines and beneficiaries of these treatments. For this reason, and accepting that other regulatory requirements must be satisfied, an in-depth appraisal of the true spirit of the following regulatory clarification is needed: “... that is, with the purpose of favouring the health or the conditions of life of their subsequent recipient or recipients, whatever research may also be carried out” (continuation of article 6, cited above); in the sense that the samples which the donor provides could benefit the donor himself. But there is no hiding the frequency of the exacting legal responses to practices in which there is little discussion of their ethical and legal admissibility, bringing to light, once more, the incongruity of the legal rules in the face of new scientific panoramas. Fortunately, it will be seen below that clinical research has access to another legal course which is not obstructed by the above.

With respect to the embryonic and foetal structures, apart from what has been said above concerning the regulatory requirements for obtaining them, the authorization of the

competent bodies, which are not easy to identify, and other requirements of a similar nature are necessary (articles seven et seq. of Law 42/1988).

Research involving *in vitro* embryos and their cells is subject to a specific regulation, essentially established in articles 15 to 17 of Law 35/1988. Apart from the specific requirements and limits established for viable, non-viable and dead embryos, succinctly stated above, the following general conditions, amongst others, are required: I) that consent is obtained from the persons from whom they originate, including the donor; II) that they do not develop *in vitro* for more than fourteen days after fertilisation of the ovum, excluding the period of cryopreservation, if applicable; and III) that the research is carried out in qualified and authorised centres (article 15.1).

The previously detected inadequacy of the restriction with respect to the fact that *ex vivo* donation is fundamentally limited to therapeutic aims is thrown into even greater relief in the case of the umbilical cord. In any case, preclinical research activities with *ex vivo* stem cells or stem cells from the umbilical cord, are not subject to any specific condition except that which may be derived from the same public or private organisation in which they are registered.

V.4.2. Clinical trials with stem cells

Clinical research, that is, the research which is carried out on human beings, must be subject to certain principles, rules, limits and controls stipulated by law, with the aim of avoiding the risks which these trials may involve for the human subjects entering them, and to ensure that they are carried out with scrupulous respect for the fundamental rights of these persons and with observance of the other ethical principles which must preside over all experimentation with human beings.

There is no doubt that amongst those implied rights are the fundamental right to life and the right to physical and moral integrity, as well as the constitutional prohibition of inhuman or humiliating treatment in the face of hypothetical practices of being guinea pigs (article 15 of the Constitution), the strictest interpretation of which towards harming the dignity of the human person (article 10.1) appears most evident in these cases. On this point it is also pertinent to remember the International Covenant on civil and political rights of 1966, ratified by the Kingdom of Spain in 1977 and which, in its article 7, indicates that “no-one will be subject to torture, harm or cruel, inhumane or degrading treatment. In particular, nobody will be subject to medical or scientific experiments without their freely given consent”.

In accordance with that indicated above, the Convention on human rights and biomedicine in force in Spain offers us a general framework: “Scientific research in the field of biology and medicine will be carried out freely, within the limits defined in this Convention and in other legal provisions which guarantee the protection of the human being” (article 15). After the reminder of such a relevant right, with its corresponding endorsement, also as a fundamental right, in the Constitution (article 20.1, b), it establishes a set of principles and basic conditions for experimentation with persons which it would appear opportune to review at this time and may be summarised as: I) that there is no alternative method of comparable efficacy to experimentation in human beings; II)

that the risks which may be incurred by the person are not disproportionate with respect to the potential benefits of the experiment; III) that the experimental project has been approved by the competent authority after having carried out an independent study of its scientific relevance, including an evaluation of the importance of the objective of the experiment as well as a multidisciplinary study of its ethical acceptability; IV) that the person who is to undergo the experiment is informed of his rights and of the guarantees which the law contemplates for his protection; and V) that the consent referred to in article 5 has been expressly and specifically given and is recorded in writing. This consent may be freely withdrawn at any time (article 16). Furthermore, special measures of protection are established for persons who are not able to give their consent to an experiment (article 17).

Similar regulations to the above have been being applied for many years in clinical trials of medicines and of other products included in them, such as occurs in Spain by means of the Law 25/1990 on medicines of 20th December, and, in particular, from its development in relation to clinical trials, by Royal Decree 561/1993, of 16th April, even though it may be necessary and urgent to carry out an in-depth review and update of this regulation, a matter which could be undertaken when the Spanish State proceeds to the transposition of the community Directive on the subject (directive 2001/20/EC of the European Parliament and Council, of 4th April, 2001, on the implementation of good clinical practice in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use).

In any case, the most significant question concerning clinical stem cell research is to determine which legal regulation is applicable in Spanish law. We may start by stating that this research lacks a regulation which specifically contemplates its peculiarities. In effect, the current regulations on the extraction and transplant of organs (Law 30/1979, of 27th October, and Royal Decree 2070/1999, of 30th December) and on human tissues (Royal Decree 411/1996, already cited) contemplate no special measures or external controls on experimentation in human beings in relation to such practices, and therefore do not appear to be applicable, even if these practices were given the qualification of therapeutic experimentation. For its part, the regulation on clinical trials appears to be conceived only for medicines and their regulation appears to be closer to the specific characteristics of these trials.

The above reflection does not signify that clinical research on stem cells lacks a legal framework which may be applied at this time. The current legislation on clinical trials is not incompatible and it is not excluded that it may even be applicable, directly or by analogy, to other modes of clinical research, such as clinical trials using stem cells. However, it must be assumed that there may be a degree of incongruity or certain omissions, as occurs with the compliance with the successive phases of drug trials, the use of placebo, or the plurality of subjects, which, in principle, do not affect trials with stem cells. The truth is that in the face of the ever more frequent requirements by certain public bodies, in particular the European Commission, for which, to finance specific clinical research the investigator has to prove that he has the approval of an Ethics Committee, this requirement has been satisfied on not infrequent occasions in our country by the Clinical Research Ethics Committees, created to supervise, approve and monitor clinical drug trials. These committees, logically and with the necessary rigour, have applied the regulations relating to these latter trials. As is to be discussed below, this is not a forced application.

In effect, in the first place, trials with stem cells in humans conform to the legal definition of clinical trial: “any experimental evaluation of a substance or drug by means of its administration or application to human beings, with one of the following aims: a) To demonstrate its pharmacodynamic effects or to collect data concerning its absorption, distribution, metabolism and excretion in the human organism; b) To establish its efficacy for a specific therapeutic, prophylactic or diagnostic indication; c) To establish its profile of adverse reactions and its safety” (article 59 of Law 25/1990). Nor may they be understood to be excluded from the field of application of the specific regulation on clinical trials: “This Royal Decree refers to all those clinical trials with drugs or products under clinical investigation which are carried out in Spain, including [...] all those substances considered to be drugs under article 8 of Law 25/1990 on medicines” (article 1 of Royal Decree 561/1993). The definitions provided by the Law on medicines (“all medicinal substances... destined for use in persons... which are presented as having properties to prevent, diagnose, treat, relieve or cure illnesses or suffering...”) and of “medicinal substance” as “any material, whatever its origin — human, animal, vegetable, chemical or of other type — which is attributed with an activity appropriate for use as a medicine”) provide for a flexible admission of stem cells of human origin which have undergone a process of transformation and multiplication in a laboratory, even though for other effects, as has been indicated above, stem cells of human origin are closer to the concept of human tissue.

In consequence, the application of the current legislation to clinical trials carried out with stem cells is also preferable to that applicable to organ and tissue transplant in view of the series of guarantees which it establishes for the patients and the greater clarity it holds for the investigators concerning norms of conduct, for their respective confidence and safety. As a regulating principle of clinical trials, it is brought to the attention that these must be undertaken under conditions of “respect for the fundamental rights of the person and for the ethical postulates which affect biomedical research in human beings”, alluding thus explicitly to the association with the Declaration of Helsinki and the need to obtain and document the informed consent, freely given by each one of the trial subjects before his inclusion (article 60.2 and 4 of Law 25/1990 and article 10.2 of Royal Decree 561/1993). No less important is the requirement that, before being carried out, clinical trials must have obtained the “prior report of the corresponding Clinical Research Ethics Committee” (article 10.1), as mentioned above, as well as that “the pre-clinical data on the product under study must be reasonably sufficient so as to guarantee that the risks for the subject on whom the trial is being carried out are admissible, that the design of the study minimises the risk for all subjects participating in it, and that the importance of the information being sought justifies the risk to which the subjects participating in the clinical trial are exposed” (article 10.3 of Royal Decree 561/1993).

In conclusion, all clinical trials involving stem cells of any origin must currently comply with the previous legal frameworks and with those others defined in current legislation, in order to ensure that these trials satisfy the principles of respect for the fundamental rights of the experimental subject, the scientific relevance of the proposed trial and the appropriate authorisation, follow-up and control by the corresponding authorities and committees. In any case, it must be repeated that an in-depth review and update of the current legislation on experiments in human beings is necessary in order to arrive at legal limitations better adapted to the peculiarities presented by trials carried out using bio-

logical material of human and non-human origin, as it has been seen that biomedical research is constantly opening new fields, such as gene therapy, the transplant of certain organs and tissues not yet fully established, xenotransplants, and transplant of stem cells themselves and other precursor cells. In all these cases, at the end of the day, testing will have to be carried out directly in human beings. This reference to the need for updating the legislation on the clinical trials is not to be taken lightly, since it was already justified by the legislation having become outdated and, in many respects, antiquated, and by the obligation of the Spanish state to comply with its accepted international and community obligations.

If, in the future, these biological materials and the procedures for their transformation become acceptable as a therapeutic standard, it would be legally complex to include them with medicines, pharmaceutical products with respect to marketed products, or other similar products, despite what has been stated with respect to clinical trials carried out with stem cells. In effect, according to the scientific hypotheses currently under investigation, it would be necessary to develop specific cell lines for each individual patient, starting even with that individual's own cells in order to produce these cell lines. This reflection leads us to conclude that the legislative framework which the system offers on human tissues, that is, Royal Decree 411/1996 (article 9 and subsequent) would adapt better to this hypothetical therapeutic panorama and, with greater reason, if these tissues were to come from a third party donor or from embryonic or foetal cells or tissues, in which case the provisions of Law 42/1988 (article 4) would also have to be observed. However, this royal decree lists in its annex the specific requirements for the centres for tissue implantation, depending on the activity to be carried out, but does not mention cells other than the progenitor cells or haemopoietic precursor cells.

In any case, with respect to these practices, incongruities, omissions, vagueness and overlapping are also observed in legislation initially conceived for situations very different from those which may develop in the future from treatment using stem cells, once again demonstrating the urgent need for a specific legislation of a regulatory nature; a community Directive on this matter is in a very advanced stage of preparation.

As in the previous section, all these deliberations form the basis for the recommendations set out at the beginning of this report.

Individual position

Mónica López Barahona

Dean of Biohealth Sciences and Professor of Molecular Oncology and Bioethics.

Francisco de Vitoria University

Scientific evidence demonstrates that the human embryo is — from its unicellular state of the zygote — a new individual of the human species which, in a continuous process throughout its life will be developing the different structures which make up the adult organism.

In the initial phases of its embryonic development, specifically from its state of zygote to the blastocyst, the embryo is made up of the so-called embryonic stem cells, the differentiation of which may be directed *in vitro* towards different cell types.

On the other hand, a personalistic view of human beings leads per se to the recognition of the intrinsic value of all individual human life. The value of this human being is in itself, in its act of being what it is: a living individual of the *homo sapiens* species, unique and unrepeatable.

In the personalistic and anthropological view, each human being is of value as an end in himself and not as a means to other ends, however worthy these may be — which means that human beings cannot be instrumentalised or objectified, since the end does not justify the means. The human embryo is, as recognised by science, an individual human life, a living individual of the *homo sapiens* species. It must be concluded that this individual has the right to be considered as an end in himself, and any action carried out against his life will be morally illicit.

The human embryo is not “a potential human” but “a true human being” since it exists and is alive as an individual of the *homo sapiens* species. What is in potential is the development of certain faculties, but not the subject of such faculties.

The value of the life of a human person — and this value is present in the human embryo — is not a value which can be compared with other values which are a function of the primary and fundamental value of existence. Life cannot enter into play with other values since it is the supposition which comes before all others. In the possible conflicts of values, all other values are subject to this.

From this standpoint, I cast my personal vote against points 4, 5 and 6 of the recommendations and conclusions of the report on stem cell research drawn up by this committee, and I qualify points 2, 7 and 8 of these recommendations and conclusions as I detail below.

Preliminary assumptions

- 1) The use of the surplus frozen embryos from the techniques of assisted reproduction in order to obtain embryonic stem cells from them causes the death of the embryos and, therefore, has certain important ethical connotations. In point 2 of the recommendations of the Committee's report, other sources are mentioned for obtaining embryonic stem cells which do not give rise to ethical problems; these include aborted foetuses. I consider it important to make the point that only the use of spontaneously aborted foetuses does not generate ethical problems, whereas the induction of an abortion to obtain stem cells from the foetus does generate such problems.
- 2) It is impossible to know whether the frozen embryo is dead or live after freezing. The only method to determine this is by unfreezing it.
- 3) The process of freezing and unfreezing represents an aggression against the embryo which may seriously damage its viability and which may cause the death of the embryo.
- 4) There is no biochemical criterion which enables the viability of an embryo to be defined, though morphological criteria and abnormal degrees of embryo fragmentation do exist which enable an embryo to be declared non-viable.
- 5) The embryo cannot remain alive *in vitro* beyond its state of blastocyst, the moment at which it must be transferred to the uterus of a woman in order to survive.
- 6) The reason for the debate on the use of embryonic stem cells is no other — at the present time — than the ability to carry out research with them; if they were to be used for therapeutic ends, embryos immunologically compatible with the patient would have to be generated in order to avoid the problems of rejection. This point is rejected in section 9 of the Committee's report.
- 7) It is necessary to know the exact number of surplus frozen embryos in Spain, the time for which they have been frozen and the conditions under which they were frozen in order to apply strictly the proposal summarised below.
- 8) The following proposal is based on the premise that the informed consent of the parents of the frozen embryos is obtained for any of the proposed alternatives.
- 9) Law of 35/88 must be modified — at least — in order not to generate more embryos than those which are to be transferred, to favour the freezing of oocytes and to define what to do with those already frozen.

Proposal

The surplus frozen embryos from the techniques of assisted reproduction are a source of stem cells. An embryo stored indefinitely in a freezer will eventually die and, therefore, the only means by which to give it the possibility to live and to form part of a parental process (the reason for which it was created) is its cryotransference to the uterus of a woman. Waiting lists of between 5 and 10 years currently exist for couples who wish to adopt a born child to be able to achieve this.

In view of this unsatisfied demand, the surplus embryos should be unfrozen chronologically — with the informed consent of the parents — with the primary aim of transferring them to the uterus of the adoptive mothers who desire to carry through the gestation of these embryos. The process of prenatal adoption would be implemented and regulated in the same manner in which today the adoption of born children is regulated.

In the process of unfreezing the embryos, three situations may arise:

- 1) Embryos which die or are already dead on unfreezing. With the informed consent of their parents, their integral parts (their embryonic stem cells which maintain the capacity to proliferate) could be used for research.
- 2) Embryos which satisfy the morphological criteria and present degrees of fragmentation which permit them to be defined as non-viable after unfreezing. The practices of *in vitro* fertilisation have demonstrated that these embryos are unable to live, whether transferred to the uterus of the mother or in *in vitro* culture media; therefore, the previous paragraph may also be applied in this case.
- 3) Embryos which are alive and are viable on unfreezing. These must be transferred to the uterus of the adoptive mother to fulfil their embryonic development. The use of these embryos to obtain stem cells would represent the elimination of their life which could develop in the favourable environment of the female uterus.

This proposal aims to offer the possibility of research with stem cells: adult and embryonic. However it condemns the obtaining of embryonic stem cells from sources which represent the elimination of the life of an individual of the human species. This would be the case in the regulated but indiscriminate use of all the surplus embryos which have exceeded the time limit of 5 years of cryopreservation stated by the law, without saving the life of the viable embryo which may be transferred to the uterus of a woman.

Annex 1. Bibliographic references

1. Scientific aspects (See page 69)
2. Ethical Aspects (See page 83)
3. Legal aspects (See page 85)

Annex 2. List of external experts

Manuel García Verdugo

Professor of Parasitology and Cellular Biology, University of Valencia

Yolanda Gómez Sánchez

Professor of Constitutional Law, National University of Distance Education

Ramón Gomis de Barbarás

Head of Department, Endocrinology and Nutrition, Clinical Hospital of Barcelona

Diego Gracia Guillén

Professor of History of Medicine, Complutense University of Madrid
Director of the Institute of Bioethics, Health Sciences Foundation

Juan Ramón Lacadena

Professor of Genetics, Complutense University of Madrid

Natalia López Moratalla

Professor of Biochemistry and Molecular Biology, University of Navarra

Manuel López Pérez

Professor of Biochemistry and Molecular Biology, University of Zaragoza

Encarna Roca i Trias

Professor of Civil Law, University of Barcelona

Manuel Serrano Ríos

Head of Department, Internal Medicine II, San Carlos Clinical Hospital, Madrid

José Miguel Serrano Ruiz-Calderón

Lecturer of Philosophy of Law, Complutense University of Madrid

Acknowledgements:

The members of the Advisory Committee on Ethics of Scientific and Technical Research appreciate all the logistic support carried out by Dr. Sonia Covadonga Antolin Martínez and Ms. Rosa Capeáns Garrido.

Edita: Fundación Española Ciencia y Tecnología
Traducción al inglés: Translator
Diseño Gráfico: Florencia Grassi y Brendan McCormick
Maquetación: Silvia Jimeno
Impreso en Madrid, mayo 2003
Depósito Legal:



MINISTERIO
DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA

www.fecyt.es