

**Universitat Politècnica de València**

**ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL**



**Grado en Biotecnología**

**TRABAJO FINAL DE GRADO**

**ASPECTOS JURÍDICOS DEL USO DE  
CÉLULAS MADRE  
EMBRIONARIAS HUMANAS EN  
INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA**

**Alumno/a:** Teresa María González Cortijo

**Tutor/a:** Dra. Francisca Ramón Fernández

**Curso académico:** 2015/2016



**Valencia, 23 de mayo de 2016**

# ASPECTOS JURÍDICOS DEL USO DE CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS (hESCs) EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

## ***Resumen***

Desde su descubrimiento, las células madre embrionarias han supuesto una herramienta atractiva con inclusión en numerosos campos de la Biomedicina. Sin embargo, la aplicación potencial de estas células se ha visto frenada por la controversia que las rodea, principalmente en cuanto a su procedencia. Así, en este trabajo se realiza una revisión de la legislación que concierne a la obtención y uso de preembriones humanos y las subsecuentes células madre embrionarias obtenidas de los mismos, tanto en España como en diferentes países europeos.

**Palabras clave:** bioética, células madre embrionarias, fertilización in vitro, investigación biomédica, legislación, preembriones sobrantes.

## ***Abstract***

Since their discovery, embryonic stem cells have become an attractive tool to be included in several biomedical fields. However, the potential application of these cells has been hampered because of the controversy that surrounds them, especially in respect of their provenance. Thus, this paper focuses on the legislation that is related to collection and use of human pre-embryos and the subsequent human embryonic stem cells obtained from them, both in Spain and in several European countries.

**Key words:** bioethics, embryonic stem cells, in vitro fertilization, biomedical research, legislation, spare embryos.

**Autora:** Dña. Teresa María González Cortijo

**Valencia, mayo de 2016**

**Tutor académico:** Prof. Dña Francisca Ramón Fernández.

*Dedicado a Francisca, por acogerme,  
aconsejarme, y ayudarme en todo momento,  
no sólo de forma académica, si no con su  
constante optimismo.*

*A mis padres, por apoyarme estos 22 años,  
por enseñarme a relativizar los problemas,  
por permitir que ahora esté escribiendo este  
trabajo.*

*Y especialmente, a mis amigos, los que me han  
aguantado durante este camino, me han escuchado,  
y han confiado en mí hasta cuando yo no lo hacía.*

# ÍNDICE

|   |           |
|---|-----------|
| <b>ABREVIATURAS</b> .....   | <b>1</b>  |
| <b>INTRODUCCIÓN</b> .....   | <b>2</b>  |
| <b>OBJETIVOS</b> .....  | <b>2</b>  |
| <b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....   | <b>3</b>  |
| <b>1. PERSPECTIVA HISTÓRICA</b> .....   | <b>4</b>  |
| 1.1. TERATOCARCINOMAS: EL PUNTO DE PARTIDA PARA EL DESCUBRIMIENTO DE LAS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS. PRIMEROS EXPERIMENTOS <i>IN VIVO</i> ..... | 4         |
| 1.2. LA CONFIRMACIÓN DE LA NATURALEZA EMBRIONARIA. EXPERIMENTOS <i>IN VITRO</i> .....   | 5         |
| 1.3. AVANCE EN LAS TÉCNICAS DE CULTIVO. CÉLULAS EMBRIONARIAS DE CARCINOMA .....   | 5         |
| 1.4. PRIMEROS EXPERIMENTOS EN HUMANOS .....   | 5         |
| 1.5. MARCADORES DE CÉLULAS EMBRIONARIAS DE CARCINOMA .....  | 6         |
| 1.6. CONDICIONES DE CULTIVO. COMPUESTOS.....  | 6         |
| 1.7. CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS .....   | 7         |
| 1.8. CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS .....   | 7         |
| <b>2. LAS CÉLULAS MADRE. APLICACIÓN EN BIOMEDICINA</b> .....  | <b>8</b>  |
| 2.1. DIFERENCIAS ENTRE CÉLULAS MADRE ADULTAS Y EMBRIONARIAS.....  | 8         |
| 2.2. CARACTERÍSTICAS DE LAS ESCs .....  | 9         |
| 2.3. hESCs: LOCALIZACIÓN Y DESARROLLO EMBRIONARIO .....   | 10        |
| 2.4. FUENTES PARA LA OBTENCIÓN DE hESCs.....  | 11        |
| 2.5. AISLAMIENTO Y CULTIVO DE hESCs.....  | 12        |
| 2.6. MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA LA OBTENCIÓN DE hESCs .....  | 13        |
| 2.7. DIFERENCIACIÓN <i>IN VITRO</i> DE ESCs .....   | 15        |
| 2.8. APLICACIONES ACTUALES .....  | 15        |
| 2.8.1. Descubrimiento de fármacos .....   | 16        |
| 2.8.2. Terapias de reemplazo celular.....   | 16        |
| 2.9. LIMITACIONES DE LAS hESCs Y ASPECTOS ÉTICOS.....   | 17        |
| <b>3. NORMATIVA APLICABLE A LAS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS (hESCs) EN ESPAÑA</b> .....  | <b>18</b> |
| 3.1. NORMATIVA ANTERIOR.....  | 19        |
| 3.1.1. Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción asistida   | 19        |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.1.2. Ley 42/1988, de 28 de diciembre, sobre donación y utilización de embriones o de sus células, tejidos u órganos.....   | 19        |
| 3.1.3. Ley 45/2003, de 21 de noviembre, por la que se modifica la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida.....  | 20        |
| 3.2. LEGISLACIÓN VIGENTE ESTATAL.....  | 21        |
| 3.2.1. Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida.....   | 21        |
| 3.2.2. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica.....   | 22        |
| 3.3. LEGISLACIÓN VIGENTE AUTONÓMICA.....   | 22        |
| 3.3.1. Ley 7/2003, de 20 de octubre, por la que se regula la investigación en Andalucía con preembriones humanos no viables para la fecundación in vitro.....  | 22        |
| 3.3.2. Ley 1/2007, de 16 de marzo, por la que se regula la investigación en reprogramación celular con finalidad exclusivamente terapéutica.....   | 22        |
| 3.4. PRONUNCIAMIENTOS DEL TRIBUNAL CONSTITUCIONAL.....   | 23        |
| 3.5. OTRAS NORMATIVAS.....   | 24        |
| 3.5.1. Decisión del Consejo, de 3 de diciembre de 2013, por la que se establece el Programa Específico por el que se ejecuta Horizonte 2020 - Programa Marco de Investigación e Innovación (2014-2020) y se derogan las Decisiones 2006/971/CE, 2006/972/CE, 2006/973/CE, 2006/974/CE y 2006/975/CE..... | 24        |
| <b>4. ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS DISTINTAS LEGISLACIONES EN EUROPA.....</b>  | <b>25</b> |
| 4.1. INVESTIGACIÓN PERMITIDA.....  | 25        |
| 4.1.1. República Checa.....  | 25        |
| 4.1.2. Portugal.....   | 26        |
| 4.1.3. Suiza.....  | 26        |
| 4.1.4. Reino Unido.....  | 27        |
| 4.2. INVESTIGACIÓN RESTRINGIDA.....  | 27        |
| 4.2.1. Francia.....  | 27        |
| 4.3. INVESTIGACIÓN PROHIBIDA Y/O CON ASPECTOS SIN LEGISLAR.....  | 28        |
| 4.3.1. Lituania.....   | 28        |
| 4.3.2. Italia.....   | 28        |
| 4.3.3. Austria.....  | 29        |
| 4.3.4. Irlanda.....  | 29        |
| <b>CONCLUSIONES.....</b>   | <b>30</b> |
| <b>REFERENCIAS.....</b>  | <b>32</b> |

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

**Figura 1.** Eje cronológico resumen de la investigación con células madre embrionarias (ESCs).

**Figura 2.** Estadios del desarrollo en los que se pueden encontrar los diversos tipos de células madre.

**Figura 3.** Fases del desarrollo embrionario.

**Figura 4.** Partes del blastocisto.

**Figura 5.** Fuentes de células madre embrionarias humanas (hESCs).

**Figura 6.** Obtención de ESCs a partir de blastocistos cultivados.

**Figura 7.** Métodos alternativos para la obtención de ESCs.

**Figura 8.** Mapa de diversos países europeos coloreados según el nivel de permisividad respecto a la investigación con hESCs.

## **ÍNDICE DE TABLAS**

**Tabla 1.** Resumen de los aspectos que conciernen a la investigación con hESCs en distintas legislaciones derogadas y vigentes en España.

## **ABREVIATURAS**

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ASC: Adult stem cell (célula madre adulta).

bFGF: Basic fibroblast growth factor (factor básico de crecimiento de fibroblastos).

BMP4: Bone morphological protein 4 (proteína morfológica de hueso 4).

BOE: Boletín Oficial del Estado.

CE: Comisión Europea/ Comunidad Europea

DUOE: Diario Oficial de la Unión Europea

EB: Embryoid body (cuerpo embrioide).

ECC: Embryonic carcinoma cells (células madre de carcinoma embrionario/células madre embrionarias de carcinoma).

ESC: Embryonic stem cell (célula madre embrionaria).

FCS: Fetal calf serum (suero fetal de ternera).

h: Human (humano).

ICM: Inner cell mass (masa celular interna).

LIF: Leukemia inhibitory factor (factor inhibidor de leucemia).

m: Mouse (ratón).

MEF: Mouse embryonic fibroblasts (fibroblastos embrionarios de ratón).

RO: Recueil officiel (compilación oficial)

RS: Recueil systematique (compilación sistemática).

SCNT: Somatic cell nuclear transfer (transferencia nuclear de células somáticas).

SSEA: Stage-specific embryonic antigen (antígeno específico del estado embrionario).

## **INTRODUCCIÓN**

Los avances en el campo de la Biomedicina han tenido lugar de forma exponencial en el último siglo y principios del presente, gracias al desarrollo de nuevas técnicas y metodologías, y el trabajo constante de la comunidad científica por alcanzar hallazgos que permitan una mejora en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes. De gran importancia han sido las células madre embrionarias, las cuales, desde su descubrimiento, se han situado en el foco de numerosas investigaciones de distinta índole, aprovechando las características especiales que presentan las mismas: pluripotencialidad y autorenovación. Junto con el especial interés suscitado por estas células, encontramos las técnicas de reproducción asistida, las cuales han experimentado un gran auge entre la población, proporcionando así el material necesario para la investigaciones con células madre embrionarias humanas, los preembriones humanos sobrantes de los tratamientos de fertilización in vitro.

Sin embargo, la controversia a nivel ético que despiertan estas células, sobre todo en lo que respecta a su obtención, así como el escepticismo de la población y parte de la comunidad científica, no ha dejado de ser latente en este tema. Esto ha llevado al desarrollo de nuevas técnicas que permiten obtener células con características similares, como son la técnica de reprogramación celular y la transferencia nuclear de células somáticas, las cuales han recibido una gran aceptación por los resultados favorables obtenidos en las investigaciones realizadas con ellas.

En lo que se refiere a la legislación, hasta el momento encontramos leyes, tanto en España como en Europa, en las que se hace referencia a las células madre embrionarias humanas en ciertos apartados. A pesar de ello, no contamos con una ley específica para estas (con alguna excepción, como en el caso de Francia).

La trascendencia de esta materia, no sólo a nivel científico, sino también ético, moral o religioso, hace necesaria la elaboración de una regulación contundente y específica en la que se contemple, además de un conocimiento exhaustivo por parte de los profesionales del sector, con el objetivo de estar ubicados en todo momento en un marco actual y legal.

## **OBJETIVOS**

Con el presente trabajo, se pretende realizar un análisis exhaustivo de la legislación que regula el uso de células madre embrionarias humanas, tanto en España como en diversos países de Europa. Puesto que, salvo en excepciones, no existe una regulación concreta, se señalarán aquellas en las que se haga referencia al uso de preembriones humanos y la obtención de células madre embrionarias humanas, con el objetivo de obtener una visión global de los conceptos que se encuentran contemplados en las diferentes leyes y normativas.

Así mismo, se analiza la evolución que ha sufrido la legislación española en este ámbito, desde la publicación de la primera ley sobre reproducción asistida en 1988, con el fin de

adaptarse a los avances científicos, y los cambios sociales sufridos en este país con los años.

De igual manera, en el presente trabajo se muestra el desarrollo del conocimiento sobre células madre embrionarias humanas, desde su descubrimiento hasta la situación actual en la que se encuentran las investigaciones, así como los distintos conflictos éticos que acarrearán las mismas, como es el uso de preembriones humanos con fines de investigación. Así, se abordan de forma objetiva distintos aspectos de las técnicas, para que el lector pueda reflexionar sobre el tema y crear una opinión propia sobre la importancia de las células madre embrionarias humanas y la regulación que las atañe.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

La realización de este trabajo se basa principalmente en la búsqueda de recursos bibliográficos, tanto en aspectos técnicos y científicos, como jurídicos.

Para la recopilación y elaboración del contenido científico, se han realizado búsquedas en los principales repositorios de artículos científicos, como son NCBI, PubMed o Nature, además de webs y organismos especializados en la materia tratada.

En cuanto al estudio de la normativa, se ha acudido a las publicaciones online del Boletín Oficial del Estado, así como otras páginas y bases de datos jurídicas en las que se encuentra reunidas normativas de distinta índole, como EUR-lex.

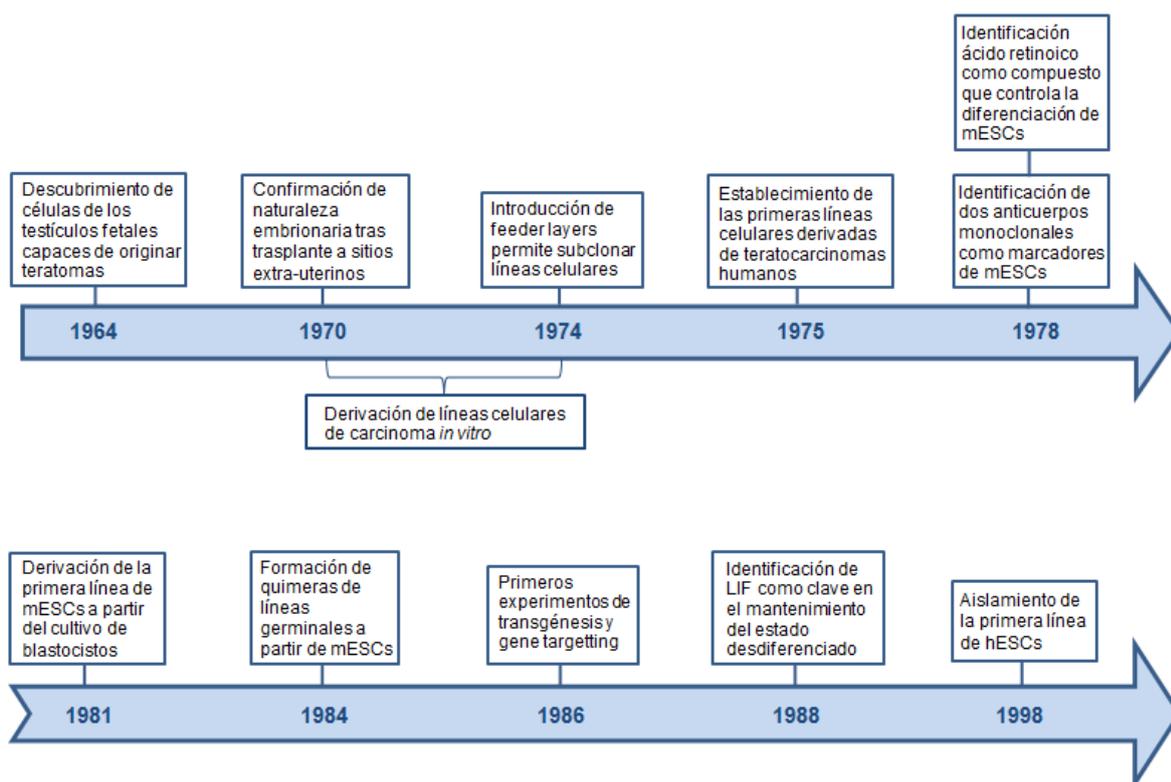
En lo que se refiere al estudio de la normativa en los distintos países europeos que han sido analizados, se han recurrido a las fuentes oficiales de cada uno en los que se publican, de forma actualizada, las leyes vigentes disponibles en el momento. La traducción de las mismas, se ha realizado por comprensión propia, salvo en algunos casos, en los que se ha requerido la ayuda de personas cuya lengua materna es el idioma en cuestión.

Por último, diversas asignaturas del Grado en Biotecnología y los recursos proporcionados por ellas han sido muy útiles para la elaboración del presente trabajo, como son Aspectos Legales y Sociológicos de la Biotecnología, Introducción a la Biomedicina, y Cultivos de Células y Tejidos Animales.

La consulta exhaustiva de estas metodologías ha permitido una recopilación completa de la materia tratada, tanto de forma científica como jurídica, así como la elaboración de una opinión personal, dando como resultado el presente trabajo.

## 1. PERSPECTIVA HISTÓRICA

En este apartado, se va a analizar cómo ha evolucionado el conocimiento sobre las células madre desde los primeros experimentos con teratocarcinomas hasta el aislamiento de las primeras células madre embrionarias humanas. Así, como se muestra en la figura 1, han tenido que pasar más de dos décadas de investigaciones sobre tejidos y células animales hasta que finalmente, se consiguió obtener la primera línea celular procedente de blastocistos humanos.



**Figura 1 | Eje cronológico resumen de la investigación con células madre embrionarias (ESCs).**  
Fuente: elaboración propia.

### 1.1. TERATOCARCINOMAS: EL PUNTO DE PARTIDA PARA EL DESCUBRIMIENTO DE LAS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS. PRIMEROS EXPERIMENTOS *IN VIVO*

Los teratomas y teratocarcinomas son tumores, benignos y malignos respectivamente, que se encuentran normalmente en las gónadas y contienen derivados de tejidos de las tres capas germinales (Bulić-Jakuš *et al.*, 2006). A pesar de su rara incidencia en animales experimentales, su composición y apariencia histológica han mantenido el interés en estos tumores, hasta conseguir la descripción en 1954 de la primera línea de ratón que mostraba una incidencia de teratoma testicular espontáneo del 1%. Éste mostraba una naturaleza maligna, por su rápido crecimiento al ser trasplantados (Stevens & Little, 1954). En la siguiente década, diversos intentos de describir la espontaneidad y origen de estos tumores llevó al descubrimiento de un grupo de células en los testículos fetales, con la capacidad de convertirse en teratomas o teratocarcinomas (Stevens, 1964). En ese mismo año, se realizó un experimento en el que se demostraba cómo una sola célula, derivada de un tumor e inyectada intraperitonealmente, podía producir todos los tipos celulares que se encontraban en un

teratocarcinoma (Kleinsmith & Pierce, 1964). Estos descubrimientos evidenciaban la existencia de un único tipo de célula madre en los teratocarcinomas, con la capacidad de crecer indefinidamente así como de diferenciarse en diversos tipos celulares adultos.

La existencia de estas células pluripotentes, unida a la observación de estructuras tumorales denominadas cuerpos embrioides (EB), otorgaba a los teratocarcinomas una naturaleza embrionaria. Esta hipótesis fue respaldada tras el trasplante de teratocarcinomas derivados de embriones de ratón a sitios extra-uterinos (Stevens, 1970).

## 1.2. LA CONFIRMACIÓN DE LA NATURALEZA EMBRIONARIA. EXPERIMENTOS *IN VITRO*

Además de los experimentos *in vivo* para caracterizar y discernir la naturaleza de las células de teratomas y teratocarcinomas, diversos ensayos se focalizaron en cultivar fragmentos de los tumores mencionados con el objetivo de revelar el proceso de diferenciación desde la pluripotencialidad hasta los tipos celulares adultos *in vitro*. Así, entre 1970 y 1974, se consiguió derivar líneas celulares clonales, que en cultivo producían varios tipos celulares (Rosenthal *et al.*, 1970; Evans, 1972). Estos resultados permitieron enfatizar la hipótesis de la existencia de células madre pluripotentes en las masas tumorales; sin embargo, la diferenciación de las mismas seguía siendo irregular, sin seguir un patrón lógico.

## 1.3. AVANCE EN LAS TÉCNICAS DE CULTIVO. CÉLULAS MADRE DE CARCINOMA EMBRIONARIO

El establecimiento de cultivos de células madre propulsó la necesidad de medios de cultivo que mantuvieran las mismas en su estado natural indiferenciado. La introducción de las feeder layers (capas nutricias) permitió a Martin y Evans (1974) subclonar en masa líneas celulares pluripotentes de teratocarcinomas. Además, observaron un tipo celular con las características deseadas, que crecía en forma de pequeñas colonias, con un gran núcleo, con numerosos nucléolos, y un citoplasma disperso. Estas agrupaciones celulares no se unían al plástico de las placas, si no que formaban EBs simples, con una similitud morfológica clara con los embriones de ratón post-implantación (Martin & Evans, 1975). Estas células de las colonias eran las células madre de los tumores, y por ello pasaron a llamarse células madre embrionarias de carcinoma o células madre de carcinoma embrionario (ECCs).

## 1.4. PRIMEROS EXPERIMENTOS EN HUMANOS

El trabajo previo realizado con células de ratón permitió un avance rápido en el establecimiento de teratocarcinomas humanos *in vitro*. Así, el análisis inicial de estos siguió las mismas premisas: fragmentos cultivados, a partir de los cuales se observaban distintos tipos celulares (Fogh & Trempe, 1975). Las líneas celulares derivadas de los

cultivos, su capacidad de diferenciación y sus propiedades fueron analizadas, mostrando similitudes clave con los resultados obtenidos en ratón (Andrews *et al.*, 1980).

#### 1.5. MARCADORES DE CÉLULAS EMBRIONARIAS DE CARCINOMA

La derivación y caracterización de las ECCs, tanto de ratón como de humano, hizo necesario el uso de marcadores que permitieran una identificación inequívoca de las mismas. En primer lugar, se reconocieron dos anticuerpos monoclonales que reaccionaban de forma específica con ECCs de ratón, concretamente con el antígeno de Forssman (Stern *et al.*, 1978) y con el SSEA1 (Solter & Knowles, 1978). Estos anticuerpos mostraban una gran efectividad en el seguimiento de la derivación de las células y su diferenciación; sin embargo, no eran útiles para la distinción de ECCs

Esto llevó a una búsqueda intensiva de marcadores, si no propios, también válidos para reaccionar con las células de procedencia humana. Así, en 1981, Berham *et al.* identificaron la sobreexpresión de la enzima fosfatasa alcalina en células embrionarias de carcinoma humano y de ratón, así como en la masa celular interna del blastocisto y en las células germinales primordiales. Cabe destacar que estos estudios no partieron de cero, puesto que la enzima fosfatasa alcalina había sido identificada previamente como posible marcador (Bernstine *et al.*, 1973).

Estos descubrimientos impulsaron la búsqueda de más marcadores que permitieran identificar las ECCs, ya no sólo en su estado original si no también tras la diferenciación. Así, se identificaron dos anticuerpos monoclonales reactivos con las células tanto de ratón como de humano, concretamente con los epítopos SSEA3 y SSEA4, carbohidratos expresados en la superficie celular (Shevinsky *et al.*, 1982; Kannagi *et al.*, 1983). A pesar de la dualidad de especie, estos anticuerpos mostraban una mayor especificidad por las células de procedencia humana. Esto hizo continuar con el análisis de los mismos, hasta concluir que dicha desigualdad se debía a una expresión inversa en ratón y humano según el estado de diferenciación: las células de carcinoma embrionario de ratón expresaban SSEA1 en estado indiferenciado y SSEA3 y SSEA4 cuando se diferenciaban; por el contrario, las células humanas mostraban SSEA3 y SSEA4, sobreexpresando SSEA1 cuando pasaban a un estado diferenciado (Fenderson *et al.*, 1987). Esto constituyó una forma de monitorizar tanto el correcto aislamiento de las células como su diferenciación temprana.

#### 1.6. CONDICIONES DE CULTIVO. COMPUESTOS

Desde los primeros experimentos realizados con las células derivadas de teratocarcinomas, se observaba una diferenciación impredecible. Por ello, se investigaron numerosos compuestos que llevaran a un proceso controlado, hasta que Strickland y Mahdavi (1978) descubrieron que el ácido retinoico, usado sólo o en combinación con cAMP, inducía la diferenciación de una línea celular de carcinoma embrional a células con un parecido al endodermo parietal. Poco después se probó el compuesto químico hexametilbisacetamida, el cual mostró resultados similares (Jakob *et al.*, 1978). Estos descubrimientos constituyeron las bases para la investigación de compuestos que permitieran una diferenciación controlada de las ECCs y las posteriormente nombradas células madre embrionarias.

## 1.7. CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS

Hasta el momento, se ha hablado de las ECCs, las cuales se obtenían de forma indirecta a partir de un embrión trasplantado a un sitio extra-uterino que daba lugar a un teratocarcinoma. Sin embargo, la obtención de células madre directamente de embriones aún no se había conseguido. La primera línea de células madre embrionarias de ratón (mESCs) fue derivada en 1981 por dos grupos de investigación diferentes (Evans & Kaufman, 1981; Martin, 1981). Estas líneas celulares procedían de blastocistos cultivados en una capa nutricia de fibroblastos de ratón, de manera similar a cómo se había hecho previamente con el cultivo de ECCs. Además, las células embrionarias expresaban los mismos marcadores que sus antecesoras y seguían un proceso de diferenciación *in vivo* e *in vitro* también similar, formando EBs en los que se observaban diferentes tejidos adultos (Doetschman *et al.*, 1985). Debido a estas similitudes marcadas, los estudios con ESCs se centraron en la mejora de las condiciones de cultivo ya establecidas. Así, se descubrió la esencialidad del factor inhibitorio de leucemia (LIF) en el mantenimiento de los cultivos en estado indiferenciado, cuya retirada, junto al mantenimiento de los cultivos en suspensión, constituía la formación de EBs y consecuente diferenciación (Williams *et al.*, 1988). Esto supuso un gran avance, y todavía hoy en día sigue siendo esencial en el establecimiento de líneas de ESCs.

Tras el aislamiento de las células madre, se probó su capacidad para formar quimeras de líneas germinales (Bradley *et al.*, 1984). Los resultados positivos contribuyeron al desarrollo de la transgénesis (Gossler *et al.*, 1986), así como gene targeting por recombinación homóloga (Thomas & Capecchi, 1987), situando las ESCs en el punto de mira como posible herramienta para la corrección de errores genómicos.

## 1.8. CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS

La obtención de células madre embrionarias humanas ha sido un evento más tardío, en comparación con las células madre embrionarias de ratón. Esto se puede achacar a la dificultad de obtener material embrionario de calidad, así como los problemas legales y los dilemas éticos que concierne al uso de embriones humanos para la investigación. Así, la derivación de la primera línea de células madre embrionarias humanas (hESCs) data de 1998 (Thomson *et al.*, 1998), año en el que también se aisló la primera línea celular germinal (Shamblott *et al.*, 1998). A pesar de su aparición tardía, el uso de estas células ha tenido un gran éxito, gracias a las aportaciones de embriones de las clínicas de fertilización *in vitro* y la inversión de compañías privadas.

Debido a su naturaleza y aplicación para humanos, es necesaria la puesta a punto de cultivos que no requieran capas nutricias y sueros procedentes de animales. Este proceso de optimización de las condiciones está recogiendo gran interés y esfuerzo por parte de los investigadores. Además, no debe olvidarse su potencial cancerígeno y la probabilidad de acumular mutaciones (García, 2016). Por ello, en la actualidad, las células madre embrionarias humanas constituyen una herramienta muy potente por sus amplias posibles aplicaciones terapéuticas, pero con un gran camino por recorrer para que puedan ser una realidad en la clínica.

## 2. LAS CÉLULAS MADRE. APLICACIÓN EN BIOMEDICINA

Desde su descubrimiento, las células madre han supuesto una revolución en la ciencia, abarcando un amplio abanico de aplicaciones, desde la estética a la nutrición, pasando por la investigación embriológica y la reproducción asistida. Sin embargo, si hay un campo en el que las células madre se han abierto camino con fuerza es el de la medicina regenerativa y las terapias celulares.

El concepto de célula madre hace referencia a distintos estadios con distintas características, comportamiento, y grados de diferenciación. Sin embargo, podemos resumir que todas las células madre poseen:

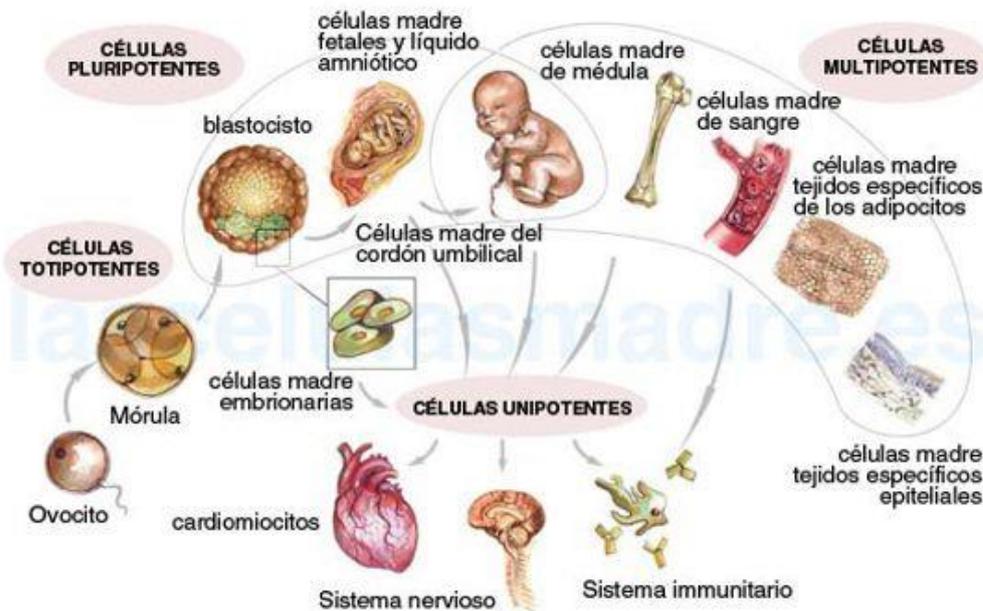
- un estado indiferenciado y el potencial intrínseco para originar nuevas células especializadas, características de un órgano o tejido específico, sirviendo como sistema de reemplazamiento y reparación de localizaciones dañadas (NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2015).
- la capacidad de dividirse y autorenovarse durante largos períodos, dando lugar de forma ilimitada a células no especializadas, iguales a la célula progenitora (EL UNIVERSAL, 2013).

### 2.1. DIFERENCIAS ENTRE CÉLULAS MADRE ADULTAS Y EMBRIONARIAS

Como se ha mencionado anteriormente, las células madre abarcan un gran conjunto de células con distintos rasgos fenotípicos. En biomedicina, la forma más común de clasificación las divide en dos tipos: células madre adultas o somáticas (ASCs) y células madre embrionarias (ESCs).

La diferencia más significativa entre ambos grupos es su potencialidad, esto es, el número y rango de células que pueden originar: las células madre adultas pueden diferenciarse en tipos celulares de su tejido de origen, por lo que se les otorga el rasgo de multipotenciales (González & Bernad, 2012), mientras que las ESCs tienen una naturaleza pluripotente, pudiendo diferenciarse en cualquier tipo celular, incluida la línea germinal (Keller, 2005).

Además, el estadio del desarrollo en el que podemos encontrarlas también difiere. Las ASCs, se forman en la médula ósea, y residen en numerosos tejidos y órganos postnatales, en pequeñas cantidades y áreas específicas de los mismos. Los tejidos adultos que contienen células madre son: cerebro, sangre periférica, vasos sanguíneos, músculo esquelético, piel, tejido adiposo, bazo, riñones, e hígado (Kumar *et al.*, 2010). Las ESCs, como se detalla en el siguiente punto del presente trabajo, se localizan en el embrión en estado de blastocisto; también encontramos células madre con características de pluripotencialidad en el líquido amniótico y la placenta. (Matikainen & Laine, 2005; Antonucci *et al.*, 2012; TE INTERESA.ES, 2014). Debido al poco desarrollo de las técnicas que conciernen a estas nuevas fuentes, estas células madre no se contemplarán en el presente trabajo.



**Figura 2 |** Estadios del desarrollo en los que se pueden encontrar los diversos tipos de células madre.

Fuente: <http://www.proloterapia.com/celulas/tiposcm.html> (consultado el 9 de mayo de 2016).

A pesar de que las células madre adultas han sido exitosas en el tratamiento de diversas enfermedades, como diabetes, Parkinson, Alzheimer, o enfermedades cardiovasculares (HINDAWI, 2015), estas presentan ciertas limitaciones. Como se ha mencionado anteriormente, las células madre adultas se encuentran en pequeñas cantidades en los órganos y tejidos, lo que dificulta el proceso de obtención, aislamiento y purificación.

Además, en algunos casos, como el de las células madre procedentes de la médula ósea, la obtención puede ser muy dolorosa para el paciente y el proceso de recuperación largo y costoso (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2013). A esto se le une una menor capacidad proliferativa frente a las células adultas embrionarias, y una mayor acumulación de aberraciones del ADN (debidas a la radiación solar, toxinas, y errores en la replicación durante el transcurso de la vida del individuo) (Ramalho-Santos *et al.*, 2002). Todo esto debilita el potencial clínico de las células madre adultas, aumentando así el interés en las células madre embrionarias humanas.

## 2.2. CARACTERÍSTICAS DE LAS ESCs

Las células madre embrionarias (ESCs) son células pluripotentes capaces de originar todos los tipos celulares en el embrión (Vazin & Freed, 2010).

De forma más amplia, las ESCs presentan unos rasgos que les hacen ser consideradas como tal:

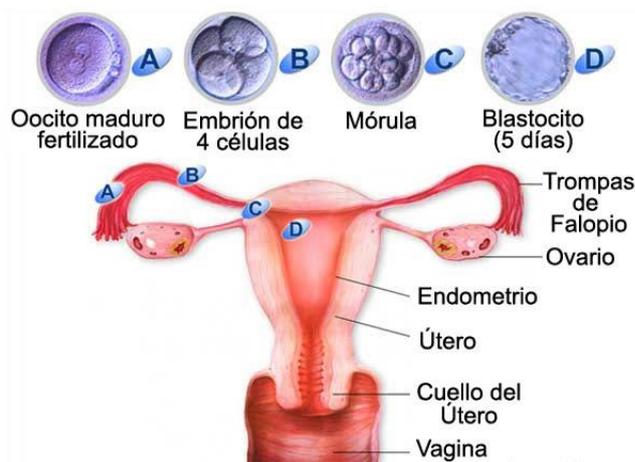
- In vitro, son diploides de forma estable y normales en cuanto a su cariotipo (Pera *et al.*, 2000).
- Pueden propagarse indefinidamente en cultivo, esto es, mantener su capacidad de autorenovación tras determinados pasajes y en un período prolongado de tiempo, conservando el estado indiferenciado de forma homogénea (Arias y

Felmer, 2009). Esto no ocurre *in vivo*, puesto que se van diferenciando durante el desarrollo intrauterino.

- Pueden diferenciarse en cualquier tipo celular de las tres capas germinales, esto es, pueden dar lugar a cualquier célula del organismo, incluyendo la línea germinal. Esto se cumple tanto en teratomas tras trasplantarlas (Bradley *et al.*, 1984) como *in vitro*, bajo condiciones favorables de cultivo (Amit *et al.*, 2000). Sin embargo, no pueden dar lugar a un embrión completo (totipotencialidad), característica que pierden tras la formación del blastocisto, como se detallará a continuación.

### 2.3. hESCs: LOCALIZACIÓN Y DESARROLLO EMBRIONARIO

Las células madre embrionarias derivan del embrión de los mamíferos en su etapa de blastocisto (Hernández y Dorticós, 2004), cuyo momento temporal depende de la especie de la que se trate.



En humanos, tras la fecundación del ovocito por un espermatozoide, se forma el cigoto. Éste comienza una serie de divisiones, hasta que pasa a una masa compacta de células denominada mórula (día 4). Cuando la mórula entra en el útero, se secretan determinados factores que provocan un ensanchamiento de la misma, la cual se convierte en blastocisto por cavitación (día 5). En el día 7, se produce la eclosión del blastocisto (liberación del blastocisto en estado expandido y desaparición de la zona proteica) y la implantación del mismo en el endometrio (García, 2016).

**Figura 3 | Fases del desarrollo embrionario.**  
 Fuente:  
[http://fertilab.net/FERTILIDAD/REPRO\\_NATURAL/proceso01\\_2.html](http://fertilab.net/FERTILIDAD/REPRO_NATURAL/proceso01_2.html) (consultado el 9 de mayo de 2016).

Es importante recalcar que previa a la formación del blastocisto, el cigoto (huevo fertilizado) está formado por una única célula totipotencial, es decir, con la capacidad de crear un organismo completo. Esta célula va dividiéndose en más células totipotentes, hasta que se especializan en un grupo de células pluripotentes, contenidas en el blastocisto. Estas son las que se conocen como células madre embrionarias. (EXPLORE STEM CELLS, 2016).

En el blastocisto, se distinguen 4 partes principales (EUROSTEMCELL, 2011):

- La zona pelúcida, que rodea la totalidad del blastocisto.
- El trofoectodermo o trofoblasto, que formará la placenta que contiene el embrión conforme vaya desarrollándose el mismo.

- Cavidad o blastocele, hueco interno.
- Masa celular interna (ICM), un agregado de 10-20 células que constituye la reserva de ESCs.



**Figura 4 | Partes del blastocisto.**

Fuente: elaboración propia, a partir de la imagen obtenida en <http://es.klear.com/profile/jldepablo/%7B%7Blink%7D%7D> (consultado el 9 de mayo de 2016)

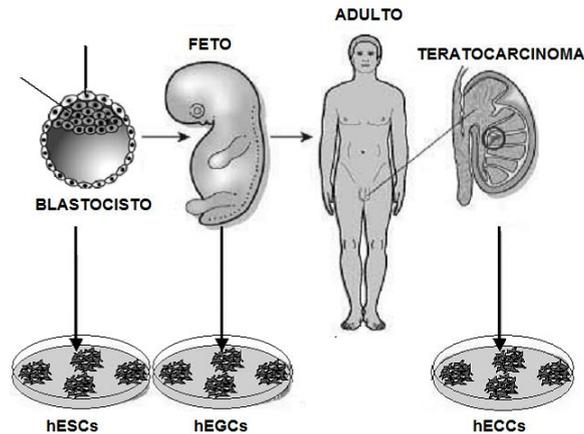
#### 2.4. FUENTES PARA LA OBTENCIÓN DE hESCs

Las hESCs se derivan a partir de embriones tempranos (en estado de blastocisto) *in vitro*. Estos, normalmente, son embriones procedentes de tratamientos de fertilización *in vitro* (FIV), los llamados *spare embryos*. En algunos casos, estos embriones han sido donados por los pacientes para las investigaciones, ya que los mismos no los necesitan, al haber cumplido sus expectativas o haberse retractado respecto a su idea inicial (Douglas & Savulescu, 2009). Por el contrario, gran parte de los embriones empleados fueron descartados por su incapacidad para ser implantados (Liu *et al.*, 2009).

A parte de la masa celular interna del blastocisto, es posible obtener hESCs de otras formas:

- de las células germinales (EGCs, Embryonic Germ Cells), que aparecen en las gonadas en formación de embriones y fetos, dando lugar posteriormente a los gametos (Shamblott *et al.*, 2001).
- de teratocarcinomas, tumores complejos (ECCs, Embryonic Carcinoma Cells), que derivan de las gónadas adultas. (Skakkebaek *et al.*, 1987).

A pesar de que estas células poseen capacidad de diferenciarse *in vitro* y contribuir a la línea germinal, el estadio en el que se obtienen o su naturaleza tumoral, respectivamente, son características que hacen que la opción preferida para la obtención de células madre embrionarias humanas sea la masa celular interna del blastocisto.



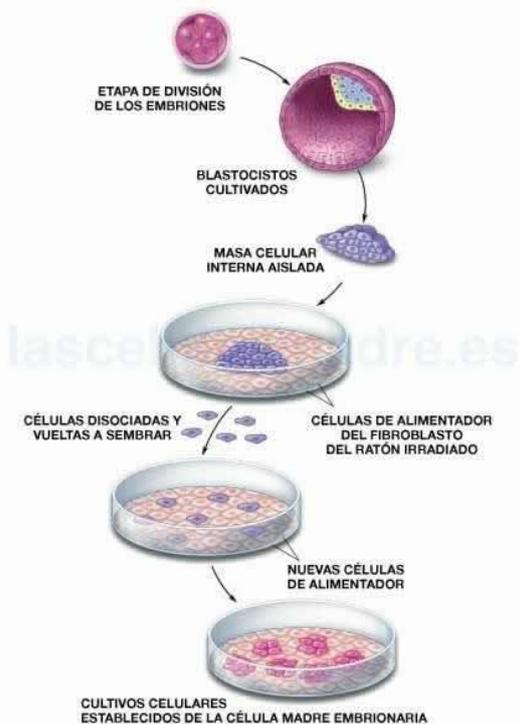
**Figura 5 | Fuentes de células madre embrionarias humanas (hESCs).**  
 Fuente: modificación de la imagen obtenida de Arias y Felmer, 2009.

## 2.5. AISLAMIENTO Y CULTIVO DE hESCs

Tradicionalmente, las células de la masa celular interna del blastocisto han sido aisladas con técnicas de inmunocirugía. Este método implica la eliminación de la capa externa del blastocisto, el trofoblasto, mediante el uso de productos derivados de animales, como anticuerpos de conejo anti células sanguíneas humanas, o complemento de cobaya (Chen & Melton, 2007). Sin embargo, el empleo de estos compuestos puede suponer un riesgo para los pacientes trasplantados con estas células, ya sea por la transferencia de patógenos animales o por el incremento de la probabilidad de rechazo.

Por este motivo, el método preferido para la derivación de hESCs es la disección mecánica o enzimática. Los blastocitos cultivados se lavan, y se dejan adherir a la placa o pocillo. Con una aguja se sujetan, y con la otra se perfora la zona pelúcida para abrir el blastocisto y separar la ICM del trofoectodermo. (Ström *et al.*, 2007). También pueden utilizarse un láser para perforar la zona, y posteriormente aislar la masa celular interna mediante radiación asistida por láser (Turetsky *et al.*, 2008).

Una vez obtenida la masa celular, ésta se transfiere a un nuevo medio de cultivo. Las primeras líneas de células madre embrionarias aisladas se cultivaron en capas nutricias de fibroblastos embrionarios de ratón irradiados (MEF feeder layers), que permitían la propagación de las células en estado indiferenciado (Bosma *et al.*, 1983). Posterior a estos, y con el objetivo de conseguir medios de cultivo propiamente humanos y sin elementos animales, se han usado fibroblastos humanos procedentes del epitelio de las trompas de Falopio (Bongso *et al.*, 1994), del músculo (Amit *et al.*, 2003), o de la médula ósea (Cheng *et al.*, 2003), entre otros. De forma alternativa, se han probado sistemas libres de células, en los que se emplean matrices extracelulares como Matrigel con fibronectina (McElroy & Pera, 2008). En estos sistemas, se ha demostrado que parte de la población celular se diferencia a fibroblastos o células estromales, que se convierten en soporte para el crecimiento del resto de células que permanecen indiferenciadas (Xu *et al.*, 2001; Van Hoof *et al.*, 2008).



**Figura 6 |** Obtención de ESCs a partir de blastocistos cultivados. Fuente: modificación de la imagen obtenida en [http://www.news-medical.net/life-sciences/What-are-Embryonic-Stem-Cells-\(Spanish\).aspx](http://www.news-medical.net/life-sciences/What-are-Embryonic-Stem-Cells-(Spanish).aspx) (consultado el 10 de mayo de 2016).

Además del soporte, la composición de factores añadida al medio de cultivo es esencial para mantener las ESCs en estado indiferenciado. Como se mencionó en el punto 1, LIF, desde su descubrimiento, ha sido esencial en dicho objetivo. Incluso puede sustituir a las capas nutricias, si es utilizado en combinación con el suero fetal de ternera (FCS) (Smith *et al.*, 1988).

Los estudios sobre posibles compuestos inhibidores de la diferenciación, así como las rutas moduladas por los mismos, han continuado; sin embargo, desde sus orígenes, los medios de cultivo no han cambiado drásticamente, si no que se han optimizado de cierta manera. Por ejemplo, protocolos actuales utilizan feeder layers en medios sin suero suplementados con factor de crecimiento de fibroblastos (bFGF) (Amit *et al.*, 2000). En 2003, Ying *et al.* observaron cómo el compuesto BMP4, usado en combinación con LIF, eliminaba la necesidad de usar suero.

Todos estos experimentos persiguen el uso final de soportes y medios de cultivo en los que no se añadan sueros y otros compuestos animales, pues esto podría suponer la introducción de patógenos de especies animales, o el incremento de las probabilidades de rechazo, incompatible con el uso terapéutico de las células madre embrionarias humanas.

## 2.6. MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA LA OBTENCIÓN DE hESCs

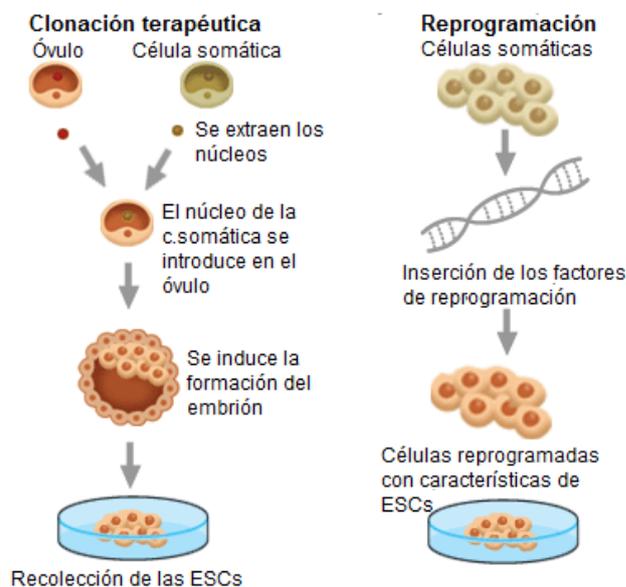
Debido a los problemas éticos y dificultades que concierne el uso de embriones humanos, así como de material generalmente de carácter embrionario, actualmente se han descrito dos técnicas que permiten la obtención de células con características pluripotenciales, a partir de células somáticas.

En primer lugar, encontramos la transferencia nuclear de células somáticas (SCNT), también denominada clonación terapéutica. El procedimiento es el siguiente: el oocito se paraliza en metafase II, y es inmovilizado. Con una aguja, se elimina una pequeña parte de la zona pelúcida y se extrae el núcleo y los cuerpos polares. Tras esto, se introduce el núcleo somático en el oocito sin núcleo, mediante electrofusión. La mitosis ocurre *in vitro*, hasta la formación del blastocisto, de dónde se podrán extraer las hESCs (cómo ha sido explicado en el apartado 2.5). (Kfoury, 2007). A pesar de no partir de embriones como tal, al final del proceso de transferencia nuclear, tenemos un blastocisto que, implantado,

podría dar lugar a un individuo; por tanto, la transferencia nuclear de células somáticas también puede acarrear problemas éticos y legales (Hug, 2005).

Con mucho auge hoy en día, se sitúan las células madre pluripotentes inducidas (iPSCs). Este método de reprogramación celular fue descrito por primera vez en 2006 (Takahashi & Yamanaka, 2006), y consistía en la transducción retroviral de genes que codificaban 4 factores de transcripción, Oct4, Sox2, Klf4, y c-myc, en fibroblastos embrionarios de ratón. Estas células reprogramadas mostraban una morfología y crecimiento similar a las células embrionarias; además, cuando eran transplantadas en ratones inmunodeficientes, provocaban la formación de teratomas que contenían tejidos y células de las tres capas germinales, confirmando la naturaleza pluripotente de estas células.

Aunque inicialmente, estos experimentos mostraban una baja eficiencia, el estudio del mecanismo del proceso, así como de la procedencia de la célula somática reprogramada, ha conseguido mejorar el resultado obtenido. Por ejemplo, se ha descubierto que los queratinocitos expresan de forma endógena mayores niveles de c-myc y Klf4, lo cual acelera su conversión a iPSCs (Yee, 2010). Además, actualmente se han refinado los métodos de transducción, de manera que se ofrece un amplio abanico de opciones para llevar a cabo la reprogramación, dependiendo del tipo celular de partida y el objetivo del proceso (Malik & Rao, 2013). Aunque las iPSCs son muy prometedoras, tienen una limitación clave: al proceder de tejidos adultos, presentan modificaciones epigenómicas que pueden afectar al estatus de las células diferenciadas obtenidas, al contrario que las hESCs, que al tener un origen embrionario, no poseen dichas modificaciones (Yee, 2010).



**Figura 7 | Métodos alternativos para la obtención de ESCs.**

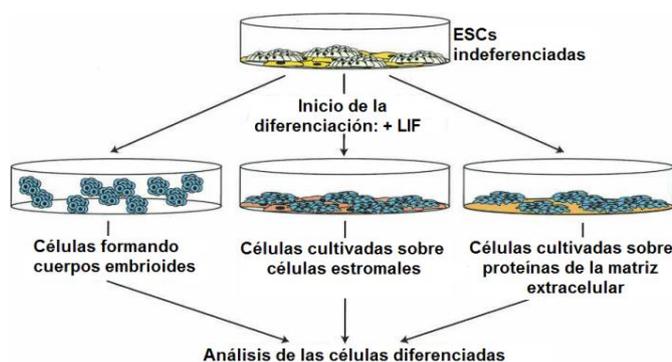
Fuente: modificado a partir de la imagen obtenida en <http://intrad187s-f12-grosovsky.wikispaces.umb.edu/Group+3+Stem+Cells> (consultado el 10 de mayo de 2016).

## 2.7. DIFERENCIACIÓN *IN VITRO* DE ESCs

La retirada de los elementos mencionados anteriormente, como LIF, supone la diferenciación de las células madre embrionarias, y bajo las condiciones de cultivo adecuadas, la generación de células pertenecientes a cualquiera de las 3 capas germinales: mesodermo, ectodermo, y endodermo.

A grandes rasgos, se pueden resumir en 3 los protocolos aplicables para conseguir la diferenciación:

- Las células madre forman agregados tridimensionales, denominados cuerpos embrioides (EBs). (Keller, 1995).
- Las células madre se cultivan directamente sobre células estromales, mayormente la línea celular OP9 (Nakano *et al.*, 1994).
- Las células madre se cultivan junto a una monocapa de proteínas de la matriz extracelular (Nishikawa *et al.*, 1998).



**Figura 8 |** Protocolos de diferenciación de ESCs. Fuente: modificado a partir de Keller, 2005.

Estos protocolos de diferenciación presentan sus ventajas y desventajas. Por ejemplo, la formación de cuerpos embrioides permite la interacción célula-célula, lo cual simula la situación *in vivo* y resulta positivo para el desarrollo; sin embargo, la secreción de ciertos factores como citoquinas, puede descontrolar el experimento y complicar análisis posteriores. En cuanto a las células estromales, puede ocurrir lo mismo: la secreción de factores indeseados que lleven a resultados inesperados. Por último, el cultivo con proteínas de la matriz extracelular puede resultar el más simple, pero exige una elección cuidadosa de las mismas, pues distintas proteínas pueden llevar a distintos modos de diferenciación y crecimiento (Keller, 2005).

Independientemente del método utilizado, la diferenciación controlada a un tipo celular adulto involucra el uso de factores y combinaciones de los mismos específicas. Algunos linajes, como el hematopoyético y otros tejidos mesodérmicos, están bien caracterizados desde el comienzo de estos experimentos (Burkert *et al.*, 1991). Debido a la extensión y complejidad de este tema, no se va a tratar en el presente trabajo.

## 2.8. APLICACIONES ACTUALES

Por sus características de pluripotencialidad, posibilidad de manipulación genética, generación quimérica, entre otras, las células madre embrionarias humanas comprenden un amplio abanico de posibilidades en cuanto a su aplicación para fines de diagnóstico y terapéuticos. A continuación, se detallan dos de especial interés.

### 2.8.1. Descubrimiento de fármacos

El screening de nuevos fármacos y los estudios de toxicología se han llevado a cabo tradicionalmente mediante el uso de animales para experimentos *in vivo*. Sin embargo, las numerosas objeciones éticas en este ámbito han llevado al intento de usar tejidos humanos, lo cual no ha sido exitoso, debido a la dificultad para obtener la gran cantidad de material que se requiere en este tipo de experimentos, así como la dificultad de mantenimiento o expansión *in vitro*, tal y como relatan Oh & Choo (2006).

Así, el uso de células madre embrionarias humanas para tales fines han cobrado mucha fuerza en los últimos años. Por ejemplo, para estudios de toxicología en hígado (el órgano más afectado por los fármacos), las compañías farmacéuticas han diseñado protocolos para generar grandes cantidades de hepatocitos a partir de hESCs y así investigar el metabolismo y la toxicología de nuevos fármacos y existentes (Ahuja *et al.*, 2007). De manera similar ha ocurrido con la generación de cardiomiocitos o células neurales; estas células humanas pueden revelar la toxicidad de algunas drogas de manera más precisa que con sistemas animales.

Además, la posibilidad de introducir modificaciones genéticas en las hESCs, obteniendo líneas celulares con diferentes genotipos, ha constituido un avance en los estudios farmacogenómicos, pudiendo identificar respuestas diferenciales del mismo fármaco en distintos individuos (Bapat & Mishra, 2005). También es reseñable la selectividad que permite el uso de hESCs, puesto que permite diseñar fármacos que actúen de forma específica frente a las células enfermas y no dañen las células sanas; esto es importante, por ejemplo, en el caso del cáncer, puesto que muchos tipos, como leucemias, cáncer de mama, o de próstata, han mostrado poseer células madre cancerígenas en la masa tumoral (Al-Hajj, 2007).

### 2.8.2. Terapias de reemplazo celular

Cómo se ha explicado en apartados anteriores, la pluripotencialidad de las células madre embrionarias les confiere la capacidad de diferenciarse en cualquier tipo celular adulto. Esto, unido a los nuevos avances en correcciones genéticas (por gene editing y recombinación homóloga en ES), convierten a las hESCs en una herramienta de enorme valor terapéutico en el campo de la medicina regenerativa.

Estas terapias, a grandes rasgos, consisten en la diferenciación de las hESCs en el tipo celular deseado, y el trasplante de las células diferenciadas en el paciente, con el objetivo de reemplazar la función perdida por la existencia de células dañadas o disfuncionales (García, 2016).

En la actualidad, se han conseguido obtener con éxito linajes tan significativos como células de los islotes pancreáticos, neuronas, cardiomiocitos, y hepatocitos, consiguiendo el tratamiento en animales modelos de enfermedades del sistema nervioso central, infartos, hígado, diabetes, o enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, en humanos, estas terapias no pueden considerarse aún como tratamientos aplicables, y están bajo investigación (Davidson *et al.*, 2008).

## 2.9. LIMITACIONES DE LAS hESCs Y ASPECTOS ÉTICOS

Cómo se ha ido relatando a lo largo de este capítulo, la obtención y uso de células madre embrionarias entraña ciertas constricciones éticas y morales. Además de esto, las hESCs presentan otras limitaciones:

- La pluripotencialidad de las hESCs se basa en la formación de teratomas que contienen tejidos de las 3 capas germinales, esto es, presentan riesgo de tumorigenicidad cuando son transplantadas.
- Inmunogeneidad de las hESCs, al utilizarse productos o derivados animales; las hESC y los progenitores pueden incorporar el ácido siálico Neu5Gc, contra el que reaccionan la mayoría de los anticuerpos circulantes (Martin *et al.*, 2005).

A pesar de estas limitaciones, los resultados obtenidos hasta el momento sitúan a las hESCs en el foco de atención de la biomedicina. Sin embargo, la controversia con el uso de embriones humanos es tan fuerte que produce un freno en la investigación y desarrollo de estas células madre. Es necesaria una revisión de la legislación vigente, con el objetivo de determinar los límites permitidos para el uso de las hESCs.

### 3. NORMATIVA APLICABLE A LAS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS (hESCs) EN ESPAÑA

En el presente apartado se presenta la normativa española en concepto de obtención, conservación y uso de células madre embrionarias humanas. Como se desglosará a continuación, no existe ninguna ley propia de tal materia, por lo que se revisarán distintos artículos y apartados en los que se nombra la misma, tanto en leyes y normativas pasadas como en aquellas vigentes en la actualidad.

**Tabla 1 | Resumen de los aspectos que conciernen a la investigación con hESCs en distintas legislaciones derogadas y vigentes en España.**

Fuente: elaboración propia.

|                    | Generación de embriones para investigación | Donación de preembriones  | Investigación con preembriones  | Número de óvulos fecundados y embriones transferidos |
|--------------------|--|---|---|--|
| <b>Ley 35/1988</b> | Prohibida: finalidad única de procreación  | Exclusivamente con fines reproductivos. Conservación durante un plazo máximo de 5 años.                         | - Viables: aportar ventajas para el propio embrión<br>- No viables: restringido a ciertas actividades, cuando no se puedan realizar en animales | No se menciona                                       |
| <b>Ley 42/1988</b> | No se menciona                             | Posibilidad de donación para investigación, si éstos no son viables y existe consentimiento de los progenitores | - Posibilidad de extraer estructuras biológicas de embriones no viables.<br>- Posibilidad de aplicar tecnología genética.                       | No se menciona                                       |
| <b>Ley 45/2003</b> | Prohibida: finalidad única de procreación  | Posibilidad de donación para investigación, con consentimiento de los progenitores                              | Posibilidad de uso de preembriones no viables, sin fines comerciales  | 3 ovocitos por ciclo                                 |
| <b>Ley 14/2006</b> | No se menciona                             | Posibilidad de donación para reproducción e investigación, con consentimiento de los progenitores               | Posible, si no excede los 14 días de desarrollo in vitro  | No hay límite  |
| <b>Ley 14/2007</b> | Prohibición explícita                      | Posibilidad de donación para investigación, si éstos no son viables y con consentimiento de los progenitores    | - Posibilidad, si no son viables<br>- Mención a la SCNT   | No se menciona                                       |

### 3.1. NORMATIVA ANTERIOR

En este apartado, se hace mención a las 3 leyes, actualmente derogadas, que han hecho mención a los preembriones y células madre embrionarias humanas en alguno de los artículos contenidos.

#### *3.1.1. Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción asistida*

Los avances en Biotecnología y Medicina facilitaron un claro éxito en el campo de la Reproducción Asistida; sin embargo, el rápido avance en este ámbito supuso un crecimiento paralelo de los aspectos a pulir, tanto de las técnicas empleadas, como de la permisividad de los casos en los que las mismas eran éticamente aplicables. Estas primeras premisas se marcan en la presente ley analizada.

El primer pronunciamiento relacionado con la obtención de hESCs se hace en el capítulo II, artículo 3, cuando se prohíbe la fecundación de óvulos humanos con cualquier fin que no sea la procreación, esto es, la final gestación de un individuo. Así, se elimina la donación de óvulos y la generación de embriones con fines de investigación. Igual de restrictivo para la obtención supone el capítulo IV, artículo 11.3. En este, se permite la donación de los preembriones sobrantes en el tratamiento de reproducción asistida únicamente para fines reproductivos, pudiéndose conservar los mismos durante 5 años máximo.

Cabe destacar cómo, en los artículos 12 y 13, se hace referencia al diagnóstico preimplantacional con el objetivo de diagnosticar posibles enfermedades transmisibles, pudiendo así intervenir sobre el preembrión in vitro para mitigar las mismas, o parar la transferencia si resulta desaconsejada por el especialista.

Por último, en los artículos 15, 16 y 17, se abre la posibilidad de investigación con preembriones para fines biomédicos, en el caso en el que los mismos resulten no viables, siempre y cuando dichos experimentos no puedan realizarse en animales modelo. Así, en el artículo 16 se hace mención a un amplio abanico de investigaciones: envejecimiento celular, procesos de diferenciación y organización celular, estructura génica y cromosómica, fenómenos de histocompatibilidad, acción hormonal, origen de enfermedades genéticas, entre otros.

En todo el documento no se hace mención a las hESCs contenidas en dichos embriones, así como en sus posibles usos diagnósticos y terapéuticos, por lo que esta ley resulta incompleta en la materia tratada en el presente trabajo.

#### *3.1.2. Ley 42/1988, de 28 de diciembre, sobre donación y utilización de embriones o de sus células, tejidos u órganos*

Un mes después de la publicación en el BOE de la normativa respecto a las técnicas de reproducción asistida, se aprueba la presente ley, que regula de forma específica la donación y uso de embriones y fetos para otros usos no reproductivos, esto es, con fines diagnósticos, terapéuticos, de investigación o experimentación. Concretamente, en el capítulo I, se permite la donación de preembriones para fines de investigación, si los mismos no son viables y existe consentimiento de los progenitores.

En el capítulo III, artículo 5, se marca la diferencia entre fetos y embriones viables, a aquellos que residen en el útero o que, siendo expulsados prematuramente, pueden ser tratados para mantener su autonomía y originar un individuo. Por el contrario, los abortos espontáneos se considerarán como no vivos a efectos de tal ley.

La afirmación más reseñable de la presente Ley analizada es el capítulo II, artículo 6, la cual autoriza la obtención y uso de estructuras biológicas procedentes de los embriones considerados muertos, para fines farmacológicos, de investigación y experimentación, etc.; de esto puede extraerse la legalidad de la extracción de células madre embrionarias humanas.

Por último, en el capítulo III, artículo 8, se autoriza la aplicación de la tecnología genética sobre embriones y fetos, con fines de diagnóstico prenatal, industriales de carácter preventivo o terapéutico (hormonas, proteínas de la sangre, vacunas...), terapéuticos (selección de sexo o creación de mosaicos genéticos mediante el trasplante de las estructuras o células ausentes o dañadas), o de investigación (estudio de las secuencias del ADN, ADN recombinante y perfección de las técnicas, envejecimiento, etc.).

A pesar de que, en la presente ley, se abre la puerta al uso de las células procedentes de los embriones considerados muertos, sigue habiendo una falta de concreción respecto a los tiempos requeridos para la aprobación del uso de los mismos (importante por el límite temporal en el que se pueden obtener las células madre embrionarias), así como una referencia concreta a las células madre embrionarias.

### *3.1.3. Ley 45/2003, de 21 de noviembre, por la que se modifica la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida*

Como se relata en la exposición de motivos de la presente legislación, la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida, deja varios aspectos clave sin cubrir. El primero de ellos, es el destino de los preembriones criopreservados, cuyo plazo de almacenamiento se estableció en 5 años, sin especificar el destino de los mismos al finalizarse dicho plazo, si no habían sido utilizados. Además, los nuevos descubrimientos científicos, concretamente las células madre embrionarias y las expectativas que las rodean, hicieron aumentar el interés en una nueva legislación que contemplara un nuevo enfoque para estos embriones sobrantes con fines de experimentación o investigación.

Estos acontecimientos llevaron al Comité Asesor de Ética, dependiente de la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología, a elaborar un informe en relación a “La investigación sobre células troncales” en febrero de 2003. En el mismo, se muestra un apoyo al uso de preembriones sobrantes para investigación, mientras que se rechaza la creación expresa de preembriones. Por último, hace hincapié en la necesidad de reducir el número de preembriones sobrantes de la FIV para evitar su acumulación y/o posterior descarte.

Así, la presente reforma se centra en los artículos 4 y 11 de la Ley 35/1988, en el que se incluye la reducción del número de ovocitos fecundados a tres. También se trata la posibilidad de las parejas progenitoras, de decidir sobre el destino de los preembriones crioconservados, siendo una de las mismas la aceptación de la donación de los mismos para la investigación (habiéndose cumplido el plazo de 5 años o no). El uso del material

biológico obtenido en este caso estaría entonces sujeto a la legislación sobre donación y utilización de células y tejidos de origen humano, explicada en el apartado anterior.

### 3.2. LEGISLACIÓN VIGENTE ESTATAL

En el presente apartado, se realiza un análisis de la legislación aplicable en España actualmente, en materia de hESCs.

#### 3.2.1. *Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida*

La Ley 45/2003, anteriormente mencionada, presentaba cierta ambigüedad en el uso otorgado a los preembriones crioconservados dependiendo de la fecha de su generación, posibilitando la investigación con aquellos anteriores a la entrada en vigor de la misma, y relegando el uso de los posteriores a fines solamente reproductivos. También, el límite de 3 ovocitos fecundados establecido podía resultar en una disminución del éxito de los tratamientos de fertilidad.

Por ello, surge la presente ley vigente sobre materia de reproducción asistida, que hace referencia al uso de preembriones con fines de investigación en el capítulo 4, artículo 15. Así, se autoriza en el caso de cumplir lo siguientes requisitos:

- Que exista un consentimiento escrito de la pareja o la mujer.
- Que el preembrión no exceda los 14 días de desarrollo in vitro tras la fecundación del ovocito (sin tener en cuenta el tiempo de crioconservación, si lo hubiera).
- Que los posibles proyectos de investigación se realicen en centros especializados y siguiendo un proyecto autorizado por las autoridades.

De esta manera, la Ley establece un plazo temporal para el uso de los preembriones y la posterior extracción de tejidos, células, etc., además de eliminar los problemas suscitados por la anterior legislación.

Cabe destacar cómo, en el momento de la entrada en vigor de la ley, existía una contradicción con el Código Penal. Como se ha mencionado, si la pareja lo consiente, los embriones pueden ser usado para extraer las células madre. Sin embargo, el Código Penal, redactado anterior a los avances que conciernen a las células madre embrionarias, penaliza la fecundación de “óvulos humanos con cualquier fin distinto a la procreación”, en el artículo 160 de Ley Orgánica 10/1995, de 23 de noviembre, del Código Penal, modificado por LO 15/2003, de 25 de noviembre; existe así un vacío legal, puesto que se podría considerar que en un primer momento, la finalidad de estas fecundaciones era reproductiva, más luego la misma fue desviada. Se hace necesaria, pues, una modificación de la misma con el objetivo de consolidar la legislación, y que una práctica legal y financiada no conlleve penas de prisión.

### *3.2.2. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica*

En el título III, capítulo III, artículo 1 de la presente Ley, se reitera lo aprobado por legislaciones anteriores: la posibilidad de donación de embriones no viables o descartables para investigación, siempre tras el consentimiento de los progenitores, y la no posibilidad de usar fetos que puedan tratarse para mantener su autonomía.

Se hace especial mención a las células madre embrionarias en el título IV, capítulo I, artículo 33. En él, se hace referencia a lo siguiente:

- Se prohíbe generación de preembriones con fines exclusivos de experimentación.
- Se permite el uso de cualquier técnica de obtención de células madre embrionarias, mientras que no se viole la primera premisa, incluyendo la técnica de transferencia nuclear.

De especial importancia es la última afirmación, puesto que se legaliza la obtención de células madre por transferencia nuclear de células somáticas, concepto no legislado hasta el momento.

### 3.3. LEGISLACIÓN VIGENTE AUTONÓMICA

Las leyes en materia de reproducción asistida dejan una veda abierta para la regulación autonómica. En España, la única comunidad que presenta una legislación propia en materia de tratamiento de preembriones humanos es Andalucía.

#### *3.3.1. Ley 7/2003, de 20 de octubre, por la que se regula la investigación en Andalucía con preembriones humanos no viables para la fecundación in vitro*

La presente ley, modificada por la Ley 4/2014, de 9 de diciembre, concibe que la limitación de la investigación con células madre embrionarias reside en el consentimiento que los progenitores puedan dar, así como los trámites para la donación por parte de los centros de reproducción asistida, pretende regular estos dos aspectos. Pese a ello, no introduce ninguna modificación respecto a la legislación estatal.

También hace mención a las investigaciones potenciales, debiendo destinarse estas a aumentar el conocimiento sobre desarrollo embrionario, sobre enfermedades graves y otros usos terapéuticos.

#### *3.3.2. Ley 1/2007, de 16 de marzo, por la que se regula la investigación en reprogramación celular con finalidad exclusivamente terapéutica*

Como se mencionó en el apartado 2.6. del presente trabajo, existen fuentes alternativas para la obtención de células madre embrionarias humanas. Una de ellas es la reprogramación de células somáticas; el interés suscitado por esta práctica ha hecho necesario el desarrollo de una legislación reguladora del proceso.

En la presente ley, también de ámbito regulador en Andalucía y modificada por la Ley 4/2014, de 9 de diciembre, se hace hincapié en el gran potencial de las células madre

embrionarias, justificando el porqué del interés en las mismas, pese a los problemas de obtención y éticos que acarrear. Así, se describe el fundamento de la técnica de reprogramación celular, y se prohíbe la generación de embriones para fines reproductivos.

### 3.4. PRONUNCIAMIENTOS DEL TRIBUNAL CONSTITUCIONAL

El Tribunal Constitucional se ha pronunciado sobre el uso de preembriones y las células madre embrionarias derivadas en dos ocasiones.

El primero de ellos ocurre tras el Recurso de inconstitucionalidad promovido por 79 Diputados del Grupo Parlamentario Popular, contra la Ley 42/1988 (Pleno. Sentencia 212/1996, de 19 de diciembre de 1996. Recurso de inconstitucionalidad 596/1989. Promovido por 79 Diputados del Grupo Parlamentario Popular contra la Ley 42/1988, de 28 de diciembre, de Donación y Utilización de Embriones y Fetos Humanos o de sus Células, Tejidos u Órganos, en su totalidad, y subsidiariamente contra diversos preceptos de la citada Ley por contradecir los arts. 9, 10, 15, 25, 53 y 81 de la C.E. Voto particular).

En el mismo, se alega que dicha ley quebranta la protección exigible de la vida humana, y se critica la distinción arbitraria entre embrión y feto, sin distinguir qué es cada concepto, con el único fin de permitir la investigación. También alega que se hace susceptible a los embriones a ser objetos de contratos de donación, y a actuaciones sobre ellos cuándo aún están vivos, violando de nuevo, la protección constitucional de la vida. La respuesta ante tal recurso por parte del Tribunal Constitucional fue firme, haciendo referencia al artículo 15 de la Constitución Española, en la que se considera embriones y fetos humanos tras la implantación estable en el útero, tras los 14 días de gestación, cuando se establece una relación dependiente de la mujer gestante; por tanto, los preembriones, generados in vitro, no presentarían dicho estatus, respetándose así los principios constitucionales. Se hace también especial hincapié en la respuesta del Tribunal Constitucional, en la decisión de respetar la libertad y propulsar las actuaciones biomédicas y las capacidades investigadoras.

El segundo de ellos, en 1999, fue promovido también por diputados del Grupo Parlamentario Popular, esta vez contra la Ley 35/1988 (Pleno. Sentencia 116/1999, de 17 de junio de 1999. Recurso de inconstitucionalidad 376/1989. Promovido por Diputados del Grupo Parlamentario Popular contra la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, de Técnicas de Reproducción Asistida, en su totalidad y, subsidiariamente, contra distintos apartados de la misma. Voto particular).

En concreto, éstos critican los artículo 1, 6, y 10 de la citada Ley, por considerarlas una violación de la unidad y consistencia. También remiten una violación del artículo 15 de la Constitución Española, que se achaca a la no definición del estatus del embrión, negándose la protección que debe darse al mismo durante la gestación. De nuevo, se rechaza el recurso, pues la presente Ley establece la prohibición del aborto o la gestación para obtener embriones para investigación, siendo la fuente preembriones sobrantes; por tanto, no se vulnera el derecho que otorga la Constitución a la vida.

### 3.5. OTRAS NORMATIVAS

En el presente apartado, se presentan otras normativas referentes al uso de células madre embrionarias humanas.

*3.5.1. Decisión del Consejo, de 3 de diciembre de 2013, por la que se establece el Programa Específico por el que se ejecuta Horizonte 2020 - Programa Marco de Investigación e Innovación (2014-2020) y se derogan las Decisiones 2006/971/CE, 2006/972/CE, 2006/973/CE, 2006/974/CE y 2006/975/CE.*

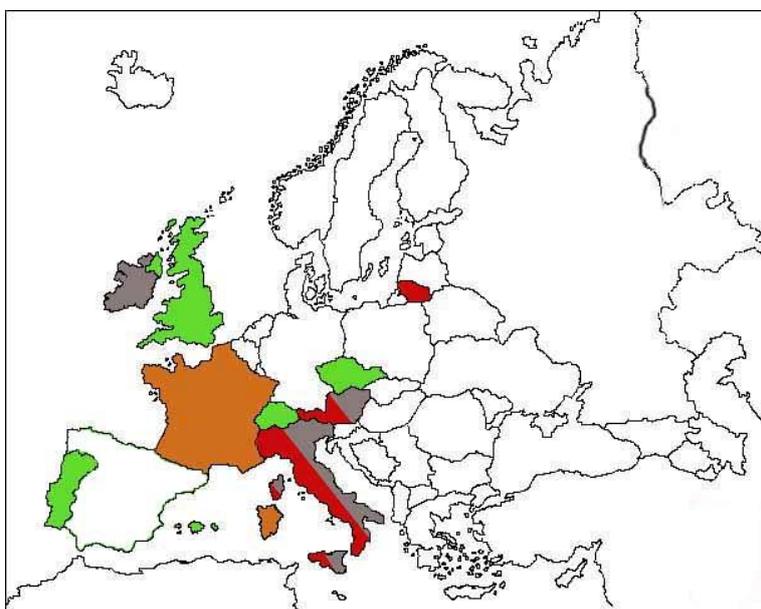
En esta normativa se expresa la necesidad de apoyar y potenciar las nuevas tecnologías, con el objetivo de mejorar la calidad de vida de la ciudadanía. Concretamente, se menciona la biotecnología y el uso de células madre embrionarias, como el tratamientos potencialmente beneficiosos para la salud y la medicina, y se recalca la necesidad de aprobar la financiación de las acciones que conlleven su uso, de acuerdo con el objetivo mencionado en “Sociedades seguras- Proteger la libertad y la seguridad de Europa y sus ciudadanos”, artículo 3, apartado 3, letra g.

Así, en el anexo, parte III (“Retos de la sociedad”), se hace hincapié en el uso de células madre embrionarias y medicina regenerativa, como un camino en el que es necesario desarrollar distintos enfoques para mejorar las tecnologías existentes, la motivación de la comunidad investigadora, y los resultados que permitan el tratamiento de enfermedades avanzadas y crónicas, entre otras.

En su conjunto, este documento resulta muy esperanzador, pues alberga un gran apoyo a la biotecnología, y a las terapias celulares en sí, tratándose el tema de las células madre embrionarias como una herramienta de gran potencial para alcanzar un bien común para mejorar la calidad de vida de los ciudadanos.

## 4. ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS DISTINTAS LEGISLACIONES EN EUROPA

En el Reglamento (CE) nº 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de noviembre de 2007, sobre medicamentos de terapia avanzada y por el que se modifican la Directiva 2001/83/CE y el Reglamento (CE) nº 726/2004, concretamente en el artículo 7, se otorga libertad a los estados miembros para la elaboración de legislaciones propias que permitan o restrinjan el uso de células madre embrionarias humanas, así como la comercialización de fármacos y productos derivados de las mismas. De tal forma, nos encontramos con importantes diferencias legislativas en los distintos países de Europa. A continuación, se analizarán diversos países europeos con el objetivo de mostrar los diferentes niveles de permisividad en la investigación y uso de hESCs y otras técnicas relacionadas con las mismas.



**Figura 8 |** Mapa de diversos países europeos coloreados según el nivel de permisividad respecto a la investigación con hESCs. En verde, aquellos donde está permitida; en naranja, dónde está restringida; en rojo, dónde no está permitida; en gris, dónde no existe legislación al respecto o hay diversos aspectos sin legislar.

Fuente: elaboración propia.

### 4.1. INVESTIGACIÓN PERMITIDA

#### 4.1.1. República Checa

En la República Checa, el Zákon o výzkumu na lidských embryonálních kmenových buňkách a souvisejících činností a na Změně některých souvisejících zákonů, 2006 (*Ley de Investigación con células madre embrionarias humanas y actividades relacionadas*) es la ley vigente encargada de la regulación de la investigación con hESCs.

Éste permite el uso de aquellas líneas importadas, u obtenidas de embriones sobrantes de tratamientos de FIV, siempre y cuando no sobrepasen los 7 días desde la

fecundación (parte 1, capítulo 2, § 3), para aquellos experimentos que conciernan un avance del conocimiento o las terapias sobre ciertas enfermedades graves y no puedan realizarse por otros métodos. El gobierno es el encargado de otorgar las licencias que permiten llevar a cabo esta clase de investigaciones, concretamente el Ministerstvo Školství, Mladeže a Tělovýchovy (*Ministerio de Educación, Juventud y Deportes*).

En el mismo artículo, se hace referencia también a la prohibición de manipular las hESCs de tal manera que se pueda llevar a la generación de un nuevo individuo (clonación reproductiva).

#### 4.1.2. Portugal

La creación del Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida (CNECV, *Consejo Nacional de Ética para las Ciencias de la Vida*) en 1990 llevó a un creciente interés en la investigación con células madre y el uso de embriones sobrantes, gracias a las opiniones favorables aportadas sobre esta materia. Esto propició la creación de una ley reguladora, la actual Lei no. 32/2006 Procriação medicamente assistida de 26 de Joelho (*Ley no. 32/2006 Procreación medicamente asistida de 26 de julio*), la cual permite la investigación con embriones sobrantes congelados, no aptos para ser transferidos o portadores de anomalías genéticas graves (artículo 9.4), mientras que prohíbe la generación de nuevos embriones con fines no reproductivos (artículo 9.1). Los proyectos de investigación serán extensamente analizados, con el objetivo de determinar si pueden aportar un beneficio a la humanidad (artículo 9.3).

También establece, en el capítulo VI, la creación del Conselho Nacional de Procriação medicamente Assistida (*Consejo Nacional de Procreación médicamente Asistida*), encargado de otorgar las licencias a los solicitantes de proyectos de investigación.

#### 4.1.3. Suiza

Previa a la actual ley, la Loi fédérale sur la procréation médicalement assistée (LPMA) du 18 décembre 1998 (*Ley federal sobre la procreación médicamente asistida de 18 de diciembre de 1998*) prohibía cualquier acto realizado con embriones, como la generación *in vitro* o la preservación de los mismos (sección 3, artículo 17). Sin embargo, el gran impacto de las técnicas de FIV, con la consecuente generación de preembriones en gran cantidad, así como los avances biomédicos, propulsó la creación de la actual ley vigente, Loi fédérale relative à la recherche sur les cellules souches embryonnaires du 19 décembre 2003 (LCRS, *Ley federal relativa a la investigación con células madre embrionarias, de 19 de diciembre de 2003*), una ley propiamente reguladora en materia de células madre embrionarias humanas. Esta permite el almacenamiento y uso de embriones sobrantes exclusivamente para fines de investigación, hasta 7 días tras la fecundación (sección 2, artículo 7.2.), restringiendo el uso para tratamiento de FIV o la donación si se sobrepasa este límite (sección 1., artículo 3.2.). También permite la importación de líneas de células madre embrionarias del extranjero (sección 3., artículo 15).

La presente ley, aprobada por el parlamento suizo, fue recurrida por ciertas organizaciones posicionadas en contra de la investigación con embriones; así, se organizó un referéndum, en el que el 66% se mostró a favor de la nueva norma, que entró en vigor en 2005 (SWISS INFO, 2005).

#### 4.1.4. Reino Unido

El Human Fertilisation and Embriology Act, 1990 (HFEA, *Ley sobre Fertilización Humana y Embriología*), el cual fue modificado en 2008, y Human Fertilisation and Embriology (Research Purposes) Regulations, 2001 (HFEAR, *Regulaciones sobre la Fertilización Humana y Embriología, Objetivos de Investigación*) son las leyes encargadas de la regulación de la investigación con embriones humanos. En ellas, se señala una serie de investigaciones concretas permitidas, entre las que se encuentra la investigación de enfermedades congénitas, métodos anticonceptivos, métodos de detección de anomalías génicas o cromosómicas, entre otras (Schedule 2., punto 3). Además, estas investigaciones pueden llevarse a cabo con embriones generados *in vitro*, sobrantes de tratamientos de FIV, siempre que no superen los 14 días.

También se hace mención a la técnica de transferencia nuclear, prohibiéndose la misma para crear un ser humano, aunque no hace referencia a su uso para obtener células madre embrionarias.

En conjunto, la investigación con células madre está regulada por diversos comités, como la Human Tissue Authority (HTA, *Autoridad de Tejidos Humanos*), la Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA, *Agencia Reguladora de Medicina y productos de Atención sanitaria*), la Gene Therapy Advisory Committee (GTAC, *Comité Asesor de Terapia Génica*), así como una herramienta que permite concebir el diseño de estos proyectos de investigación, la “UK Stem Cell Toolkit” (accesible al público desde <http://www.sc-toolkit.ac.uk/regulatoryroutes.cfm>). La Human Fertilisation and Embriology Agency (HFEA, *Agencia para la Fertilización Humana y Embriología*) es la encargada de controlar la obtención de licencias para los mismos.

Cabe destacar la extensa y compleja regulación con la que cuenta el Reino Unido en cuanto al uso de embriones, tanto para fines terapéuticos como de investigación, las técnicas involucradas, la donación, y sobre todo, las condiciones para poder realizar cada uno de los actos contemplados en las leyes. Esto ha dificultado el análisis general de la situación legal de las hESCs, puesto que en cada ley se hace referencia a otras múltiples, a parte de la gran cantidad de modificaciones que presentan.

## 4.2. INVESTIGACIÓN RESTRINGIDA

### 4.2.1. Francia

En Francia, las disposiciones respecto a la investigación con ESCs están recogidas en el Code de la santé publique (*Código de la salud pública*), segunda parte, capítulo único,

cuya última modificación data del 6 de mayo de 2016. La materia contemplada en este capítulo ha sido modificada así mismo por la LOI n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique (*Ley n° 2004-800 de 6 de agosto de 2004 relativa a la bioética*).

En este capítulo, se prohíbe la generación de embriones humanos con fines de investigación (artículo L2151-1) y a clonación terapéutica (artículo L2151-4).

La investigación con embriones humanos y hESCs, contemplada en el artículo L2151-5, está prohibida. Sin embargo, estas podrían ser autorizadas en caso de suponer avances considerados muy significativos en la terapias, y que no puedan ser realizados con la misma eficacia por métodos alternativos.

En el artículo L2151-6, se menciona la posibilidad de importar hESCs, cuyo permiso está sujeto a la decisión de la Agence de la biomédecine (*Agencia de biomedicina*), así como la conservación de las células embrionarias (L2151-7).

### 4.3. INVESTIGACIÓN PROHIBIDA Y/O CON ASPECTOS SIN LEGISLAR

#### 4.3.1. Lituania

La legislación lituana es, de las analizadas, la más prohibitiva en materia de investigación con embriones y células madre embrionarias. La Law on Ethics of Biomedical Research No. VIII-1679 of 11 May 2000 (*Ley de Ética en Investigación Biomédica, n° VIII-1679 de 11 de mayo de 2000*), y su última modificación de 2007, solo permiten el uso de embriones para observaciones clínicas y diagnósticas del mismo, sin intervenciones posibles sobre ellas (artículo 3.2.). No se permite la importación de tejidos procedentes de embriones humanos, incluidas las células madre embrionarias humanas (artículo 3.3.).

La regulación no es tan restrictiva con las células madre adultas, pudiéndose importar, exportar (artículo 3.3.), así como conservarse y usarse para trasplantes. Existe una ley que regula lo anterior, Law on Donation and Transplantation of Human Tissues, Cells and Organs No. I-1626 of 19 November 1996 (*Ley de Donación y Trasplante de Tejidos Humanos, Células y Órganos, n° I-1629 de 19 de noviembre de 1996*), con última modificación en 2006.

#### 4.3.2. Italia

La Legge 19 Febbraio 2004, n. 40, Norme in materia di procreazione medicalmente assistita (*Ley 19 de febrero de 2005, n.40, Norma en materia de procreación médicamente asistida*), prohíbe cualquier uso del embrión que no sea el de mejorar la condición médica del mismo; por tanto, no está permitida la derivación de células madre embrionarias del mismo (capítulo VI, artículo 13.2). También se penaliza la técnica de transferencia nuclear (capítulo VI, artículo 13.3c).

A pesar de la estricta restricción en lo que refiere a la manipulación del embrión, no se hace referencia al uso de líneas de células madre embrionarias humanas importadas, por lo que la investigación con estas está permitida.

Defensores de las hESCs elevaron una petición a las Cortes para intentar modificar la ley 40; así, se celebró un referéndum en 2005, y entre las peticiones se incluía la de permitir la investigación con los embriones sobrantes de FIV, aunque terminó sin éxito (CORTE COSTITUZIONALE, 2005).

#### 4.3.3. Austria

En Austria, la investigación con células madre está regulada por el Fortpflanzungsmedizingesetz, 2004 (*Ley de Medicina Reproductiva, 2004*). En este documento, se prohíbe el uso de embriones para fines no reproductivos, y por tanto, la obtención de hESCs de los mismos. Sin embargo, no hace mención a las líneas obtenidas en otros países, por lo que existe un vacío legal, permitiendo la investigación con hESCs que han sido importadas.

Además, la Austrian Bioethics Commission (*Comisión Bioética Austríaca*), formada en 2001, ha tenido varios pronunciamientos respecto a la derivación de células madre embrionarias y el uso de las mismas. En 2009, un grupo del comité propuso legalizar la obtención de hESCs para investigación, y por contra otro sugirió unas medidas más restrictivas, priorizando la financiación de la investigación con iPSCs (BIOETHIKKOMMISSION, 2009). Al no llegarse a un acuerdo entre ambos grupos, la ley permanece intacta la materia tratada.

#### 4.3.4. Irlanda

En Irlanda no existe ninguna ley que regule la investigación con células madre embrionarias. En la Constitución Irlandesa, se protege el derecho a la vida de los no nacidos, con sentido al caso del aborto, pero no de los embriones creados mediante tratamientos de FIV.

Tras varias leyes que han resultado fracasos, como la Stem-Cell Research (Protection of Human Embryos) Bill 2008 Bill (*Propuesta de Ley sobre la Investigación con células madre, protección de embriones humanos, 2008*), el único pronunciamiento al respecto se ha llevado a cabo por el Irish Medical Council, en 2009, en el que se prohibía a los médicos crear embriones para investigar con ellos (MEDICAL COUNCIL, 2009).

El Irish Council of Bioethics (*Consejo Irlandés de Bioética*), en un informe publicado en 2008, hizo hincapié en la necesidad de legalizar el uso de embriones de hasta 14 días para fines de investigación; sin embargo, la petición sigue congelada, y la legalidad vacía (THE IRISH COUNCIL OF BIOETHICS, 2008).

## CONCLUSIONES

En primer lugar, se puede afirmar que España cuenta con una legislación exhaustiva y permisiva en cuanto al uso de células madre embrionarias humanas para investigación. Se muestra, además, una evolución en la importancia que cobran las mismas en los textos, contemplándose más aspectos y de forma más precisa en cada nueva ley publicada; un ejemplo claro es el uso de preembriones sobrantes de tratamientos de FIV, que tras la evolución de esta técnica, y la acumulación de los mismos, la legislación ha sabido adaptarse a la circunstancia y permitir su uso para investigación.

Sin embargo, existe un gran aspecto controvertido en la legislación estatal vigente, en cuanto a la permisividad del uso de preembriones para investigación: la Ley 14/2006, de Técnicas de Reproducción asistida, menciona que los preembriones podrían ser usados mientras que sea dentro de un plazo de 14 días, sin hacer mención a la viabilidad de los mismos; por el contrario, a Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, hace referencia de forma explícita a la necesidad de que estos preembriones no sean viables, sin especificar plazo de tiempo. Resulta inconcebible que dos leyes vigentes de forma simultánea, en las que se contempla el uso de preembriones y hESCs derivadas de los mismos, se contradigan en un aspecto tan importante y controvertido como es la viabilidad del material usado, y lo que es más grave, sean opuestas a un artículo del Código Penal (artículo 160), haciéndose punitivas actividades que son permitidas en las otras leyes. Esto abre un sesgo para los investigadores, quienes al obtener células madre del material que les es otorgado, actúan simultáneamente en un marco legal e ilegal.

Además, las nuevas técnicas para la obtención de células pluripotentes, como son la reprogramación somática y la transferencia nuclear de células somáticas, han cobrado una gran importancia en los últimos años, siendo cada vez más utilizada en los laboratorios de investigación. Por ello, se requiere una legislación, si no específica, que reúna las premisas para poder aplicar dichas técnicas en España. En la actualidad, sólo las leyes autonómicas de Andalucía hacen referencia a dichas técnicas, concretamente a las iPSCs.

En cuanto a la legislación en los distintos países de Europa, se ve claramente las diferencias en cuanto a la permisividad con el uso de células madre embrionarias humanas, además de los vacíos legales que existen en algunos países, como son Italia o Irlanda. Estas desigualdades pueden propiciar, en primer lugar, flujos de investigadores a aquellos países en los que existe la posibilidad de realizar investigaciones con células madre embrionarias, y en segundo lugar, desperdiciar material valioso por ser rechazado en cierto país.

De esta manera, creo que hay diversos aspectos a mejorar de la situación actual. En primer lugar, la gran importancia y a la par controversia que suscitan estas células madre embrionarias humanas, hace necesario la creación de una ley específica que regule todos los aspectos que conciernen a las mismas, desde su obtención hasta sus posibles aplicaciones. Puesto que estas investigaciones presentan un gran número de detractores, también sería de interés informar con detalle a la población de las técnicas usadas, ayudado de la mano de investigadores expertos en el campo, con el fin de que la gente que no está involucrada en el ámbito científico, entre los que se encuentra los

posibles donantes de preembriones, entiendan lo que estas metodologías suponen los avances que las mismas pueden permitir.

En segundo lugar, veo necesaria la creación de un Comité Bioético a nivel europeo, encargado de elaborar una legislación común para los diversos países de Europa, o si no al menos en los que se contemple unas premisas básicas respecto a aspectos cruciales, como la viabilidad de los preembriones usados o la posibilidad de importación o exportación de células madre embrionarias humanas.

De igual manera, es totalmente necesaria la adaptación de las legislaciones vigentes, ya sean europeas o españolas, a los avances científicos y técnicos y las nuevas metodologías, con el fin de impedir que métodos como los comentados en este trabajo, como son las iPSCs y la SCNT pierdan su valor, al no trabajar los científicos con ellos por miedo de irrumpir en la ilegalidad.

Las células madre embrionarias humanas tienen un enorme potencial para la investigación biomédica y una enorme capacidad para mejorar la salud pública; no podemos dejar que se pierda el interés en ellas por no conseguir una legislación concreta, completa y unificada.

## REFERENCIAS

### BIBLIOGRAFÍA

- AHUJA, Y. R., VIJAYALAKSHMI, V., & POLASA, K. (2007). Stem cell test: A practical tool in toxicogenomics. *Toxicology*, 231(1): 1-10.
- AL-HAJJ, M. (2007). Cancer stem cells and oncology therapeutics. *Current opinion in oncology*, 19(1): 61-64.
- AMERICAN CANCER SOCIETY (2013). *Stem Cell Transplant (Peripheral Blood, Bone Marrow, and Cord Blood Transplants)*, consultado el 19 de abril de 2016. Disponible en: <http://www.cancer.org/treatment/treatmentsandsideeffects/treatmenttypes/bonemarrowandperipheralbloodstemcelltransplant/stem-cell-transplant-transplant-process>
- AMIT, M., CARPENTER, M. K., INOKUMA, M. S., CHIU, C. P., HARRIS, C. P., WAKNITZ, M. A., ITSKOVITZ-ELDOR, J., & THOMSON, J. A. (2000). Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture. *Developmental biology*, 227(2): 271-278.
- AMIT, M., MARGULETS, V., SEGEY, H., SHARIKI, K., LAEVSKY, I., COLEMAN, R., & ITSKOVITZ-ELDOR, J. (2003). Human feeder layers for human embryonic stem cells. *Biology of reproduction*, 68(6): 2150-2156.
- ANDREWS, P. W., BRONSON, D. L., BENHAM, F., STRICKLAND, S., & KNOWLES, B. B. (1980). A comparative study of eight cell lines derived from human testicular teratocarcinoma. *International Journal of Cancer*, 26(3): 269-280.
- ANTONUCCI, I., PANTAONE, A., TETE, S., SALINI, V., V BORLONGAN, C., HESS, D., & STUPPIA, L. (2012). Amniotic fluid stem cells: a promising therapeutic resource for cell-based regenerative therapy. *Current pharmaceutical design*, 18(13): 1846-1863.
- ARIAS, M. E., & FELMER, R. (2009). Biología de las células madre embrionarias (ES cells) en distintas especies: potenciales aplicaciones en biomedicina. *Archivos de medicina veterinaria*, 41(3): 185-195.
- BAPAT, S. A., & MISHRA, G. C. (2005). Stem cell pharmacogenomics: a reality check on stem cell therapy. *Current opinion in molecular therapeutics*, 7(6): 551-556.
- BERHAM, F.J., ANDREWS, P.W., KNOWLES, B.B., BRONSON, D.L., & HARRIS, H. (1981). Alkaline phosphatase isozymes as possible markers of differentiation in human testicular teratocarcinoma cell lines. *Developmental biology*, 88(2): 279-287.
- BERNSTINE, E. G., HOOPER, M. L., GRANDCHAMP, S., & EPHRUSSI, B. (1973). Alkaline phosphatase activity in mouse teratoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12): 3899-3903.

- BIOETHIKKOMMISSION (2009). *Research on Human Embryonic Stem Cells*, consultado el 12 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.bka.gv.at/DocView.axd?CobId=34240>
- BONGSO, A., FONG, C. Y., NG, S. C., & RATNAM, S. (1994). Fertilization and early embryology: Isolation and culture of inner cell mass cells from human blastocysts. *Human Reproduction*, 9(11): 2110-2117.
- BOSMA, G. C., CUSTER, R. P., & BOSMA, M. J. (1983). A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse. *Nature*, 301(5900): 527-530.
- BRADLEY, A., EVANS, M., KAUFMAN, M. H., & ROBERTSON, E. (1984). Formation of germ-line chimaeras from embryo-derived teratocarcinoma cell lines. *Nature*, 309 (5965): 255-256.
- BULIĆ-JAKUŠ, F., ULAMEC, M., VLAHOVIĆ, M., SINČIĆ, N., KATUŠIĆ, A., JURIĆ-LEKIĆ, G., SERMAN, L., & BELICZA, M. (2006). Of mice and men: teratomas and teratocarcinomas. *Collegium antropologicum*, 30(4): 921-924.
- BURKERT, U., VON RÜDEN, T., & WAGNER, E. F. (1991). Early fetal hematopoietic development from in vitro differentiated embryonic stem cells. *The new biologist*, 3(7): 698-708.
- CHEN, A. E., & MELTON, D. A. (2007). Derivation of human embryonic stem cells by immunosurgery. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (10), e574-e574.
- CHENG, L., HAMMOND, H., YE, Z., ZHAN, X., & DRAVID, G. (2003). Human adult marrow cells support prolonged expansion of human embryonic stem cells in culture. *Stem cells*, 21(2): 131-142.
- COMITÉ ASESOR DE ÉTICA EN LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA. FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA (2003). *La investigación sobre células troncales*, consultado el 8 de mayo de 2016. Disponible en: [http://www.user.cnb.csic.es/~transimp/INFORME\\_CELULAS\\_TRONCALES.pdf](http://www.user.cnb.csic.es/~transimp/INFORME_CELULAS_TRONCALES.pdf)
- CORTE COSTITUZIONALE (2005). *Referendum sulla legge in tema di procreazione medicalmente assistita*, consultado el 12 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.cortecostituzionale.it/comunicatiStampa.do;jsessionid=086CE50B849BF84F4DACA33D4192EB06>
- DAVIDSON, K. C., DOTTORI, M., & PEBAY, A. (2008). Human embryonic stem cells: key characteristics and main applications in disease research. *Stem Cell Applications in Diseases. Hauppauge NY: Nova Science*, 155-87.
- DOETSCHMAN, T. C., EISTETTER, H., KATZ, M., SCHMIDT, W., & KEMLER, R. (1985). The in vitro development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium. *Development*, 87(1): 27-45.
- DOUGLAS, T., & SAVULESCU, J. (2009). Destroying unwanted embryos in research. *EMBO reports*, 10(4): 307-312.

- EL UNIVERSAL (2013). *Células Madre, auto-renovación, auto-mantenimiento, relatividad*, consultado el 19 de abril de 2016. Disponible en: <http://www.eluniversal.com/blogs/vidaprolog/130607/celulas-madre-auto-renovacion-auto-mantenimiento-relatividad>
- EUROSTEMCELL (2011). *Células madre embrionarias: ¿Cómo se obtienen y que se puede hacer con ellas?*, consultado el 21 de abril de 2016. Disponible en: <http://www.eurostemcell.org/es/factsheet/c%C3%A9lulas-madre-embrionarias-%C2%BFc%C3%B3mo-se-obtienen-y-que-se-puede-hacer-con-ellas>
- EVANS, M. J. (1972). The isolation and properties of a clonal tissue culture strain of pluripotent mouse teratoma cells. *Development*, 28(1): 163-176.
- EVANS, M. J., & KAUFMAN, M. H. (1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, 292 (5819): 154-156.
- EXPLORE STEM CELLS (2016). *Pluripotent stem cells*, consultado el 21 de abril de 2016. Disponible en: <http://www.explorestemcells.co.uk/pluripotentstemcells.html>
- FENDERSON, B. A., ANDREWS, P. W., NUDELMAN, E., CLAUSEN, H., & HAKOMORI, S. I. (1987). Glycolipid core structure switching from globo-to lacto- and ganglio-series during retinoic acid-induced differentiation of TERA-2-derived human embryonal carcinoma cells. *Developmental biology*, 122(1): 21-34.
- FOGH, J., & TREMPE, G. (1975). New human tumor cell lines. In *Human tumor cells in vitro* (pp. 115-159). Springer US.
- GARCÍA GIMENO, M.A. (2016). *Apuntes de la asignatura "Introducción a la Biomedicina"*. Universitat Politècnica de València. Valencia.
- GONZALEZ, M.A. & BERNAD, A. (2012). Characteristics of adult stem cells. *Stem Cell Transplantation*: 103-120.
- GOSSLER, A., DOETSCHMAN, T., KORN, R., SERFLING, E., & KEMLER, R. (1986). Transgenesis by means of blastocyst-derived embryonic stem cell lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(23): 9065-9069.
- HERNANDEZ, R. y DORTICÓS, E. (2004). Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. *Revista Cubana Hematología*, 20(3).
- HINDAWI. STEM CELLS INTERNATIONAL (2015). *Application of Adult Stem Cells in Medicine*, consultado el 19 de abril de 2016. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/sci/si/936070/cfp/>
- HUG, K. (2005). Sources of human embryos for stem cell research: ethical problems and their possible solutions. *Medicina (Kaunas)*, 41(12): 1002-1010.
- JAKOB, H., DUBOIS, P., EISEN, H., & JACOB, F. (1978). Effets de l'hexaméthylènebisacétamide sur la différenciation de cellules de carcinome embryonnaire. *CR Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D*, 286(1): 109-111.
- KANNAGI, R., COCHRAN, N. A., ISHIGAMI, F., HAKOMORI, S. I., ANDREWS, P., KNOWLES, B. B., & SOLTER, D. (1983). Stage-specific embryonic antigens

- (SSEA-3 and-4) are epitopes of a unique globo-series ganglioside isolated from human teratocarcinoma cells. *The EMBO journal*, 2(12): 2355-2361.
- KELLER, G. M. (1995). In vitro differentiation of embryonic stem cells. *Current opinion in cell biology*, 7(6): 862-869.
- KELLER, G. M. (2005). Embryonic stem cell differentiation: emergence of a new era in biology and medicine. *Genes & development*, 19(10): 1129-1155.
- KFOURY, C. (2007). Therapeutic cloning: promises and issues. *McGill Journal of Medicine: MJM*, 10(2): 112-120.
- KLEINSMITH, L.J. & PIERCE, G.B. (1964). Multipotentiality of Single Embryonal Carcinoma Cells. *Cancer Research*, 24: 1544-1551.
- KUMAR, R., SHARMA, A., PATTNAIK, A.K., & VARADWAJ, P.K. (2010). Stem cells: An overview with respect to cardiovascular and renal disease. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 1(1): 43-52.
- LIU, W., YIN, Y., LONG, X., LUO, Y., JIANG, Y., ZHANG, W., DU, H., LI, S., ZHENG, Y., LI, Q., CHEN, X., LIAO, B., XIAO, G., WANG, W., & SUN, X. (2009). Derivation and characterization of human embryonic stem cell lines from poor quality embryos. *Journal of Genetics and Genomics*, 36(4): 229-239.
- MCELROY, S. L., & PERA, R. A. R. (2008). Culturing human embryonic stem cells in feeder-free conditions. *Cold Spring Harbor Protocols*, 3(9), pdb-prot5044.
- MALIK, N., & RAO, M. S. (2013). A review of the methods for human iPSC derivation. *Pluripotent Stem Cells: Methods and Protocols*, 23-33.
- MARTIN, G. R. (1981). Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(12): 7634-7638.
- MARTIN, G.R. & EVANS, M.J. (1974). The morphology and growth of a pluripotent teratocarcinoma cell line and its derivatives in tissue culture. *Cell*, 2:163-172
- MARTIN, G.R. & EVANS, M.J. (1975). Differentiation of clonal lines of teratocarcinoma cells: Formation of embryoid bodies *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(4): 1441-1445.
- MARTIN, M. J., MUOTRI, A., GAGE, F., & VARKI, A. (2005). Human embryonic stem cells express an immunogenic nonhuman sialic acid. *Nature medicine*, 11(2): 228-232.
- MATIKAINEN, T. & LAINE, J. (2005). Placenta – an alternative source of stem cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 207(2): 544-549.
- MEDICAL COUNCIL (2009). *Guide to Professional Conduct and Ethics for Medical Practitioners*, 7<sup>th</sup> edition, consultado el 11 de mayo de 2016. Disponible en: <https://www.medicalcouncil.ie/News-and-Publications/Publications/Professional-Conduct-Ethics/Guide-to-Professional-Conduct-and-Behaviour-for-Registered-Medical-Practitioners-pdf.pdf>

- NAKANO, T., KODAMA, H., & HONJO, T. (1994). Generation of lymphohematopoietic cells from embryonic stem cells in culture. *Science*, 265(5175): 1098-1101.
- NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (2015). *Stem Cell Basics: Introduction*, consultado el 19 de abril de 2016. Disponible en: <http://stemcells.nih.gov/info/basics/pages/basics1.aspx>
- NISHIKAWA, S. I., NISHIKAWA, S., HIRASHIMA, M., MATSUYOSHI, N., & KODAMA, H. (1998). Progressive lineage analysis by cell sorting and culture identifies FLK1+ VE-cadherin+ cells at a diverging point of endothelial and hemopoietic lineages. *Development*, 125(9): 1747-1757.
- OH, S. K., & CHOO, A. B. (2006). Human embryonic stem cells: technological challenges towards therapy. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 33(5-6): 489-495.
- PERA, M.F., REUBINOFF, B., & TROUNSON, A. (2000). Human embryonic stem cells. *Journal of cell science*, 113(1): 5-10.
- RAMALHO-SANTOS, M., YOON, S., MATSUZAKI, Y., MULLIGAN, R.C., & MELTON, D.A. (2002). "Stemness": transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells. *Science*, 298(5593): 597-600.
- ROSENTHAL, M. D., WISHNOW, R. M., & SATO, G. H. (1970). In vitro growth and differentiation of clonal populations of multipotential mouse cells derived from a transplantable testicular teratocarcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 44(5): 1001-1014.
- SHAMBLOTT, M. J., AXELMAN, J., WANG, S., BUGG, E. M., LITTLEFIELD, J. W., DONOVAN, P. J., BLUMENTHAL, P. D., HUGGINS, G. R., & GEARHART, J. D. (1998). Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(23): 13726-13731.
- SHAMBLOTT, M.J., AXELMAN, J., LITTLEFIELD, J.W., BLUMENTHAL, P.D., HUGGINS, G.R., CUI, Y., CHENG, L., & GEARHART, J.D. (2001). Human embryonic germ cell derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(1): 113-118.
- SHEVINSKY, L. H., KNOWLES, B. B., DAMJANOV, I., & SOLTER, D. (1982). Monoclonal antibody to murine embryos defines a stage-specific embryonic antigen expressed on mouse embryos and human teratocarcinoma cells. *Cell*, 30(3): 697-705.
- SKAKKEBAEK, N.E., BERTHELSEN, J.G., GIWERCMAN, A., & MULLER, J. (1987). Carcinoma-in-situ of the testis: possible origin from gonocytes and precursor of all types of germ cell tumours except spermatocytoma. *International journal of andrology*, 10(1): 19-28.
- SMITH, A. G., HEATH, J. K., DONALDSON, D. D., WONG, G. G., MOREAU, J., STAHL, M., & ROGERS, D. (1988). Inhibition of pluripotential embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides. *Nature*, 336: 688-690.

- SOLTER, D., & KNOWLES, B. B. (1978). Monoclonal antibody defining a stage-specific mouse embryonic antigen (SSEA-1). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(11): 5565-5569.
- STERN, P. L., WILLISON, K. R., LENNOX, E., GALFRÈ, G., MILSTEIN, C., SECHER, D., ZIEGLER, A., & SPRINGER, T. (1978). Monoclonal antibodies as probes for differentiation and tumor-associated antigens: a Forssman specificity on teratocarcinoma stem cells. *Cell*, 14(4): 775-783.
- STEVENS, L.C. (1964). Experimental production of testicular teratomas in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 52: 654-661.
- STEVENS, L. C. (1970). The development of transplantable teratocarcinomas from intratesticular grafts of pre-and postimplantation mouse embryos. *Developmental biology*, 21(3): 364-382.
- STEVENS, L. C., & LITTLE, C. C. (1954). Spontaneous Testicular Teratomas in an Inbred Strain of Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 40(11): 1080–1087.
- STRICKLAND, S., & MAHDAVI, V. (1978). The induction of differentiation in teratocarcinoma stem cells by retinoic acid. *Cell*, 15(2): 393-403.
- STRÖM, S., INZUNZA, J., GRINNEMO, K. H., HOLMBERG, K., MATILAINEN, E., STRÖMBERG, A. M., BLENNOW, E., & HOVATTA, O. (2007). Mechanical isolation of the inner cell mass is effective in derivation of new human embryonic stem cell lines. *Human Reproduction*, 22(12): 3051-3058.
- SWISS INFO (2005). *Loi sur les cellules-souches, c'est parti*, consultado el 11 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.swissinfo.ch/fre/loi-sur-les-cellules-souches--c-est-parti/4383890>
- TAKAHASHI, K., & YAMANAKA, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126(4): 663-676.
- TE INTERESA.ES (2014). *En el líquido amniótico también hay células madre*, consultado el 10 de mayo de 2016. Disponible en: [http://www.teinteresa.es/salud/liquido-amniotico-celulas-madre\\_0\\_1144686701.html](http://www.teinteresa.es/salud/liquido-amniotico-celulas-madre_0_1144686701.html)
- THE IRISH COUNCIL FOR BIOETHICS (2008). *Ethical, Scientific and Legal Issues Concerning Stem Cell Research*, consultado el 11 de mayo de 2016. Disponible en: [http://health.gov.ie/wp-content/uploads/2014/07/Ethical\\_Scientific\\_Legal\\_Issues1.pdf](http://health.gov.ie/wp-content/uploads/2014/07/Ethical_Scientific_Legal_Issues1.pdf)
- THOMAS, K. R., & CAPECCHI, M. R. (1987). Site-directed mutagenesis by gene targeting in mouse embryo-derived stem cells. *Cell*, 51(3): 503-512.
- THOMSON, J. A., ITSKOVITZ-ELDOR, J., SHAPIRO, S. S., WAKNITZ, M. A., SWIERGEL, J. J., MARSHALL, V. S., & JONES, J. M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282(5391): 1145-1147.

- TURETSKY, T., AIZENMAN, E., GIL, Y., WEINBERG, N., SHUFARO, Y., REVEL, A., LAUFER, N., SIMON, A., ABELIOVICH, D. & REUBINOFF, B. E. (2008). Laser-assisted derivation of human embryonic stem cell lines from IVF embryos after preimplantation genetic diagnosis. *Human reproduction*, 23(1): 46-53.
- VAN HOOFF, D., BRAAM, S. R., DORMEYER, W., WARD-VAN, D., HECK, A. J., KRIJGSVELD, J., & MUMMERY, C. L. (2008). Feeder-Free Monolayer Cultures of Human Embryonic Stem Cells Express an Epithelial Plasma Membrane Protein Profile. *Stem Cells*, 26(11): 2777-2781.
- VAZIN, T., & FREED, W. J. (2010). Human embryonic stem cells: derivation, culture, and differentiation: a review. *Restorative neurology and neuroscience*, 28(4): 589-603
- WILLIAMS, R. L., HILTON, D. J., PEASE, S., WILLSON, T. A., STEWART, C. L., GEARING, D. P., WAGNER, E. F., METCALF, D., NICOLA, N. A., & GOUGH, N. M. (1988). Myeloid leukaemia inhibitory factor maintains the developmental potential of embryonic stem cells. *Nature*, 336(6200): 684-687.
- XU, C., INOKUMA, M. S., DENHAM, J., GOLDS, K., KUNDU, P., GOLD, J. D., & CARPENTER, M. K. (2001). Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells. *Nature biotechnology*, 19(10): 971-974.
- YEE, J. (2010) Turning Somatic Cells into Pluripotent Stem Cells. *Nature Education*, 3(9): 25.
- YING, Q. L., NICHOLS, J., CHAMBERS, I., & SMITH, A. (2003). BMP induction of Id proteins suppresses differentiation and sustains embryonic stem cell self-renewal in collaboration with STAT3. *Cell*, 115(3): 281-292.

## LEGISLACIÓN

- Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida (BOE núm. 282, de 24 de noviembre de 1988).
- Ley 42/1988, de 28 de diciembre, sobre donación y utilización de embriones o de sus células, tejidos u órganos (BOE núm. 314, de 31 de diciembre de 1988).
- Fortpflanzungsmedizingesetz am 4 juni 1992 (Erscheinungsort Wien, 105 Stück), consultado el 5 de mayo de 2016. Disponible en: [http://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/BqblPdf/1992\\_275\\_0/1992\\_275\\_0.pdf](http://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/BqblPdf/1992_275_0/1992_275_0.pdf)
- Ley Orgánica 10/1995, de 23 de noviembre, del Código Penal (BOE núm. 281, de Noviembre de 1995), modificada por LO 15/2003, de 25 de noviembre (BOE núm. 283, de 26 de noviembre de 2003).
- Law No. I-1626 of 19 November 1996 on Donation and Transplantation of Human Tissues, Cells and Organs, As last amended on 14 November 2013 – No XII-593 (2013-11-14 Priėmė - Lietuvos Respublikos Seimas), consultado el 12 de mayo de 2016. Disponible en: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/0c7d80622aca11e58a4198cd62929b7a?ifwid=191fum8213>

- RS 810/11. Loi fédérale sur la procréation médicalement assistée (LPMA) du 18 décembre 1998 (Le Conseil fédéral. Le portail du Gouvernement suisse, RO 2000 3055), consultado el 12 de mayo de 2016. Disponible en: <https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/20001938/index.html>
- Law No. VIII-1679 of 11 May 2000 on Ethics of Bio-medical Research, as Amended to 26 June 2014 - No X-1325 (2007-11-15 Priėmė - Lietuvos Respublikos Seimas), consultado el 5 de mayo de 2016. Disponible en: [http://www3.lrs.lt/pls/inter3/dokpaieska.showdoc\\_l?p\\_id=326057#](http://www3.lrs.lt/pls/inter3/dokpaieska.showdoc_l?p_id=326057#)
- Human Fertilisation and Embryology (Research Purposes) Regulations 2001 (nº 188). (legislation.gov.uk, 24<sup>th</sup> January 2001), consultado el 6 de mayo de 2016. Disponible en: [http://www.legislation.gov.uk/uksi/2001/188/pdfs/uksi\\_20010188\\_en.pdf](http://www.legislation.gov.uk/uksi/2001/188/pdfs/uksi_20010188_en.pdf)
- Ley 7/2003, de 20 de octubre, por la que se regula la investigación en Andalucía con preembriones humanos no viables para la fecundación in vitro. (BOE núm. 279, de 21 de noviembre de 2003).
- Ley 45/2003, de 21 de noviembre, por la que se modifica la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida. (BOE núm. 280, de 22 de noviembre de 2003).
- RS 810.31. Loi fédérale relative à la recherche sur les cellules souches embryonnaires (Loi relative à la recherche sur cellules souches, LRCS), du 19 décembre 2003. (Le Conseil fédéral. Le portail du Gouvernement suisse, RO 2005 947), consultado el 8 de mayo de 2016. Disponible en: <https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/20022165/index.html>
- Legge 19 febbraio 2004, n. 40, Norme in materia di procreazione medicalmente assistita (Gazzetta Ufficiale nº 45 del 24 febbraio 2004), consultado el 12 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.camera.it/parlam/leggi/04040l.htm>
- Loi nº 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique (legifrance), consultado el 12 de mayo de 2016. Disponible en: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000441469>
- Předpis č. 227/2006 Sb. Zákon o výzkumu na lidských embryonálních kmenových buňkách a souvisejících činností a na Změně některých souvisejících zákon, ze dne 26.04.2006 (MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY), consultado el 10 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2006-227>
- Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida (BOE núm. 126, de 27 de mayo de 2006).
- Lei no. 32/2006 Procriação medicamente assistida de 26 de Junho, consultado el 10 de mayo de 2016. Disponible en: [http://www.fd.unl.pt/docentes\\_docs/ma/tpb\\_MA\\_4022.pdf](http://www.fd.unl.pt/docentes_docs/ma/tpb_MA_4022.pdf)

Ley 1/2007, de 16 de marzo, por la que se regula la investigación en reprogramación celular con finalidad exclusivamente terapéutica. (BOE núm. 89, de 13 de abril de 2007).

Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica (BOE núm. 159, de 4 de julio de 2007).

Reglamento (CE) nº 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de noviembre de 2007 sobre medicamentos de terapia avanzada y por el que se modifican la Directiva 2001/83/CE y el Reglamento (CE) no 726/2004 (DOUE núm 324, de 20 de diciembre de 2007).

Human Fertilisation and Embriology Act 2008 (c.22) (legislation.gov.uk, 13<sup>th</sup> November 2008), consultado el 6 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.legislation.gov.uk/ukpga/2008/22/contents>

Stem-Cell Research (Protection of Human Embryos) Bill 2008, nº 60, consultado el 6 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.oireachtas.ie/documents/bills28/bills/2008/6008/b6008s.pdf>

Decisión del Consejo, de 3 de diciembre de 2013, por la que se establece el Programa Específico por el que se ejecuta Horizonte 2020 - Programa Marco de Investigación e Innovación (2014-2020) y se derogan las Decisiones 2006/971/CE, 2006/972/CE, 2006/973/CE, 2006/974/CE y 2006/975/CE. (DOUE núm. 347, de 20 de diciembre de 2013).

Ley 4/2014, de 9 de diciembre, por la que se modifican la Ley 7/2003, de 20 de octubre, por la que se regula la investigación en Andalucía con preembriones humanos no viables para la investigación in vitro, y la Ley 1/2007, de 16 de marzo, por la que se regula la investigación en reprogramación celular con finalidad exclusivamente terapéutica (BOE núm. 8, de 9 de enero de 2015).

Code de la Santé publique (version consolidée au 6 mai 2016) (legifrance), consultado el 7 de mayo de 2016. Disponible en <https://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665>

## SENTENCIAS DEL TRIBUNAL CONSTITUCIONAL

Pleno. Sentencia 212/1996, de 19 de diciembre de 1996. Recurso de inconstitucionalidad 596/1989. Promovido por 79 Diputados del Grupo Parlamentario Popular contra la Ley 42/1988, de 28 de diciembre, de Donación y Utilización de Embriones y Fetos Humanos o de sus Células, Tejidos u Órganos, en su totalidad, y subsidiariamente contra diversos preceptos de la citada Ley por contradecir los arts. 9, 10, 15, 25, 53 y 81 de la C.E. Voto particular (BOE núm. 19, de 22 de enero de 1997).

Pleno. Sentencia 116/1999, de 17 de junio de 1999. Recurso de inconstitucionalidad 376/1989. Promovido por Diputados del Grupo Parlamentario Popular contra la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, de Técnicas de Reproducción Asistida, en su totalidad y, subsidiariamente, contra distintos apartados de la misma. Voto particular. (BOE núm. 162, de 8 de julio de 1999).