

¿QUÉ HAY DE NUEVO SOBRE LAS CÉLULAS TRONCALES? LA UTOPIÍA DE LA «CLONACIÓN TERAPÉUTICA»

WHAT IS NEW ON STEM CELLS? THE UTOPIA OF «THERAPEUTIC CLONING»

Natalia López Moratalla

Departamento de Bioquímica

Universidad de Navarra

E-mail: natalialm@unav.es

Resumen

La Ley de Investigación Biomédica, aprobada en España el pasado 28 de marzo de 2007, permite la donación de óvulos humanos, embriones y fetos para investigación. Promueve la transferencia nuclear a oocitos humanos y su activación (tecnología que se conoce como «clonación terapéutica») a fin de que prosiga la investigación con embriones y sus células, lo que la ley considera imprescindible para el desarrollo de la Medicina regenerativa. Se analizan los resultados científicos de los dos últimos años en este campo: A) No se ha desarrollado ningún tipo de terapia basada en las células troncales embrionarias (ES); maduran y se estabilizan algo más cuando el desarrollo avanza y se hacen troncales fetales. B) Las células procedentes del cultivo de ovocitos, con transferencia nuclear (NT-ES), han podido obtenerse en algunas especies. La eficiencia de la transferencia de un núcleo de célula somática a un ovocito desnucleado en primates (no humanos y humanos) y la posterior reprogramación del material genético ha sido nula hasta el momento. La «clonación terapéutica» es una utopía científica; no es posible pensar en un tratamiento que requiriera generar un clon a la carta de cada paciente y la comprobación de que las células obtenidas

no se han alterado o transformado en el proceso de su diferenciación y maduración. Por otra parte no se ha solucionado la obtención de óvulos humanos. C) Para uso terapéutico se cuenta con las células troncales de adulto del propio paciente, con sus células «rejuvenecidas» a fin de conseguirlas en mayor cantidad, o de células ajenas tolerantes como las de la sangre del cordón umbilical de neonatos, etc. Por ello deja de ser un «dilema ético» usar o no embriones humanos para causar un bien: no está justificada desde ningún punto de vista. Por otra parte, las curiosas células obtenidas por transferencia nuclear, si se resolviese el grave problema de los riesgos de las mujeres donantes de óvulos, puede que fueran de interés en alguna investigación, no biomédica, sino dirigida a «aprender más» acerca de los mecanismos biológicos que permiten el desarrollo temprano del embrión en el útero materno. Una investigación que no puede estar justificada: causar un mal para un ambiguo posible bien, y existiendo otras alternativas.

Palabras clave: investigación biomédica, embriones humanos, fetos, óvulos, transferencia nuclear.

Abstract

The Law of Biomedical Research, approved in Spain on March 28, 2007, allows donation of human ovules, embryos and fetuses for research purposes. Nuclear transference to human oocytes is promoted as well as its activation (known as «therapeutic cloning») thus clearing the way for research with embryos and cells derived from them. This research is considered essential by this law for the development of regenerative medicine. Scientific results related to this field are discussed in this article. A) No therapy based on embryonic stem cells (ES) has been achieved to this moment; these stem cells become more mature and reach further stability, if obtained from later embryo stages or from a fetus. B) Cells from oocytes subjected to nuclear transference (NT-ES) have been obtained in some animal species. Transference of a nucleus from a somatic cell to an egg cell with its nucleus removed has not yet been achieved in (human or not human) primates and reprogramming has so far failed. Therapeutic cloning is a scientific utopia; it is impossible to think of a treatment requiring a specific clone of cells for each individual patient being absolutely certain that cells are not altered or undesirably transformed when differentiating or maturing them. And problems related to safe egg donation have not yet been solved. C) Stem cells from the patient or from other adults are being used with therapeutic purposes. They can be obtained in high quantity. And cells from the umbilical cord are also being used. The ethical dilemma introduced by the idea of using embryo cells (after destroying the embryo) is not justified. On the other hand, the odd cells obtained by nuclear transference, if risks of egg donation were eliminated, could possibly be of interest in some types of research to know details of

early development of the embryo in the human uterus. However, these cells would be of no interest in biomedical research. No research would be justified if an evil is caused to reach something good. Fortunately reasonable alternatives exist.

Key words: Biomedical Research, human ovules, embryos and fetuses, nuclear transfer.

1. La cuestión de la «clonación terapéutica»: de embriones a fetos

A comienzos del año 2002, reinaba un gran optimismo en torno a las células troncales embrionarias. Eran muchos, en verdad, los que pensaban que ayudarían a curar o aliviar a millones de enfermos. A pesar de los profundos problemas éticos por el uso de embriones humanos muchos acogieron las promesas y soñaron con el milagro que se ofrecía. El problema planteado desde el inicio acerca del previsible rechazo, si se llegasen a usar células troncales embrionarias en terapias regenerativas, hizo que en los 5 últimos años el trabajo se centrara especialmente en la transferencia nuclear (conocida como «clonación terapéutica»), a fin de conseguir células embrionarias de un embrión clónico del paciente. Se propuso además que el desarrollo *in vivo*, o *in vitro*, del clon sería un sistema de conseguir órganos y tejidos capaces de ser transplantados al paciente¹. Se dispondría así de células embrionarias y fetales o de órganos fetales «a la carta» para potenciales terapias y además de

un material humano comercializable para investigación biomédica.

Sin embargo, la clonación de mamíferos no ha logrado aún un animal sano y la transferencia nuclear ha resultado ser más difícil en primates (humanos y no humanos) que en otros mamíferos. Comienza entonces la historia de la defensa de que una cosa es lograr el individuo vivo y otra clonar tejidos derivados del embrión clónico: «clonación terapéutica». Se ha supuesto, gratuitamente, que las dificultades se resuelven con tiempo, dinero e investigación; se trata de mantener las promesas sobre el potencial terapéutico y de investigación biomédica de las células derivadas de embriones humanos.

A finales del año 2005 se habían hecho enormes promesas acerca de la constitución de bancos de líneas de células troncales maduras «a la carta», obtenidas por la tecnología de transferencia nuclear, o «clonación terapéutica», que estarían disponibles a lo largo del año 2006. Promesas basadas en el artículo publicado en mayo del año anterior en *Science* por Woo Suk Hwang, y que resultó ser un fraude². No sólo no se habían conseguido

1 Cfr. Perry, A.C.F. «Progress in Human Somatic-Cell Nuclear Transfer» *N. Engl. J. Med.*, 353, 87-88, 2005.

2 Cfr. López-Moratalla, N. «El lobby de las células embrionarias, telón de fondo del fraude de la clonación». *Cuad. Bioét.* XVII, 2006/1^a.

líneas celulares de los clones, sino que había usado unos 2.200 óvulos humanos sin resultado.

En marzo de 2007 se ha aprobado en España la ley de Investigación Biomédica, que abre de par en par las puertas a la llamada «clonación terapéutica», legaliza la donación de óvulos para investigación, y permite el uso de embriones y fetos humanos para investigación³. El planteamiento de la ley parte del error de que «la investigación con gametos, embriones o células embrionarias se ha hecho imprescindible en el ámbito de la terapia celular y la medicina regenerativa»⁴.

Esto, junto al hecho de la reciente incorporación de los científicos Miodrag Stojkovic a Valencia y de Jose Cibelli, de la empresa norteamericana de Worcester, Massachusetts, Advanced Cell Technology (ACT), al Banco de Líneas Celulares

de Granada, a la espera de que entre en vigor la ley, hace necesario analizar con rigor la situación actual de la tecnología de transferencia nuclear, en relación con la obtención de células troncales para la Medicina regenerativa.

Miodrag Stojkovic, en el laboratorio de Alison Murdoch en la Universidad de Newcastle, publicó «online» en el 2005, la generación de un blastocisto (embrión de cinco días) humano clónico pero no fue capaz de conseguir a partir de él ninguna línea de células troncales embrionarias⁵. La causa del fracaso inicial, según afirma, es que los oocitos no fueron suficientes en calidad y en cantidad para que la técnica resultase eficiente. Las condiciones de la mujer donante de óvulos son dos: juventud y tener al menos un hijo biológico a fin de asegurar la calidad de sus células. Ahora, según sus propias declaraciones, usará óvulos de los producidos en los aproximadamente 3.000 ciclos de tratamientos de infertilidad que atiende el Instituto Valenciano de Infertilidad que donen las mujeres a cambio de un descuento en el tratamiento⁶. Realmente ¿servirán esos óvulos? Mientras tanto, en Serbia, con un

3 «En el capítulo primero de este título se prohíbe expresamente la constitución de preembriones y embriones humanos con fines de experimentación y se autoriza la utilización de cualquier técnica de obtención de células troncales humanas con fines terapéuticos o de investigación, incluida la activación de ovocitos mediante transferencia nuclear, que no comporte la creación de un preembrión o de un embrión en los términos definidos en la Ley... Esta Ley tiene por objeto regular...La donación y utilización de ovocitos, espermatozoides, preembriones, embriones y fetos humanos o de sus células, tejidos u órganos con fines de investigación biomédica y sus posibles aplicaciones clínicas (Artículo 1).

4 «En pocos años ha cobrado enorme relevancia la obtención, utilización, almacenaje y cesión de las muestras biológicas con fines de diagnóstico y de investigación, son cada vez mas frecuentes las investigaciones que implican procedimientos invasivos en seres humanos, y la investigación con gametos, embriones o células embrionarias se ha hecho imprescindible en el ámbito de la terapia celular y la medicina regenerativa» (Exposición de motivos).

5 Stojkovic M, Stojkovic P, Leary C et al. «Derivation of a human blastocyst after heterologous nuclear transfer to donated oocytes». *RBM Online*; 11:226-231, 2005.

6 Según la Ley, «la donación y la utilización de muestras biológicas humanas será gratuita, cualquiera que sea su origen específico, sin que en ningún caso las compensaciones que se prevén en esta Ley puedan comportar un carácter lucrativo o comercial» (Artículo 7). Sin perjuicio de lo establecido en el artículo 7, podrá fijarse una compensación económica por las molestias físicas, los gastos y otros inconvenientes que puedan derivarse de la toma de la muestra (Artículo 58).

año sabático, Miodrag Stojkovic, utiliza embriones humanos muertos para derivar de ellos células embrionarias y publica sus resultados online⁷, con dirección en su antiguo centro de investigación en Newcastle, y además en el Centro de Investigación Príncipe Felipe de Valencia.

Un poco antes, en el año 2004, había publicado que los embriones deberían ser de mejor calidad que los sobrantes de la FIV y que había que conseguir su desarrollo en el laboratorio más tiempo a fin de que las células que les constituyen, estuvieran más maduras y suficientemente «domesticadas»⁸. Esto es importante: la atención se les ha desplazado de embriones vivos, incluso «sobrantes» de la FIV, que han demostrado no ser válidos para obtener células estables hacia fetos humanos de varias semanas, o meses.

Por su parte, los investigadores de la ACT decidieron que la transferencia nuclear es una técnica con futuro, ya que sólo las células embrionarias derivadas de un clon del paciente serían adecuadas

para la terapia regenerativa. El problema técnico de la ACT para desarrollar líneas celulares con dotación genética elegida es también conseguir óvulos de calidad y en cantidad⁹. De forma similar a lo

9 Cfr. Cyranoski, D. «No end in sight for stem-cell odyssey». *Nature* 439 (9), 658-659, February 2006. ACT fue fundada en 1994 especializada en la biología reproductiva de ganadería. Sin embargo la compañía giró hacia la reproducción humana en 1999, cuando se unió Michael West, fundador de la compañía biotecnológica Geron, como jefe ejecutivo y Robert Lanza, especialista en Medicina regenerativa como investigador jefe. ACT está implicada en el desarrollo de proyectos de células embrionarias humanas, procedentes de clones con DNA de un paciente, lo que se denomina clonación terapéutica. En el 2001, Cibelli publica la obtención de un embrión humano clónico de seis células (Cibelli JB, Kiessling AA, Cunniff K, Richards C, Lanza RP, West MD. «Somatic cell nuclear transfer in humans: Pronuclear and early embryonic development». *Journal of Regenerative Medicine* 2, 25-32, 2001) que Lanza califica de datos previos a la obtención de células embrionarias con dotación genética de paciente. En Octubre de 2003, Lanza declara que han conseguido en la ACT un enorme progreso, modificando las condiciones de cultivo; tienen clones aunque aún no han conseguido las células de ellos. A final del año 2003 la compañía conoce que Woo Suk Hwang de la Universidad de Seúl ha anunciado haber conseguido ambas cosas, el clon y la línea celular. Lanza reta a Hwang en una entrevista de la United Press International publicada el 12 de febrero de 2004 a comprobar los resultados. El trabajo es publicado en el 2004 con la firma de Cibelli incorporada (Hwang, W.S., Ryu, Y.J., Park, J.H., Park, E.S., Lee, E.G., Koo, J.M., Jeon, H.Y., Lee, B.C., Kang, S.K., Kim, S.J., Ahn, C., Hwang, J.H., Park, K.Y., Cibelli, J.B., Moon, S.Y. «Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst». *Science* 303, 1669-1674, 2004). La rivalidad con Hwang sitúa a la ACT en el declive y Lanza se lamenta de la carencia de suministro de óvulos y de que cuesten miles de dólares. En el 2006 y tras el escándalo de Hwang, ACT continúa apostando a que conseguirán clonar un embrión humano partiendo de un número reducido de óvulos y Lanza se lamenta de que el fraude haya repercutido negativamente en la atracción de fondos hacia su compañía.

7 Zhang, X., Stojkovic, P., Przyborski, S., Cooke, M., Majlinda. L. A. «Derivation of human embryonic stem cells from developing and arrested embryos». *Stem Cells Express*, published online; doi: 10.1634/stemcells. 2006-0377. September 21, 2006.

8 Stojkovic M, Lako M, Stojkovic P et al. «Derivation of human embryonic stem cells from Day 8 blastocysts recovered after three-step in vitro culture». *Stem Cells*; 22:790-797, 2004. Stojkovic, S., Lako, M., Strachan, T., Murdoch, A. «Derivation, growth and applications of human embryonic stem cells». *Reproduction* 128, 259-267, 2004; Fong, C.Y., Sathananthan, H., Wong, P.C., Bongso, A. «Nine-day-old human embryo cultured in vitro: a clue to the origins of embryonic stem cells». *Reproductive BioMedicine Online* 9, 321-325, 2004.

comentado del científico de Newcastle, también Robert Lanza, director de la ACT, propone curiosas alternativas a la destrucción de embriones para obtener las células embrionarias: derivarlas de una biopsia de embriones generados in vitro y que hayan alcanzado el estado de 8 células¹⁰. Un planteamiento utópico, no sólo, como era de esperar, a ninguno de los embriones humanos usados en sus experimentos se les dio la oportunidad de sobrevivir, sino que además en virtud de qué los progenitores van a consentir que se practique una intervención que puede producirle lesiones sin que la retirada de esas células supongan ningún tipo de beneficio al hijo.

Por otra parte, Lanza¹¹ había publicado que en el ratón es posible regenerar tejido cardiaco con células procedentes de una transferencia nuclear, como una aproximación a la terapia humana. Los clones deberán desarrollarse hasta alcanzar la ventana de tiempo en que se empiezan a organizar los órganos y tejidos, como se había mostrado que ocurre en el desarro-

llo fetal del cerdo¹². En efecto, la estrategia que ACT propone en el 2004 para generar un suministro ilimitado de células histocompatibles para el tratamiento de la enfermedad cardiaca, es el uso de células fetales. Obtuvieron células fetales de hígado de un embrión clónico de ratón y las inyectaron en el corazón previamente infartado para inducir la reconstrucción del tejido. Los miocitos generados por transdiferenciación reemplazaron en un 38% a los destruidos. La reprogramación de las células para dar el ratón clónico no es trasladable a humanos.

Esto hace que el feto humano se sitúe en el punto de mira de la investigación embrionaria, como material biológico de partida.

Es obvio que una investigación que requiere usar como material de partida óvulos humanos, embriones o fetos, tiene necesariamente que demostrar que está justificada. Debe haber datos en modelos animales convincentes acerca de un potencial biomédico y demostrarse previamente que carece de alternativas que no requieran un material de partida que suponga, como es el caso, riesgo y molestias para las mujeres donantes y embriones y fetos, incluso en el caso de que estuvieran muertos.

Es preciso además revisar qué conocimientos ha aportado la investigación con

10 Klimanskaya, I., Chung, Y., Becker, S. Lu, Shi-Jiang, Lanza, R. «Human embryonic stem cell lines derived from single blastomeres». *Nature* doi: 10.1038/nature05142, 2007; Chung, Y. *et al.* «Embryonic and extraembryonic stem cell lines derived from single mouse blastomeres». *Nature* 439, 216-219, 2006; cfr. Weissman IL. «Politic stem cells». *Nature* 439, 145-147; 2006.

11 Lanza, R., Moore M.A., Wakayama, T., Perry, A.C., Shieh, J-H., Hendriks, Leri, A., Chimenti, S., Monsen, A., Nurzynska, D., West M.D., Kajstura, D., Anversa, P. «Transplantation Regeneration of the Infarcted Heart with Stem Cells Derived by Nuclear» *Circ. Res.*, 94, 820-827. Online Feb 5, 2004; DOI: 10.1161/01. RES.0000120863.53562.

12 Eventov-Friedman, S., Katchman, H., Shezen, E., Aronovich, A., Tchorsh, D., Dekel, B., Freud, E., Reisner, Y. «Embryonic pig liver, pancreas, and lung as a source for transplantation: Optimal organogenesis without teratoma depends on distinct time windows». *PNAS* 102, 2928-2933, 2005.

<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0500177102>.

embriones y con células embrionarias y de tipo embrionario y qué conocimientos valiosos, como todo conocimiento verdadero, pueden conseguirse con material biológico que no conlleve ni destrucción de embriones humanos, ni mujeres donantes de óvulos. El debate debe abrirse con rigor. Para ello, es esencial hoy conseguir liberar la ciencia biomédica de los poderes políticos, legislativos y económicos en la búsqueda de auténticas alternativas a que el material de partida de una investigación, que es de sumo interés, sean embriones, fetos y óvulos humanos.

2. La ciencia no sabe aún generar tejidos de adulto desde células embrionarias

Las dificultades técnicas con las células embrionarias han sido enormes¹³. Los tres problemas planteados desde el inicio están aún por resolver. En primer lugar no ha sido posible controlar el potencial tumorigénico. Las predicciones optimistas de que los teratocarcinomas sólo los dan las células embrionarias indiferenciadas, es sólo una predicción ambigua y temeraria. Diversos artículos han puesto de manifiesto la formación de tumores en animales tratados con células ya diferenciadas derivadas de las embrionarias; y el 70% de los animales han muerto por tumores que no son metastásicos. Las células maduras derivadas de las embrionarias los producen e incluso se des-diferencian de forma descontrolada al

ser transplantadas a un nicho de adulto. Más alarmante aún es que las células embrionarias tanto mantenidas en el laboratorio como incorporadas al paciente pueden convertirse en malignas, ya que de forma espontánea acumulan anormalidades genéticas asociadas al carcinoma embrionario, altamente metastásico.

En segundo lugar, no hay datos convincentes de que estas células se diferencien a los tipos adultos normales y estables. No hay datos suficientes de que sean totalmente pluripotentes. Son capaces de participar en el desarrollo normal y en todos los tejidos del cuerpo cuando se introducen en un embrión, lo cual también lo hace la célula cancerosa del carcinoma embrionario. Es decir, ambos tipos celulares son capaces de contribuir al desarrollo de los diferentes tejidos por responder adecuadamente a señales que regulan el desarrollo embrionario, *in vivo*. Lo cual es muy diferente de que puedan suplir a las células dañadas de un no-embrión como es el adulto o el recién nacido.

Hace 5 años algunos científicos creían que averiguarían el tipo de factores moleculares requeridos para replicar en el laboratorio el misterio de la vida íntima del embrión y de esta forma se produciría *in vitro* cualquier tejido. Cientos de artículos decían haber conseguido una línea celular desde células embrionarias. Sin embargo, una cosa es una línea celular con algunas de las propiedades de un célula madura y otra una célula normal de adulto que pueda ser colocada en el organismo de un individuo y contribuya al normal funcionamiento del órgano. Si ya es problemático que sobreviva (las células derivadas de

13 López-Moratalla, N. «Racionalidad de la investigación con células troncales embrionarias». *Cuad. Bioét.* XVII, 327-347, 2006/3^a.

las embrionarias mueren al poco tiempo de transferirlas al órgano de adulto) mucho más lo es que reemplace la función. No hay datos de beneficio terapéutico ya que en los modelos animales sólo se logra beneficio por un tiempo modesto y las investigaciones muestran que no son las células embrionarias las que producen el beneficio, sino los factores que segrega el organismo con su llegada.

En tercer lugar, se requiere asegurar una supresión inmunológica que evite el rechazo. Se plantearon varias soluciones al problema de incompatibilidad y todas ellas han sido problemáticas: a) generar grandes bancos de líneas celulares de donde elegir las más compatibles, pero las líneas celulares se transforman con el tiempo. b) la ingeniería genética, que no ha dado resultados y, c) como la mejor solución al problema, clonar embriones humanos con material genético del paciente para que tuvieran su propio perfil.

La investigación sobre la inducción de tolerancia inmunológica (esto es, que el organismo pueda reconocer algo como extraño, pero sin señal de peligro) se ha desarrollado en los mismos años. Denise Faustman¹⁴ inició este estudio como medio potente para las enfermedades autoinmunes; persigue, justamente, que

los pacientes de diabetes del tipo 1 no destruyan su páncreas, ni los islotes pancreáticos ajenos o las células productoras de insulina propias o ajenas sin lo que no hay terapia regenerativa posible frente a enfermedades en que el organismo reconoce lo propio como peligroso, pierde la tolerancia y su sistema inmunológico se vuelve contra un órgano o sistema propio. Recientemente¹⁵ se ha dado un gran paso para lograr inducir tolerancia ante un trasplante renal, eliminando linfocitos T con memoria y transfiriendo al mismo tiempo que el órgano células de la médula ósea.

Es decir, en las enfermedades autoinmunes antes de reemplazar las células destruidas por otras autólogas o heterólogas, es preciso tratar la causa de la destrucción (inducir la tolerancia) y además conservar las células troncales del tejido. En este sentido, está en marcha un estudio encaminado a conservar las células beta-pancreáticas de pacientes de diabetes mellitus tipo 1 mediante un trasplante autólogo, no mieloablatoivo, de células madre hematopoyéticas (Voltairelli, J.C. JAMA 2007; 297, 1568-1576); los enfermos diabéticos han estado hasta 36 meses sin necesidad de insulina, aunque es insuficiente esta terapia para una eficacia a largo plazo.

14 Ryu S, Kodama S, Ryu K, Schoenfeld DA and Faustman DL «Reversal of established autoimmune diabetes by restoration of endogenous beta cell function». *J. Clin. Invest.* 108, 63-72, 2001; Faustman DL «Reversal of established autoimmune diabetes by in situ beta-cell regeneration». *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 961, 45-47, 2002; Kodama S, Kühtreiber W, Fujimura S, Dale EA, Faustman DL «Islet regeneration During the reversal of autoimmune diabetes in NOD Mice». *Science* 302, 1223-1227, 2003.

15 Koyamaa, I., Nadazdina, O. Boskovic, T. Ochiaia, S. Smith R. N., Sykes, M. Sogawaa, H. Murakamia, T. Stromd, T. B. Colvinb, R. B. Sachsc, D. H. Benichoua, G. Cosimia A. B. Kawaia T. «Depletion of CD8 Memory T Cells for Induction of Tolerance of a Previously Transplanted Kidney Allograft». *American Journal of Transplantation* 7: 1-7 doi: 10.1111/j.1600-6143.2006.01703, 2007.

El rechazo inmunológico, la formación de tumores y los mecanismos íntimos del desarrollo embrionario son un reto para los próximos años.

3. La ciencia no sabe aún con precisión cómo cumplen las células troncales de adulto su función regenerativa propia

En los mismos años las células troncales de adulto daban sus primeros pasos en la Medicina regenerativa. A lo largo del año 2006 se han dado importantes avances en el conocimiento de los mecanismos íntimos que regulan el funcionamiento de los diferentes tipos de células troncales y de las células *madre* de diversos tumores. Se va conociendo qué tipo de nicho necesitan para cumplir su función, qué genes se expresan y cómo se regulan y, por tanto, qué les permite por una parte regenerar el tejido y por otra qué alteración las transforma en inicio de un cáncer. Conocimientos claves, aunque aún incipientes, para el avance de las terapias regenerativas.

La terapia regenerativa se basa en este potencial natural de las diferentes células troncales para sustituir a las células maduras destruidas por enfermedades degenerativas, cáncer o eliminación accidental. La mayoría de los tejidos del organismo contienen poblaciones heterogéneas de células con una gama de diferenciación, o maduración, que abarca desde células madre multipotentes capaces de diferenciarse a una variedad de tipos, células progenitoras y células diferenciadas a término. Las células madre de los tejidos son reservas de células mantenidas jóvenes, o inmaduras, en su nicho específico, y capa-

ces de madurar en condiciones apropiadas al recibir señales específicas.

Se ha afirmado, con frecuencia, que existen muchas diferencias entre las células madre adultas y las embrionarias, para su manejo en la regeneración de tejidos. A favor de las embrionarias se repite, de una parte su gran tendencia a multiplicarse, lo que las hace formadoras de tumores. Esto les da incapacidad para uso en terapias pero las hace de interés para algunos estudios del proceso de oncogénesis. Por otra, se les adjudica un carácter totipotencial; esto es, capacidad de diferenciarse en cualquier tipo celular y teóricamente capaces de madurar y convertirse en células de cualquier tipo. Por el contrario, las adultas son pluripotenciales, es decir, se diferencian a células de diversos tejidos pero no en todos; lo cual es positivo en terapias ya que existen diversas fuentes que ofrecen así la posibilidad de usar la más adecuada en cada caso; por otra parte, la cantidad de células que se obtiene a partir de las células troncales adultas es mucho menor, ya que tienen un cierto número definido de divisiones, en comparación con las que ofrecen las embrionarias. Ahora bien, se ha comprobado que puede aumentarse su carácter proliferativo, rejuvenecerlas, de forma controlada.

Conocer a fondo la programación y desprogramación celular es el punto de confluencia de los trabajos con unos y otros tipos de células troncales.

Es muy abundante, pero aún muy incompleto, el conocimiento de los delicados, y perfectamente regulados, procesos por los que se construyen los tejidos, órganos y sistemas en el desarrollo, así como los

procesos por los que las células inmaduras en reserva maduran en la vida postnatal y adulta. Se conoce que cada tipo celular requiere un nicho específico que guía su maduración y le aporta las señales necesarias para ello¹⁶. Un nicho es una localización anatómica que regula cómo la célula troncal participa en la generación del tejido, el mantenimiento del mismo y su reparación. El nicho protege a la célula tanto de su destrucción, como de una proliferación descontrolada por transformación que la convertiría en célula madre de un proceso tumoral. Es así, una unidad básica de la fisiología del tejido que integra las señales y equilibra la respuesta de las células troncales a las necesidades del organismo. Sólo conociendo el funcionamiento y las patologías del nicho podrá alcanzar la medicina regenerativa la madurez necesaria para los diseños terapéuticos oportunos para cada una de las lesiones degenerativas o alteraciones tumorales.

Esto no significa que toda la clínica actual con células troncales de adulto tenga que esperar para ir avanzando a que se haya entendido todo lo que ocurre *in vivo*. Significa que no se puede dejar atrás la investigación básica. Hace falta mucha investigación básica sobre el desarrollo y la construcción de los órganos, tejidos y sistemas. El avance es necesariamente lento ya que requerirá conocer el proceso de maduración celular con la suficiente precisión para llegar a saber qué célula,

16 Scadden D.T. «The stem-cell niche as an entity of action». *Nature* 441, 1075-1078. 29 June 2006 | doi: 10.1038/nature04957; Moore, K.A., Lemischka, I.R. «Stem Cells and Their Niches». *Science* 311, 1880-1885, 2006.

en qué grado de maduración y qué entorno, es el adecuado para la medicina regenerativa que aporte soluciones a cada enfermedad o situación de destrucción celular. Los ensayos clínicos tienen que cumplir los requisitos de rigor en un campo nuevo.

1) El organismo contiene diversos tipos de células troncales. Existen reservas, como la médula ósea que contiene progenitoras, multipotentes y un tipo de célula madre pluripotente, la MACP, capaz de madurar a los diversos tipos celulares del organismo¹⁷. En proporciones mínimas estas células están presentes en el torrente circulatorio, y, obviamente, la sangre del recién nacido que puede recogerse del cordón umbilical contiene estas células en mayor proporción que en la sangre del adulto¹⁸. Dos conocimientos acerca de ellas son clave en la terapia regenerativa. Uno de ellos, que circulan y se quedan en órganos y tejidos, como cerebro y corazón, contribuyendo a su regeneración¹⁹ y otro, que pueden ser movilizadas desde la médula ósea a fin de aumentar el número de las que circulan²⁰.

17 Jiang, Y. *et al.* «Rare multipotential or pluripotential stem cells have also been isolated from cultured bone marrow cells». *Nature* 418, 41-49, 2002.

18 Kogler, G. *et al.* «A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential». *J. Exp. Med.* 200, 123-135, 2004.

19 Kanatsu-Shinohara, M. *et al.* «Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis». *Cell* 119, 1001-1012, 2004.

20 Cfr. Cancelas J.A., Williams D.A. «Stem cell mobilization by beta2-agonists». *Nature Medicine* 12, 278-279, 2006.

Además, se han encontrado células pluripotenciales en los testículos del recién nacido²¹ y adulto²².

Las leyes españolas de Reproducción Humana Asistida y de Investigación Biomédica (aprobada el 28 marzo de 2007) despenalizan el uso de fetos procedentes de abortos y del aborto selectivo (conocido como reducción embrionaria) asociado a la práctica de las técnicas de reproducción asistida; y se permite la producción de fetos clónicos. Una vez más hay alternativas a las necesidades de material biológico humano para investigación que no supongan producción y destrucción de embriones: se han aislado células madre fetales desde las muestras sobrantes del líquido amniótico obtenidas para realizar el diagnóstico prenatal.

En efecto, se han aislado²³ células madre multipotentes capaces de diferenciarse en múltiples linajes de las tres capas germinales (células adipogénicas, osteogénicas, miogénicas, endoteliales, neuronales y hepáticas), del líquido amniótico (AFS) de ratones y humanos. Expresan los marcadores de la pluripotencialidad de células embrionarias (Oct4 y SSEA4), y expresan marcadores

de células mesenquimales y neurales; se expanden sin necesidad de lecho al doble de la cantidad inicial en 36 horas y no son tumorígenas. Son «intermedias en madurez y juventud» entre las embrionarias y las de adulto. Potencialmente, células AFS con una amplia representación de los tipos de histocompatibilidad podrían conservarse en bancos y ser útiles para trasplantes alogénicos en medicina regenerativa; al ser indiferenciadas y estar asociadas a los tejidos maternos, es posible incluso que induzcan tolerancia y no sean rechazadas.

2) Las lesiones celulares son muy diversas. Hay lesiones que se remedian transfiriendo al lugar afectado un tipo celular que aporta los materiales necesarios, en el sitio adecuado. Es el caso, por ejemplo, del uso de las células troncales autólogas de la médula ósea, multiplicadas en un Biorreactor e incorporadas en soportes adecuados, para tratar fracturas no consolidadas, o pseudoartrosis hipotrófica²⁴. Y hay procesos de diferenciación celular bien conocidos, como el de hematopoyesis, que permite autotrasplantes de células en enfermedades de la sangre²⁵, como las leucemias²⁶. Se conoce, además,

21 Kanatsu-Shinohara, M. *et al.* «Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis». *Cell* 119, 1001-1012, 2004.

22 Guan, K. *et al.* «Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis». *Nature* 440, 1199-1203, 2006.

23 De Coppi, P., Bartsch, G., Siddiqui, M.M., Xu, T., Santos, C. C., Perin, L., Mostoslavsky, G., Serre, A.C., Snyder, E.Y., Yoo, J.J., Furth, M.E., Soker, S., Atala, A. «Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy». *Nature Biotechnology*, 25, 1 January 2007.

24 Cfr. *Diario Médico* 10/01/2007. Las células progenitoras óseas se multiplicado unas 60 veces sin diferenciarse; es decir, sin perder sus características progenitoras. Este producto celular constituye el bioinjerto que contiene fosfatotricálcico-beta y fibrina autóloga.

25 Bordignon C. «Stem-cell therapies for blood diseases». *Nature* 441, 29 June 2006.

26 Jin, L., Hope, K. J., Zhai, Q., Smadja-Joffe, F. & Dick, J. E. «Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells». *Nature Medicine* 12, 1167 - 1174, 2006 (doi:10.1038/nm1483); Krause,

que es una célula troncal capaz de regenerar la sangre, y qué es una célula madre tumoral de la leucemia²⁷.

3) Es obvio que según sea el tejido a reparar y el tipo de lesión, el proceso regenerativo será más o menos complejo. Hay tejidos, como por ejemplo el de la glándula mamaria, que se regeneran a partir de un solo tipo celular²⁸. Otros, como el del cerebro, tienen múltiples sistemas de diferenciación específica y diversificada²⁹, lo que hace difícil cualquier tipo de reemplazamiento de neuronas. Las células del cerebro han de migrar al sitio que les corresponde; en abril de 2007 Harald Neumann de la Universidad de Bonn manipuló células precursoras de la médula ósea para que expresen

una proteína (TREM2) que les permite migrar. Estas células han corregido la lesión en ratones de un modelo animal de la esclerosis múltiple (PlobS Med 2007, 4: e124).

En general los tejidos requieren sus propias células precursoras para regenerar lesiones. Así, para regenerar la lesión producida en el corazón por el infarto de miocardio se han empleado precursores del propio enfermo como los mioblastos, células de la médula ósea que aportan factores esenciales para el desarrollo de cardiomiocitos y se plantea también el uso de células troncales de la grasa. Ahora bien, resolver la lesión es una cuestión y otra la completa restauración de la función del órgano.

El funcionamiento del corazón es mucho más delicado que el de otros músculos. Por ello parece más asequible corregir la distrofia muscular a pesar de tener un origen genético que asegurar la regeneración cardiaca tras un infarto. El equipo de Giulio Cossu³⁰ ha descrito un modelo en perro de tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne; en esta enfermedad está afectado el gen que codifica la proteína muscular distrofina. Corrigieron las células de la médula ósea autólogas almacenadas en pequeños vasos, los mesoangioblastos, insertándoles

D. S., Lazarides, K., von Andrian, U. H. & Van Etten, R. A. «Requirement for CD44 in homing and engraftment of BCR-ABL-expressing leukemic stem cells». *Nature Medicine* 12, 1175 – 1180, 2006 (doi: 10.1038/nm1489).

27 Jin, L., Hope, K. J., Zhai, Q., Smadja-Joffe, F. & Dick, J. E. «Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells». *Nature Medicine* 12, 1167 – 1174, 2006 (doi:10.1038/nm1483); Krause, D. S., Lazarides, K., von Andrian, U. H. & Van Etten, R. A. «Requirement for CD44 in homing and engraftment of BCR-ABL-expressing leukemic stem cells». *Nature Medicine* 12, 1175 – 1180, 2006 (doi: 10.1038/nm1489); Huntly, B. J. P., Gilliland D. G. «Leukaemia stem cells and the evolution of cancer-stem-cell research». *Nature Reviews Cancer* 5, 311- 321, April 2005.

28 Shackleton, M., Vaillant, F., Simpson, K.J., Stingl, J., Smyth, G.S., Asselin-Labat, M.L., Li Wu, Lindeman, G.J. Visvader, J.E. «Generation of a functional mammary gland from a single stem cell». *Nature* 439 (5), 84-88, January 2006.

29 Alysson R. Muotri, A.R., Gage, F.H. «Generation of neuronal variability and complexity». *Nature* 441 29 June 2006.

30 Sampaolesi, M., Blot, S., D'Antona, G., Granger, N. Tonlorenzi, R., Innocenzi, A., Mogno P., Thibaud, J-L., Galvez, B. G., Barthe'le'my B., Perani, L. Mantero, S. Guttinger, M., Pansarasa, O., Rinaldi, Ch., Cusella De Angelis, M. G., Torrente, Y., Bordignon, C., Bottinelli, R., Cossu1, G. «Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs». *Nature* Doi: 10.1038/nature05282, 2007.

el gen y después las infundieron en las arterias. Los mesoangioblastos corregidos pasaron a través de los vasos a los diversos músculos y los regeneraron con sorprendente eficacia.

4. Las células troncales de adulto pueden ser rejuvenecidas a células pluripotenciales

Las células troncales de adulto pueden ser inducidas a proliferar para, en definitiva, aumentar la cantidad de la reserva regeneradora. Y pueden ser situadas en el equivalente a las células presentes en la constitución del órgano fetal, para investigación.

Existen alternativas para rejuvenecer la célula de adulto; se trabaja en dos estrategias en este sentido: la fusión celular y la reprogramación inducida por extractos celulares. La primera no ha dado resultados por ahora. Por el contrario, la exposición a combinaciones específicas de factores de crecimiento ha permitido que células de adulto den lugar a células troncales de tipo embrionario³¹; Shinya Yamanaka y Kazutoshi Takahashi han conseguido la reprogramación de fibroblastos de la piel de ratón a células pluripotentes semejantes a las embrionarias, mediante la adición de unos pocos factores definidos; en este caso los productos de los genes *Oct4*, *Sox2*, *c-Myc*, y *Klf4*. Estas células expresan todos los marca-

dores de células pluripotenciales, forman teratomas después de su implantación y dan animales quimeras transmitiéndose a la línea germinal. Es decir, son células de adulto que se rejuvenecen a tipo embrionario y pueden ser útiles para el estudio de enfermedades genéticas en diversas líneas. Sin embargo, no serán útiles terapéuticamente como cualquier otra célula reprogramada, puesto que pueden tener desequilibrada la impronta genética³².

En resumen, es más probable, más seguro y más racional, conseguir bancos de células «a la carta» y líneas celulares desde el adulto que desde el embrión normal o clónico, y del feto abortado, tanto para un uso terapéutico como para uso en investigación biomédica. La sangre del cordón umbilical y el líquido amniótico aportan células troncales jóvenes. Al mismo tiempo el cultivo en biorreactores permite el crecimiento de las siempre escasas células de las reservas del adulto y es ahora factible inducir su crecimiento con factores apropiados.

5. Utopía de la «clonación terapéutica»

Con la «clonación terapéutica» se busca, en definitiva, inducir la conversión de una célula diferenciada en una pluripotencial embrionaria mediante la tecnología de transferencia del núcleo de la célula diferenciada a un óvulo desnucleado, es decir, lo que se denomina clonación. Incluso algunos han apuntado

31 Takahashi, K., Yamanaka, S. «Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors». *Cell* 126, 663-676, 2006.

32 Viktor Janzen, V., Scadden, D.T. «Good, bad and reformable». *Nature* 441, 417-418, 2006.

la activación de un óvulo, partenogénesis, que reprogramme el núcleo del óvulo³³. Sin embargo, en ambos casos se requieren mujeres jóvenes donantes de óvulos. Con el fin de poder no usar oocitos humanos se ha tratado de transferir núcleos de células humanas a oocitos de animales sin mucho éxito³⁴, probablemente a causa de la incompatibilidad entre el DNA mitocondrial del oocito y el DNA nuclear de la célula donante³⁵.

La cuestión de la obtención de óvulos humanos presenta graves inconvenientes, por el tratamiento a que someten a las donantes y el riesgo del síndrome de hiperestimulación ovárica (cfr. los datos

aportados en la cita 2). Sin embargo, la Ley de Investigación Biomédica no contempla la naturaleza y dificultades de la donación de oocitos, ya que el tratamiento para provocar la multiovulación no es inocuo para la mujer donante³⁶, a diferencia de la donación de espermatozoides por el varón. En realidad la obtención de óvulos entraría en el Título II, capítulo I que trata de las «Investigaciones que implican procedimientos invasivos en seres humanos», entre cuyos requisitos establece lo siguiente: «La investigación en seres humanos sólo podrá llevarse a cabo en ausencia de una alternativa de eficacia comparable. La investigación no deberá implicar para el ser humano riesgos y molestias desproporcionados en relación con los beneficios potenciales que se puedan obtener» (Artículo 14.1).

Por otra parte la clonación por transferencia nuclear y reprogramación del genoma en el interior del oocito dista mucho de ser una técnica lograda. Si nos preguntamos ¿Qué conocemos, a inicios del 2007, acerca de la clonación, es decir de reprogramar el núcleo de una célula somática en un óvulo para que se inicie el desarrollo de un nuevo individuo^{37?}, hay que responder que sabemos que:

1. Los cambios que sufre la dotación genética de un individuo en la

33 Algunos animales como insectos y la estrella de mar se reproducen por activación de oocitos sin fecundación, lo que no ocurre de forma natural con mamíferos. Tiziana Brevini y Fulvio Gandolfi de la Universidad de Milán han conseguido activar 104 óvulos humanos donados por mujeres de una clínica de fecundación in vitro, y obtener de ellos dos líneas celulares de tipo embrionario. cfr. Marchant, J. «Human eggs supply 'ethical' stem cells». *Nature*, 441, 2006, 1038, 2006.

34 Ya 1998 la compañía ACT anunció haber usado oocitos bovinos para reprogramar células humanas y desarrollar así líneas de células embrionarias; descartaron la línea sin llegar a caracterizarla (*Science*, 20 November 1998, p. 1390). Jose Cibelli invirtió tres años persiguiendo una transferencia nuclear humana en bovino sin éxito. Más tarde, en el 2003, Hui Zhen Sheng de la Shanghai Second Medical University publicó en la revista *China Cell Research* que había obtenido células troncales embrionarias humanas rejuveneciéndolas en oocitos de conejo (Chen, Y. *et al.* «Embryonic stem cells generated by nuclear transfer of human somatic nuclei into rabbit oocytes». *Cell Res.* 13, 251–263 2003. Cfr. también: Vogel G. «Team Claims Success with Cow-Mouse Nuclear Transfer». *Science*, 313 14 July 2006 155.

35 Dey, R., Barrientos, A. & Moraes, C. T. «Functional constraints of nuclear-mitochondrial DNA interactions in xenomitochondrial rodent cell lines». *J. Biol. Chem.* 275, 31520–31527, 2000.

36 Cfr. Entre otros: Magnus D., Cho M.K. «Issues in Oocyte Donation for Stem Cell Research». *Science*, 308, (5729): 1747-1748, 17 June 2005 DOI: 10.1126/science.1114454.

37 Cfr. Hochedlinger, K., Jaenisch R. «Nuclear reprogramming and pluripotency» *Nature*, 441, 1061-1067 | doi: 10.1038/ Nature 04955, 2006.

construcción del organismo (cambios epigenéticos), implicados en la diferenciación terminal y permanente de los diversos tipos celulares pueden ser revertidos artificialmente³⁸; esto es, artificialmente se puede «reprogramar» la información genética.

2. De forma natural este tipo de cambios ocurre en el cáncer y conducen a la célula a un crecimiento descontrolado. Hasta el punto de que ha sido mucho más fácil clonar, o reprogramar, una célula tumoral como el melanoma o de tumor cerebral, que una célula somática madura³⁹; y también es más fácil reprogramar el núcleo de una célula inmadura como es la troncal o madre⁴⁰. Esto se debe a que las células de adulto conservan la programación genética que

las condujo a diferenciarse en la construcción propia del organismo del individuo donante⁴¹.

3. La generación de animales por clonación es sumamente ineficiente, la mayoría mueren antes de la implantación y tienen graves anomalías⁴². Las alteraciones de los clones se relacionan directamente con el estado de regulación de la expresión de los genes en la célula donante del núcleo⁴³.
4. La reprogramación ocurre en las primeras fases del desarrollo. Las alteraciones se ponen de manifiesto fundamentalmente durante el desarrollo fetal. Por ello, es más fácil obtener células embrionarias que individuos. Es más, las células embrionarias obtenidas de blastocistos clónicos (NT-ES) son muy

38 Wakayama, T., Perry, A. C., Zuccotti, M., Johnson, K. R. & Yanagimachi, R. «Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei». *Nature* 394: 369–374, 1998; Wilmut, I., Schnieke, A. E., McWhir, J., Kind, A. J. & Campbell, K. H. «Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells». *Nature* 385, 810–813, 1997.

39 Hochedlinger, K. *et al.* «Reprogramming of a melanoma genome by nuclear transplantation» *Genes Dev.* 18, 1875–1885, 2004; Li, L., Connelly, M. C., Wetmore, C., Curran, T. & Morgan, J. I. «Mouse embryos cloned from brain tumours». *Cancer Res.* 63, 2733–2736, 2003.

40 Rideout, W. M. *et al.* «Generation of mice from wild-type and targeted ES cells by nuclear cloning». *Nature Genet.* 24, 109–110, 2000; Cheong, H. T., Takahashi, Y. & Kanagawa, H. «Birth of mice after transplantation of early cell cycle- stage embryonic nuclei into enucleated oocytes». *Biol. Reprod.* 48, 958–963, 1993.

41 Billewicz, R. *et al.* «Reprogramming efficiency following somatic cell nuclear transfer is influenced by the differentiation and methylation state of the donor nucleus». *Stem Cells*, published online 18 May 2006 (doi:10.1634/stemcells.2006-0050)

42 Ogonuki, N. *et al.* «Early death of mice cloned from somatic cells». *Nature Genet.* 30, 253–254, 2002. Tamashiro, K. L. *et al.* «Cloned mice have an obese phenotype not transmitted to their offspring». *Nature Med.* 8, 262–267, 2002.

43 Ng, R. K. & Gurdon, J. B. «Epigenetic memory of active gene transcription is inherited through somatic cell nuclear transfer» *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 102, 1957–1962, 2005; Kohda, T. *et al.* «Variation in gene expression and aberrantly regulated chromosome regions in cloned mice». *Biol. Reprod.* 73, 1302–1311, 2005; Humpherys, D. *et al.* «Abnormal gene expression in cloned mice derived from embryonic stem cell and cumulus cell nuclei». *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 99, 12889–12894, 2002.

- similares a las derivadas de blastocistos normales, ES, obtenidos por fecundación *in vitro*⁴⁴.
5. Las líneas celulares derivadas de NT-ES crecen y forman tumores cuando se inyectan en los animales inmunosuprimidos al igual que las ES⁴⁵.
 6. Los primates presentan una especial dificultad para la reprogramación⁴⁶, debido a la peculiar formación del huso mitótico. Por ello sólo se ha logrado producir primates, en concreto el rhesus, a partir del núcleo de células embrionarias⁴⁷, pero no de células somáticas.

Por tanto, los conocimientos actuales sobre la clonación por transferencia nuclear ponen de manifiesto la utopía de la clonación terapéutica. Supongamos que en el caso humano no se consigue crear por transferencia nuclear un verdadero

embrión y que tenemos garantías de que el resultado de esta técnica es un «pseudoembrión clónico», un cuerpo embrioide o como se quiera designar); supongamos que se logre *in vitro* desarrollar ese conjunto celular de forma que se generen estructuras orgánicas que madurasen correctamente las células de tipo embrionario (NT-ES) ¿Qué se requeriría para que las células de un paciente pudieran reprogramarse, confeccionando un pseudoembrión clónico, del cual conseguir células maduras específicas para transplantárselas y que sustituyesen a las destruidas por la enfermedad?

En primer lugar, crear un clon (pseudoembrión clónico) para cada paciente. Y en el supuesto de que algún día se pudiera hacer con un número bajo de óvulos, se requeriría al menos una mujer donante para cada tratamiento.

En segundo lugar, para usar las células en tratamientos, habría que tener la seguridad de que la reprogramación no ha afectado a la expresión de los genes. Para ello se precisaría un control de calidad para cada tipo celular desarrollado desde la célula reprogramada y diferenciada de cada paciente. La limitación de no tener un test para determinar la normalidad de las células del clon llevaría a la necesidad de desarrollar los pseudoembriones lo suficiente para analizar sus tejidos. Supondría implantar varios clones en úteros animales y extraerlos a diferentes tiempos para observar su desarrollo y predecir así qué tejidos podrían ser los destinados al trasplante.

Demasiado grotesco para la medicina un método terapéutico que aporta como

44 Brambrink, T., Hochedlinger, K., Bell, G. & Jaenisch, R. «ES cells derived from cloned and fertilized blastocysts are transcriptionally and functionally indistinguishable». *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 103, 933–938, 2006.

45 Munsie, M. J. *et al.* «Isolation of pluripotent embryonic stem cells from reprogrammed adult mouse somatic cell nuclei». *Curr. Biol.* 10, 989–992, 2000.

46 Simerly, C. *et al.* «Molecular correlates of primate nuclear transfer failures». *Science* 300, 297, 2003. Simerly, C. *et al.* «Embryogenesis and blastocyst development after somatic cell nuclear transfer in nonhuman primates: overcoming defects caused by meiotic spindle extraction». *Dev. Biol.* 276, 237–252, 2004.

47 Meng, L., Ely, J. J., Stouffer, R. L. & Wolf, D. P. «Rhesus monkeys produced by nuclear transfer». *Biol. Reprod.* 57, 454–459. 1997.

fármaco biológico unas células que pueden tener más errores genéticos que las células que trata de reemplazar. Demasiado grotesco para los investigadores en biomedicina la propuesta de trabajar con unas células artificialmente anormales para estudiar la normalidad, o anormalidad, natural.

En conclusión, la tecnología de transferencia nuclear a oocitos y posterior activación para obtener células troncales embrionarias o fetales con dotación genética elegida carece de interés terapéutico y mucho menos se trata de algo indispensable en la medicina regenerativa. Y es muy dudosa su utilidad para investigación. Menos aún se trata de una investigación que carezca de otras alternativas de eficacia comparable. La medicina regenerativa se ha establecido sobre la capacidad natural de las células troncales de adulto autólogas, e incluso heterólogas inmunológicamente tolerantes.

6. Carece de justificación una investigación biomédica que requiera «donación» de embriones y fetos humanos

Las células madre embrionarias carecen de utilidad terapéutica. La ley permite que «Los embriones humanos que hayan perdido su capacidad de desarrollo biológico, así como los embriones o fetos humanos muertos, puedan ser donados con fines de investigación biomédica u otros fines diagnósticos, terapéuticos, farmacológicos, clínicos o quirúrgicos» (Artículo 28). No se entiende qué son los «embriones humanos que hayan perdido su capacidad de desarrollo biológico».

Si el embrión en definición de la ley es el embrión en útero⁴⁸ ¿cómo se conoce que ha dejado de tener capacidad de desarrollo? Es posible que se refiera a lo que la ley define como preembriones (véase definición en la nota anterior), es decir embriones *in vitro*. Estos pueden ser legalmente producidos, en el contexto de las Reproducción Asistida para investigación siempre que no sea este el fin exclusivo⁴⁹, y donados para usarlos en investigación.

Obviamente, sin ninguna restricción en el número de embriones generados,

48 Los términos embrión, preembrión y feto se definen en el Artículo 3: A los efectos de esta Ley se entenderá por: «Embrión»: fase del desarrollo embrionario que abarca desde el momento en el que el ovocito fecundado se encuentra en el útero de una mujer hasta que se produce el inicio de la organogénesis, y que finaliza a los 56 días a partir del momento de la fecundación.

«Preembrión»: el embrión constituido *in vitro* formado por el grupo de células resultante de la división progresiva del ovocito desde que es fecundado hasta 14 días más tarde.

«Feto»: embrión con apariencia humana y con sus órganos formados, que va madurando desde los 57 días a partir del momento de la fecundación, exceptuando del cómputo aquellos días en los que el desarrollo se hubiera podido detener, hasta el momento del parto.

49 La Ley prohíbe explícitamente la constitución de preembriones y embriones humanos exclusivamente con fines de experimentación, de acuerdo con la concepción gradualista sobre la protección de la vida humana sentada por nuestro Tribunal Constitucional, en sentencias como la 53/1985, la 212/1996 y la 116/1999, pero permite la utilización de cualquier técnica de obtención de células troncales embrionarias humanas con fines terapéuticos o de investigación que no comporte la creación de un preembrión o de un embrión exclusivamente con este fin y en los términos definidos en la Ley (Apartado III de la exposición de motivos).

ni condición alguna respecto al futuro de los sobrantes o supernumerarios, no está legitimada su destrucción para usarlos como material biológico. Más aún, ¿para qué se requieren? Por el momento, las células madre embrionarias sólo están sirviendo como material de laboratorio control. Control del crecimiento de células maduras y células en las que estudiar mecanismos de control de la proliferación de la célula tumoral. En ambos casos no son «imprescindibles».

Por último, y como ya se ha comentado más arriba, el punto de mira se ha desplazado de las células troncales embrionarias (inmaduras e incontrolables) hacia las células troncales de los fetos (inmaduras pero controlables), en el mantenimiento de las promesas de investigación y un posible uso terapéutico en Medicina regenerativa. Ciertamente de las células madre fetales conocemos poco. Pueden llegar a ser de utilidad (aunque no imprescindibles) un banco de líneas celulares derivadas de ellas para la investigación biomédica. En este sentido la donación de fetos espontáneamente abortados y en las condiciones que propone la ley («que no haya sido posible mantener su autonomía vital según lo previsto en el artículo 28.3») tiene una cierta lógica.

Sin embargo, otros artículos de la ley hacen que la investigación que impulsan carezca de respeto para la vida humana incipiente. En el contexto de las técnicas de Reproducción Humana Asistida nos encontramos dos puntos significativos. En primer lugar, se dice en el Artículo 35. 1. «Requerirán el informe previo

favorable de la Comisión de Garantías para la Donación y Utilización de Células y Tejidos Humanos, los proyectos de investigación que versen en todo o en parte sobre las siguientes materias: a) La investigación con preembriones humanos para la derivación de líneas celulares, para la investigación embriológica y para otros usos de investigación, *excepto* aquellos relacionados con el desarrollo y aplicación de las técnicas de reproducción asistida». Esta investigación no va a favor del embrión sino de la eficiencia de las técnicas; ¿significa esto que se es consciente de que esta manipulación de embriones *in vitro* no es una investigación biomédica? De hecho se deja al contexto de las Técnicas de Reproducción Humana Asistida. En tal caso ¿no sería ya el momento de reconocer que lo que inicialmente se planteó como un medio provisional de procreación de personas estériles sin curarles se ha salido plenamente del campo de la Medicina?

En segundo lugar, respecto a los requisitos de la donación de embriones o fetos para investigación en el Artículo 29 dice: «c) Que se haya producido la expulsión, espontánea o *inducida*, en la mujer gestante de dichos embriones o fetos, y no haya sido posible mantener su autonomía vital». Si se ha inducido la expulsión ¿porqué no se llama aborto? La razón obvia no puede ser más que otro error o la apertura de par en par de la puerta de otro abuso deseado en este contexto: aprovechar la reducción embrionaria, cuya prohibición se eliminó de la ley 14/2006, para disponer de fetos de la edad requerida sin los mínimos condi-

cionamientos que se le ponen a los fetos abortados. La reducción embrionaria es la eliminación inducida en uno o más de los embriones o fetos generados *in vitro* que hayan anidado simultáneamente por haber transferido varios al útero. Como la mujer sigue la gestación con los otros no se llama interrupción voluntaria del embarazo, sino reducción embrionaria. Es práctica habitual en los centros de Reproducción Asistida lo que saca a estos embriones o fetos, cuya expulsión es inducida, de la práctica considerada abortiva. Estas gestaciones son controladas, están en el contexto de llegar a que nazca un hijo y constituyen una fuente de embriones desarrollados o fetos para bancos de material humano.

Respecto al aborto en el Artículo 28 se dice: 2) La interrupción del embarazo nunca tendrá como finalidad la donación y la utilización posterior de los embriones o fetos o de sus estructuras biológicas. El procedimiento y modo de la práctica de la interrupción del embarazo estarán únicamente supeditados a las exigencias y limitaciones legales y a las características y circunstancias que presente aquél. Los profesionales integrantes del equipo médico que realice la interrupción del embarazo no intervendrán en la utilización de los embriones o de los fetos abortados ni de sus estructuras biológicas. El Artículo 29 da como requisitos relativos a la donación: a) Que

el donante o donantes de los embriones o los fetos hayan otorgado previamente su consentimiento de forma expresa y por escrito. Y el Artículo 30 «salva» del condicionamiento de las condiciones para la investigación biomédica con embriones y fetos humanos: «Exclusivamente podrán autorizarse intervenciones sobre el embrión o el feto vivos en el útero cuando tengan un propósito diagnóstico o terapéutico en su propio interés», al añadir a renglón seguido» sin perjuicio de lo previsto legalmente sobre la interrupción voluntaria del embarazo».

En la obsesión por usar embriones, fetos y óvulos humanos como material para lo que es prescindible, y tiene alternativas reales, mejores, se han planteado estas necesidades como una línea compleja y poco segura de resultados: cultivar en el laboratorio oocitos inmaduros de biopsias y de ovarios de fetos abortados como fuente de óvulos para la «clonación terapéutica». Es la pescadilla que se muerde la cola. Es posible que el material fetal, como hemos repetido, tenga aplicaciones mejores que ésta. Aún en tal caso es una investigación en seres humanos que no cumple los dos requisitos básicos: ir en beneficio del sujeto de la experimentación sin causarle además perjuicios desproporcionados a los beneficios que se pudieran conseguir para terceros y ser imprescindible por falta de alternativas para alcanzar un bien mayor. Obviamente, no es el caso.

Recibido: 30-04-2007

Aceptado: 04-06-2007

