

Modelos embrionarios con células madre: una reflexión ético-jurídica pendiente

Embryonic models with stem cells: a pending ethical-legal reflection

Marta Reguera Cabezas*

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla,
Cantabria, España

<https://doi.org/10.36105/mye.2025v36n1.03>

Resumen

En los últimos años el desarrollo de modelos *in vitro* con células madre humanas que simulan el desarrollo embrionario temprano ha vivido un gran progreso. Las dificultades para acceder a embriones humanos, la escasez de material embrionario y los desafíos técnicos, legales y éticos existentes sobre la investigación y experimentación con embriones humanos *in vitro* siguen siendo una barrera para avanzar en el conocimiento de la embriogénesis tras la gastrulación.

El objetivo del presente trabajo de investigación es introducir el estado de la cuestión y analizar la situación ético-jurídica que regula estos modelos de desarrollo. Exponiendo brevemente la situación en territorio español.

La metodología de investigación se ha basado en el análisis de publicaciones científicas, normas jurídicas y principios éticos. La principal

* CAE. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Cantabria, España. Correo electrónico: marthareguera@yahoo.es <https://orcid.org/0000-0003-2252-7199>
Recepción: 27/01/2024 Aceptación: 24/05/2024

conclusión recogida es que los límites de la investigación con embrioides no se han descrito y es probable que se vuelvan indispensables conforme avanza la investigación hacia modelos con potencialidad para ser trasferidos y gestados intraútero.

Palabras clave: embrioides, reproducción, embrión, investigación, ley, ética.

1. Introducción

El estudio del desarrollo embrionario humano a través de estudios sistemáticos y anatómicos sobre las primeras etapas del desarrollo embrionario, fueron el inicio de una disciplina que no ha cesado de desarrollarse y transformarse en los últimos siglos: la embriología. Podríamos afirmar que partimos del estudio de la biología del desarrollo y nos dirigimos hacia la embriología experimental (1). En este contexto, los avances en genética y biología molecular han contribuido a desvelar algunos de los procesos más significativos de la diferenciación celular (2). No obstante, el uso de modelos animales no humanos ha expuesto las grandes diferencias que existen tanto en los patrones temporales de organización celular, como en los patrones de expresión génica, etcétera.

Llegado a este punto, para comprender y descifrar correctamente el desarrollo embrionario humano es necesario profundizar en el estudio del desarrollo de embriones humanos durante la implantación y la gastrulación, existiendo un gran desconocimiento sobre los mecanismos que regulan la diferenciación celular y la morfogénesis (6). Durante las primeras etapas del desarrollo embrionario humano se produce la diferenciación celular que dará lugar a la constitución de tejidos y órganos y su organización a través de interacciones intercelulares y señales complejas que determinaran el patrón para la constitución del cuerpo humano del nuevo individuo (7).

Sin embargo, nos encontramos con numerosas limitaciones derivadas de las legislaciones locales e internacionales relacionadas con

la investigación con embriones humanos. Así, en la actualidad, se ha optado por modelos alternativos *in vitro* (3). Los modelos *in vitro* a partir de células madre humanas son capaces de simular el desarrollo embrionario temprano, por ello es un campo con grandes expectativas de progreso (4), que además, proporciona una alternativa a la experimentación con de embriones humanos (5).

El objetivo del presente trabajo de investigación es introducir el estado de la cuestión y analizar la situación ético-normativa que regula estos modelos experimentales.

2. ¿De dónde venimos? El embrión humano

La fusión del óvulo y el espermatozoide forman un cigoto, una célula con la extraordinaria capacidad de desarrollarse hasta constituir un nuevo ser humano. Esta podría ser la definición de un embrión desde la perspectiva biológica (8,9). Sin embargo, conforme ha ido avanzando la ciencia paralelamente ha ido transformando la percepción biológica, jurídica y social del embrión humano (9,10,11).

La explosión de la embriología humana se remonta a las investigaciones que dieron lugar a la fecundación *in vitro* (FIV) y con ello a la posibilidad de generar y cultivar de forma extracorpórea embriones humanos (12). Este novedoso avance permitiría la fertilización de un óvulo humano y su supervivencia durante las primeras etapas de su desarrollo.

Tras el éxito de la FIV, los conocimientos del desarrollo durante los siete primeros días han ido esclareciendo mecanismos a través de los cuales desde la fertilización y tras una serie de segmentaciones se produce el primer evento que condicionará el desarrollo posterior: la activación del genoma embrionario en (EAG) (7,8,13,14). Tras ello, comienzan los pasos hacia la compactación, la polarización y blastulación embrionaria. Llegado este momento, aproximadamente en el séptimo día de desarrollo, el embrión humano debe implantarse en el útero de la madre para sobrevivir (15). Por ello y dado que experi-

mentos *in vivo* no son factibles, los cambios celulares y moleculares que tienen lugar en el embrión humano en esta etapa no se conocen con exactitud.

El blastocisto humano dará lugar a tres linajes celulares distintos: el trofotodermo (TE), tejido extraembrionario responsable de la implantación en el estroma del endometrio uterino y la masa celular interna que, a su vez, en una etapa tardía del blastocisto se diferenciará al tejido embrionario propiamente dicho, el epiblasto (EPI) y un segundo tejido extraembrionario el hipoblasto (HyPO). Mientras que el trofoblasto comienza su expansión y diferenciación a citotrofoblasto, sincitiotrofoblasto y trofoblasto extraveloso durante las diferentes etapas de la implantación(14,16,17,18). El EPI (precursor de las células que darán lugar al embrión) sufre su primera reorganización importante durante la implantación polarización y pierde parcialmente su pluripotencialidad a la vez que forma el lumen que dará lugar a la cavidad amniótica y la formación del epitelio amniótico que formará la membrana del saco amniótico esencial para el posterior desarrollo. De esta manera, los mecanismos celulares subyacentes a la formación de la luz del saco en los seres humanos siguen siendo desconocidos. El HyPO por su parte prolifera y tapiza la cavidad del saco vitelino transformándose en endodermo visceral.

A partir de este momento se produce la conformación del eje anteroposterior derivado de la reorganización de las dos estructuras asociadas (EPI e HyPO), pudiendo dividir este proceso en dos fases: por un lado, un grupo de células del HyPO marcarán la posición anterior donde el EPI constituirá el primordio cerebral, mientras que en el extremo opuesto del embrión marcando el inicio de la línea primitiva (PS) responsable de la simetría bilateral del cuerpo humano (2,19). En segundo lugar, los reordenamientos celulares a gran escala determinarán la estructura corporal (20). Sin embargo, 14 días después de la fecundación, el embrión humano implantado es un gran desconocido, no se conoce el número exacto de células presentes en la gástrula, se desconoce el origen exacto de las células germinales primitivas (CGP) y se desconocen con certeza las señales biofísicas y

bioquímicas necesarias para establecer los ejes corporales y constituir los órganos, pues los modelos animales presentan diferencias insalvables para la precisión de estos eventos (16,18,21,22).

Las dificultades para acceder a embriones humanos, la escasez de material embrionario y los desafíos técnicos, legales y éticos existentes sobre la investigación y experimentación con embriones humanos *in vitro* siguen siendo una barrera para avanzar en el conocimiento de la embriogénesis tras la gastrulación (6,13,21,23,24).

De esta forma, la mayor parte de los conocimientos en torno al proceso de gastrulación en la especie humana proviene del estudio anatómico e histológico de las diferentes colecciones de embriología del siglo pasado, entre las que podemos destacar la primera gran colección por Carnegie de Ronan O'Rahilly y Fabiola Müller (21,25) referente internacional.

En definitiva, proporcionan una nueva comprensión del desarrollo embrionario humano temprano más allá de la etapa de blastocisto a través de la comprensión de los mecanismos de diferenciación y organización de la estructura corporal, así como las diferencias moleculares que pueden participar en la morfogenética embrionaria durante y después de la gastrulación, lo cual se vuelve indispensable debido a la elevada especificidad de estos eventos del desarrollo según la especie (5,16,22), además de comprender algunas patologías fetales, malformaciones congénitas y abortos espontáneos (2).

3. ¿A dónde nos dirigimos? Desarrollo de modelos a partir de células madre: los embrioides

Los embriones humanos cultivados *in vitro* proporcionan una valiosa información sobre las propiedades de autoorganización y autonomía del desarrollo humano temprano (26) no obstante, dadas las restricciones éticas y el número limitado de embriones humanos disponibles para estudios funcionales, se ha recurrido al uso de células madre embrionarias humanas (hESC) y a las células madre pluripotentes inducidas humanas (iPSC) como modelos alternativos (27). Las células

madre cultivadas en condiciones convencionales son, en sí mismas, modelos simples de los diferentes tejidos del embrión.

La mejora de los cultivos con hESC e ihPSC, capaces de diferenciarse en cualquiera de los tipos celulares del organismo humano, ha permitido múltiples diseños experimentales (28–30). La mayor parte de la investigación partían del uso de hESC procedentes de blastocistos, aunque las ihPSC se comportan de la misma manera. No obstante, estas investigaciones están menos avanzadas que en modelos animales (2,5,31).

Desde hace más de una década se desarrollaron y mejoraron los métodos para el cultivo *in vitro* de hESC con la finalidad de obtener patrones celulares de crecimiento que imiten reproduzcan etapas del desarrollo embrionario temprano (4). Es decir, formar construcciones de agregados celulares artificiales a partir del uso de hESC que persigue imitar el desarrollo de partes de un embrión o un embrión completo (32). No hay un consenso claro para la denominación de estas estructuras, inicialmente fueron denominadas colonias hESC micropatronadas humanas (33), cuerpos embrioides (7), embrión sintético o SHEFF (entidades humanas sintéticas con características similares a un embrión) (34), embrión artificial (35), modelos embrionarios estructurados o Stembrioides (36), organoide (37), blastoide (23), gastruloide (38) y embrioides (39).

Este sistema nos ha proporcionado una oportunidad para descubrir los principales eventos morfogénicos que normalmente ocurren después de la implantación del embrión humano (40), incluyendo: segregación de epiblastos e hipoblastos; polarización del epiblasto; formación de la cavidad amniótica y del disco bilaminar; aparición del ectodermo amniótico prospectivo; aparición del saco vitelino; y diferenciación del trofoblasto en citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto (14).

Las hECS en cultivo bidimensional convencional expuestas a diferentes señales son capaces de diferenciarse a cualquier tejido embrionario, de modo que se han convertido en una herramienta valiosa para comprender la diferenciación de las células madre, estudiar la pluripotencialidad, el potencial del epiblasto humano en su

diferenciación a celular y el papel que desempeñan los mecanismos de señalización celular en la diferenciación (2,18). Sin embargo, el cultivo bidimensional está limitado en su capacidad para recapitular el nicho del tejido natural, incluida la organización espacial (3D) de diferentes tipos de células y la señalización paracrina localizada entre diferentes estructuras y tejidos (18).

El primer hito morfológico del embrión humano durante la implantación es la polarización embrionaria y la formación del lumen amniótico del EPI. Un cultivo de hESC en condiciones controladas mediante factores de crecimiento es capaz de desarrollar un conjunto de estructuras tridimensionales que se autoorganizan en sacos asimétricos los cuales simulan el proceso de gastrulación (41) and chemical modulation could induce excess somite formation. TLSs thus reveal an advanced level of self-organization and provide a powerful platform for investigating post-implantation embryogenesis in a dish.”;”container-title”.”Science (New York, N.Y. Además de imitar el desarrollo de la cavidad amniótica son capaces de mostrar el movimiento migratorio celular que dará lugar a la formación de la PS (42).

Existen distintas metodologías para generar embrioides, incluida la agregación en suspensión, gotas colgantes, micropocillos y aggrewwells, así como la adición de factores que promueven la supervivencia. Los embrioides ofrecen una serie de modelos 3D con diferentes y complejos comportamientos de diferenciación que son útiles para identificar los factores de señalización necesarios en la diferenciación de distintos tipos específicos de células. También para examinar los comportamientos celulares clave para la diferenciación de la capa germinal durante la embriogénesis, incluida la transición epitelial-mesenquimal y la migración celular (43). A pesar de la gran capacidad de las células madre para autoorganizar su propio microambiente, se ha comprobado que las células necesitan unas condiciones ambientales adicionales para canalizar las decisiones del destino y la morfogénesis (14,44,45).

Se ha descrito también un modelo 3D capaz de desarrollar las tres capas germinales y sufre una extensión axial, similar a la observada en el embrión humano denominado gastruloide (32,36,46,47).

Estos exhiben múltiples características de la gastrulación en embriones en desarrollo, en particular ruptura de simetría, marcadores de derivados de las tres capas germinales, extensión axial a lo largo de un eje anteroposterior y un diseño de expresión génica correspondiente al plan corporal de los vertebrados (2,41). El uso de estos modelos permite diseccionar los eventos morfogénéticos seleccionados suponiendo una herramienta prometedoras (7,20). El campo de la investigación con embrioides, también denominado por algunos “embriología sintética”, persigue dos objetivos: el primero de ellos es conseguir diseñar estructuras tridimensionales similares a embriones utilizando células madre que imiten la embriogénesis temprana para llevar a cabo la investigación de los patrones y secuencias responsables de la morfogénesis humana, y en segundo lugar reproducir y modificar esos patrones en condiciones divergentes para estudiar los mecanismos subyacentes y el grado de sensibilidad a factores cambiantes (44). Adicionalmente, los embrioides podrían manipularse genéticamente permitiendo con ello un mayor conocimiento de la expresión génica (32).

Hay que señalar, que los modelos estudiados pueden ser de dos tipos: los modelos no integrados, aquellos embrioides que carecen del HyPO y del trofoblasto, y por lo tanto no pueden formar saco vitelino y placenta respectivamente. Y los modelos integrados que contiene todas las estructuras necesarias para la implantación y la gastrulación (36). En este sentido estos embrioides integrados, a medida que los modelos de gastrulación avancen podrían adquirir el potencial necesario para completar el desarrollo embrionario (2).

Aunque todavía no se ha demostrado que ninguno de los modelos de embrioides integrados desarrollados en animales pueda llegar al desarrollo completo de un feto, se ha conseguido el desarrollo autónomo de modelos integrados hasta los 14 días (36,48,49). Posiblemente llegará un día en que los avances lo permitan, consiguiendo desarrollar características clave del desarrollo embrionario humano con la suficiente fidelidad para cuestionar ética y jurídicamente algunas investigaciones (4,9).

Por ello debemos ser prudentes respecto de los avances en este campo y abrir el debate sobre la pertinencia de establecer una normativa reguladora de la investigación con modelos *embrioides*.

4. Límites de la investigación con embriones humanos: ¿cómo regulamos los *embrioides*?

Queda patente que la embriología humana será un campo de investigación muy próspero en los próximos años. En los inicios de la FIV, rápidamente se comenzó a cuestionar los aspectos éticos de la investigación con embriones humanos, aunque por aquel entonces las primitivas técnicas y medios para el cultivo no hacían viable mantener los embriones en cultivo prolongado. Estas cuestiones dieron lugar al que posiblemente sea en informe sobre fecundación *in vitro* más relevante de la historia hasta nuestros días, el Informe Warnock de 1984, llamado así por la filósofa Mary Warnock quien presidió una investigación gubernamental sobre fertilización humana y embriología (50). En el informe se recomendó restringir la investigación con embriones humanos a 14 días de desarrollo, justificando este límite en varias razones: la PS aparece alrededor de 14 días siendo el primer signo visible de organización tisular del embrión justo antes de la formación del tubo neural (neurulación); además es el último punto en el que puede ocurrir la gemelación del embrión (algunos estudiosos sugieren que este es un punto de individuación). Una preocupación clave de la comisión de expertos era establecer un consenso entre las distintas posiciones morales en relación con el inicio de la vida y la investigación con embriones humanos, por ello, evitar la posibilidad de que los embriones experimentaran dolor o sensibilidad supuso un pilar sobre el que basar los límites de la investigación (34). Además podemos puntualizar, que cuando se estableció la norma era tecnológicamente inviable cultivar embriones humanos hasta tal grado de desarrollo, por lo que no interfería, al menos inicialmente, en la investigación (51-53). Llegar a este consenso entre dos puntos de vista enfrentados supuso un claro ejemplo

del compromiso en el avance de la investigación respetando los valores morales de una parte de la sociedad.

Por lo anterior, el informe Warnock de 1984 influyó en muchas legislaciones internacionales estableciendo un criterio que, no siendo universal, ha sido incluido en numerosas normativas. El límite de desarrollo de los embriones a los 14 días posfecundación, impide toda investigación en estadios posteriores a la implantación como por ejemplo la gastrulación o la formación de la PS.

Haciendo un inciso podemos encontrar una gran variedad de normativas a nivel internacional relacionadas con la investigación con embriones humanos, más o menos restrictivas. Todas ellas están influenciadas por factores socioculturales, políticos o religiosos de cada país (54). Partiendo de este hecho podemos brevemente plasmar el estado de los límites establecidos por algunos de los países más representativos (55):

1. Países que tienen prohibida la investigación básica: Austria, Alemania, Italia, Rusia y Turquía. Estos países tienen prohibiciones con respecto al uso de embriones para fines no reproductivos o médicos.
2. Países sin límite de tiempo en la investigación: Brasil, Francia, Israel y Estados Unidos. Las leyes de Brasil sobre la investigación hESC prohíben la “ingeniería genética en células germinales humanas, cigotos humanos o embriones humanos”, pero no abordan un límite de desarrollo u otras restricciones en la investigación con embriones humanos (41-43). Israel tiene una ley de 1999 que prohíbe la clonación reproductiva y un conjunto de directrices para la investigación hESC, pero no aborda ni limita la investigación *in vitro* con embriones humanos (44-46). La ley francesa permite el uso de embriones sobrantes de FIV para investigación, solo si está científicamente justificado y con autorización previa de la Agencia de Biomedicina y Estados Unidos prohíbe la financiación federal para la investigación con embriones humanos a través de la Enmienda Dickey-Wicker.

3. Países que limitan la investigación con embriones humanos a 14 días o la formación de la PS: Australia, Bélgica, Canadá, China, India, Japón, Países Bajos, España, Corea del Sur, Suecia, Taiwán y el Reino Unido.
4. Países con un límite de tiempo alternativo: Suiza tiene un límite de siete días según la ley federal sobre la investigación con células madre embrionarias.

Como se ha explicado y volviendo al hilo principal, la mayor parte de las investigaciones se centran en la reconstitución parcial de *embrioides* que no tienen potencialidad de implantación y cuentan con una vida autónoma muy limitada. Así mismo, hasta la fecha no se han generado *embrioides* humanos completos. Ahora bien, como se sabe, solo es cuestión de tiempo que los protocolos y el diseño de los experimentos consigan la formación de *embrioides* humanos completos. A raíz de ello, comienzan a cuestionarse las implicaciones éticas en torno al desarrollo e investigación con *embrioides* humanos, necesitando a su vez de una delimitación clara de la normativa que regula la investigación con estas estructuras (55-57).

Intentaremos reflejar varios de los aspectos que son motivo de incertidumbres ético-jurídicas en relación con los *embrioides* como modelo experimental y su efecto sobre el límite temporal para investigación de los 14 días.

La primera cuestión sería el estatus moral que se les otorga, para lo cual no tenemos una respuesta clara. Tenemos que recordar que, desde la época del informe Warnock hasta la actualidad sigue existiendo un profundo desacuerdo sobre el estatus moral del embrión humano y el inicio de la vida (58). El debate sobre el estatus moral del embrión y el feto se basa en los valores individuales y sociales profundamente arraigados de modo que las perspectivas de llegar a un consenso entre oposiciones severas y arraigadas parecen bastante improbables (59). Todavía más, por múltiples razones este debate se ha ampliado al hablar de *embrioides*, ante lo cual posiblemente sea necesaria una reflexión filosófica y sociológica que determine si ¿la investigación más allá de los 14 días debe o no debe permitirse?

¿Debe darse la misma consideración legal o moral a los *embrioides* que a los embriones humanos? y, en esta dirección, ¿hacer investigación sobre ellos atentaría o no contra su dignidad? (51). Aunque no es el propósito de este trabajo esta cuestión sobre el status moral también podría extenderse al status de los embriones de las distintas especies animales (no humanos) utilizadas en la investigación, hemos encontrado referencias al menos a estudios en ratón, mono, cerdo... que abrirían las puertas a una profunda reflexión y debate sobre el uso de animales en investigación y el status de estos embriones y embrioides “animales” (60-63). Rivron plantea que la gama de especies utilizadas podría reflejar un compromiso entre las que tienen un menor derecho a la protección y las que tienen capacidad para desarrollarse de una manera más similar a la de los seres humanos, pero este tema correspondería a otra investigación (9).

Con el avance de la investigación, es probable que los embrioides lleguen a un grado de desarrollo que emule en gran medida las características y el potencial de desarrollo humano. Esto puede llevar a considerar la existencia de un determinado estatus moral (34) recent experiments showing that suitably cultured human pluripotent stem cells can self-organize and recapitulate embryonic features have highlighted difficulties with the 14-day rule and led to calls for its reassessment. Here we argue that these and related experiments raise more foundational issues that cannot be fixed by adjusting the 14-day rule, because the framework underlying the rule cannot adequately describe the ways by which synthetic human entities with embryo-like features (SHEEFs). Es decir, el estatus moral de embrioides podría estar supeditado a la presencia de un conjunto de características y funciones propias del embrión humano. No obstante, como ha quedado patente con los embriones humanos, la moralidad no se traduce fácil ni directamente en ley, por lo que tal vez, no deberíamos esperar que esto influya en futuras regulaciones en este u otros campos de la investigación.

La segunda cuestión por abordar es si consideramos que existe una equivalencia entre el embrión humano y el *embrioides* generado a partir de células madre. Esta equivalencia ha sido recogida por otros

autores como “potencial orgánico humano”, “problema del modelo”, o “potencialidad”(59). Algunos científicos han argumentado que los embriones y *embrioides* no son funcionalmente equivalentes, al menos por el momento. Dicha argumentación está basada en una distinción entre “las construcciones parciales y aquellas que intentan modelar el desarrollo integrado (59)”, es decir aquellos modelos de *embrioides* que no constituyen organismos completos sino parte de ellos y, por lo tanto, no requeriría el mismo nivel de supervisión y regulación que los embriones humanos (23). La principal ventaja de tratar los embriones y los *embrioides* de un modo diferente (dado que actualmente no hay evidencia convincente que demuestre que los sean funcionalmente equivalentes o puedan llegar a serlo en un futuro) es principalmente utilitarista pues brinda la oportunidad de investigar el desarrollo embrionario evitando el uso de embriones humanos.

Sin embargo, quienes defienden la postura contraria argumentan que los *embrioides* se volverán funcionalmente más similares a los embriones humanos morfológica y genéticamente a medida que avance la investigación (42,64). La principal ventaja de tratarlos de la misma manera es que evita cualquier posible duda moral, y a su vez modificaciones en las legislaciones. Esta posición, no goza de argumentos sólidos indisolubles que la respalden y desde luego, puede ser percibida por el sector científico y biomédico como un impedimento para el progreso científico.

Es crucial que las sociedades científicas y los comités de ética garanticen que el desarrollo *in vitro* de modelos embrionarios humanos se produzca gradualmente y que la calidad y la reproducibilidad de los resultados estén garantizadas antes de que se permita a los investigadores explorar etapas posteriores. Ahondando en esta cuestión podemos hacer referencia a la reciente actualización de la Sociedad Internacional para la Investigación con Células Madre (ISSCR) con pautas actualizadas para la investigación con embriones humanos en el año 2021. La ISSCR fue fundada en 2002 y se desarrolló rápida y paralelamente a los innumerables avances en este campo, hasta convertirse en una organización global dedicada a todos los aspectos de la investigación con células madre y su traducción clínica

(65). Es probable que la futura posibilidad de similitud haya influido en la cautelosa redacción de las directrices del ISSCR como motivo plausible para tratarlos jurídicamente diferentes (66). La ISSCR ha optado por clasificar los modelos embrioides en *No integrados*: serán aquellos modelos que imitan sólo aspectos o tejidos específicos del desarrollo del embrión humano y, a menudo, no tienen membranas extraembrionarias asociadas. Estos modelos embrioides no integrados son notificables y de categoría 1B:

Investigación que es reportable al proceso de supervisión pero que normalmente no está sujeta a revisión adicional, a discreción del comité apropiado y/o política local. Algunos ejemplos incluyen: investigación que implique la formación *in vitro* de modelos embrionarios basados en células madre humanas que no pretendan representar el desarrollo integrado de todo el embrión (67).

Un segundo grupo son los *modelos embrioides integrados*: estos contienen los tipos de células embrionarias y extraembrionarias pertinentes, los cuales podrían alcanzar una mayor complejidad y desarrollo mediante su cultivo adicional *in vitro*, deben someterse a una revisión especializada completa y son de categoría 2:

Formas de investigación con embriones y modelos embrionarios que son permisibles solo después de la revisión y aprobación a través de un proceso especializado de revisión científica y ética. Algunos ejemplos incluyen: Investigación que involucre el cultivo *in vitro* de embriones humanos donde los embriones se mantienen en cultivo hasta la formación de la línea primitiva o 14 días, lo que ocurra primero, o la generación de modelos embrionarios basados en células madre que representen el desarrollo integrado de todo el embrión, incluidas sus membranas extraembrionarias. Estos modelos embrionarios integrados basados en células madre deben mantenerse en cultivo durante el tiempo mínimo necesario para alcanzar el objetivo científico (67).

Dado que los *embrioides* (basados en células madre) no se consideran equivalentes a los embriones humanos en la mayoría de las legislaciones, la ISSC tomó la decisión de que los *embrioides* integrados no deberían estar sujetos a las restricciones de la norma de los 14 días. No obstante, por razones éticas y de seguridad, sí recoge la prohibición de la transferencia de cualquier *embriode* humano al útero sea de un animal o humano en la categoría 3B:

Actividades de investigación prohibidas. La investigación bajo esta categoría no debe llevarse a cabo debido al amplio consenso internacional de que tales experimentos carecen de una justificación científica convincente y son ampliamente considerados como poco éticos (66).

Ligado a lo anterior podríamos plantear la necesidad de redefinir los límites y plantear que se deben preferir los modelos menos completos cuando sea posible.

Es necesario puntualizar que, frente a la tradicional concepción del tiempo de desarrollo de los embriones humanos perfectamente lineal y delimitado, en el que todos ellos para evolucionar deben pasar por diferentes etapas, entre ellas, la generación de la PS, Los *embrioides* nos sitúan en un nuevo escenario. Estos modelos no progresan linealmente, en su lugar, imitan puntos de desarrollo específicos. Un *embriode* podría imitar la gastrulación (alrededor del D+17 en embriones humanos) en menos de 14 días y, además, sin haber desarrollado la PS. En otros casos, algunas estructuras pueden desarrollarse comenzando en una etapa posterior a la formación de la PS. En este contexto, no cabría regular la investigación con *embrioides* conforme el límite de 14 días del Informe Warnock. Ante esta situación, se podría plantear una regulación centrada en los *embrioides* mismos: qué células contienen (por ejemplo, tejido extraembrionario), su capacidad para desarrollar estructuras complejas (como conexiones neuronales) o qué etapas del desarrollo han alcanzado (34,55). En cualquier caso, determinar nuevos límites es un esfuerzo altamente complejo en sí mismo.

El cuarto aspecto por considerar son los beneficios derivados de la investigación con embrioides. Como tal, como hemos apuntado, algunos autores defienden que los embrioides no deben considerarse equivalentes a los embriones humanos, así la investigación con ellos es una alternativa factible al uso de embriones humanos bajo unos criterios éticos y sociales. Recordemos la gran importancia de tener en cuenta la búsqueda de la proporcionalidad y el equilibrio entre los riesgos y el beneficio de los avances científicos para así contar con la confianza pública necesaria para llevar a cabo la investigación (68). La evaluación preclínica de esta etapa de desarrollo sería particularmente informativa para futuros avances en otras terapias pues en la actualidad existe una brecha importante de conocimiento en las primeras etapas post-implantación.

Los argumentos a favor de extender el límite se basan en gran medida en los posibles beneficios científicos y clínicos que la investigación científica aporta a la mejora la vida de las personas y por ello abogan por permitir que continúe. Algunos de los posibles beneficios podrían estar encaminado hacia (4,23):

- Lograr una mejor comprensión de cómo las células madre se diferencian a las distintas líneas celulares y desarrollar métodos de cultivo de diferenciación de células madre humanas para lograr una mayor fidelidad con los procesos.
- Estudiar y comprender la biología de las células germinales.
- Mejora de los tratamientos de la infertilidad, con mayor comprensión del desarrollo embrionario, gastrulación e implantación.
- Mejora de la planificación familiar y diseño nuevos métodos anticonceptivos que impiden la fecundación o la implantación.
- Prevención de abortos por causas relacionadas con una implantación subóptima.
- Prevenir anomalías en el desarrollo placentario y pérdidas precoces.
- Estudiar y conocer las implicaciones de los cambios genéticos y epigenéticos.

- Lograr una mejor comprensión de las etapas clave del desarrollo humano temprano.
- Desarrollo y evaluación de fármacos hacia dianas específicas en la embriogénesis o sus efectos teratógenos durante el embarazo.
- Desarrollo de terapias con células y tejidos para el trasplante.
- Desarrollo de estructuras similares en función y tamaño a órganos humanos para estudios farmacológicos o incluso trasplantes.

Sin embargo, apelar a la beneficencia de la investigación y a su viabilidad técnica para ampliar el límite para la investigación con embrioides puede plantear ciertas dudas. Podríamos explicarlo con la similitud de la edición genética en embriones, permitir una técnica potencialmente beneficiosa y viable, exclusivamente por esas razones podría pecar de un elevado grado de optimismo del progreso científico, sin evaluar los riesgos presentes o futuros. Hoy, autores como Harris y Lovell-Badge argumentan que se trata de certezas sobre los beneficios y certezas de la viabilidad técnica: la investigación con embriones ha demostrado ser beneficiosa y factible (65,69). En este sentido, debemos considerar estas cualidades en conjunto con el resto de los puntos tratados.

El principio de proporcionalidad hoy en día, constituye, quizá, el más conocido y recurrente “límite de los límites” (70). Pese a ser un principio jurídico, es aplicado en diferentes ámbitos y disciplinas como la bioética o a la investigación biomédica. Su correcta aplicación resulta muy útil para discernir la legitimidad moral de una decisión, en concreto debemos plantearnos la pertinencia de limitar o no estas investigaciones. En la investigación con modelos embrioides es importante analizar los aspectos cuantitativos y cualitativos relacionados con los medios y los fines de la investigación, la probabilidad de éxito y el ratio entre el riesgo y beneficio (71), este principio exige que el fin justifique los medios y el valor que se obtiene con la investigación supere la carga asociada (9,72).

Otro de los argumentos clásicos que suele introducirse al abordar las nuevas tecnologías biomédicas es el argumento de la pendiente resbaladiza (73,74), el cual nos traslada hacia el principio de precaución, mediante el cual la investigación debe adoptar una postura cautelosa en cuanto al equilibrio entre el riesgo y el daño que pueda generar (74,75). La pendiente resbaladiza expone que permitir una determinada práctica (en este caso, permitir la investigación con embrioides extendiendo el límite de los 14 días normalizado en la actualidad) podría consecuentemente inducir a prácticas poco éticas o ilícitas en estas investigaciones, incluso podría conducir a la permisibilidad de la investigación con fetos y recién nacidos (51), o bien abrir la puerta a la permisividad de técnicas como la edición del genoma de la línea germinal. El argumento expresa la preocupación de que una vez que nos acostumbremos a la investigación con preembriones, ampliaremos el permiso para la investigación con embriones en una etapa posterior del desarrollo; Una vez que nos acostumbremos a esto también, entonces permitiremos la investigación sobre fetos y recién nacidos.

A estas reflexiones debemos añadir algunas palabras en torno a la figura del Consentimiento informado. El uso de hECS y hiPSC en la creación de modelos embrioides se ha convertido en una alternativa muy interesante, la cual, no obstante, puede plantear preocupaciones en relación con el consentimiento informado.

El consentimiento informado es la herramienta ético-jurídica que vela por las máximas garantías del respeto de la autonomía de un individuo tanto en investigación como en asistencia sanitaria. El consentimiento informado salvaguarda los derechos de las personas ante el propósito de participar o donar células o embriones sobrantes de FIV para la investigación. Al respecto cabe señalar que los fines de la investigación para la creación de embrioides deben estar claros. En efecto, debemos cuestionarnos si los donantes de células o embriones saben lo que están firmando cuando se les pide su consentimiento (76) la principal razón es que los donantes de células o embriones pueden desconocer los procesos relacionados con los

cultivos de hESC, la reprogramación celular, y el almacenamiento en crio-bancos para investigaciones futuras. Partiendo de este hecho, ¿no sería imperativo informarle sobre la posibilidad de formar embrioides con características genéticas idénticas a las células/embriones donados (salvando modificaciones epigenéticas o aquellas derivadas de la derivación de la línea celular)? (77) ¿Dan su consentimiento para la investigación en el desarrollo de modelos embrioides? En caso afirmativo ¿Esos modelos serán parciales o completos? (78). Tales preguntas pueden llegar a ser complejas para los donantes de células y embriones sobrantes, al no conocer las implicaciones e información relacionada con del uso de hESC y hiPSC. En definitiva, para la investigación y desarrollo de embrioides se debe contar con un consentimiento informado real, completo y adecuado a la comprensión de la población.

En resumen, el futuro del cultivo de embrioides humanos más allá de 14 días para estudiar la gastrulación y la formación de la PS, el desarrollo temprano de la capa germinal, tampoco se ha establecido una regulación concreta de la organogénesis temprana, todo ello ciertamente se encontrará con diferentes barreras según cada legislación.

Para finalizar algunos sistemas legislativos nacionales ya han regulado a esta incertidumbre: Japón ha adoptado la opinión, aunque extraoficialmente, de que aún no existe un consenso científico sobre si los blastoides tienen capacidad de ontogénesis si se implantan en el útero. Por lo tanto, su regulación trata a los blastoides de manera diferente a los blastocistos (79).

Tanto Estados Unidos como el Reino Unido han adoptado la misma posición (55). Australia, por el contrario, ha adoptado la posición de que los blastoides deben tratarse de la misma manera que los embriones, dadas ciertas similitudes morfológicas entre los blastoides y los embriones, y dado que algunas de esas similitudes son compatibles con la definición reglamentaria de “embrión”(80).

Dado que la investigación puede llegar a alcanzar una gran similitud con embriones humanos naturales, se ha puesto en evidencia la necesidad que prohibir expresamente el uso de estos embrioides,

o estructuras similares con fines reproductivos, así como su implantación uterina con fines de investigación(23), tal y como recoge la ISSCR.

5. ¿Qué nos encontramos en la normativa española sobre la investigación con embrioides?

En España existe una gran cantidad de normativas reguladoras del ámbito biomédico cuya interconexión resulta, en ocasiones, compleja de resumir. La mayoría de estas normas datan de principios del presente siglo y reflejan los compromisos adquiridos con el Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina (CDHB) de 1997 (81). Concretamente, estamos hablando de la Ley 14/2006 de 26 de mayo sobre técnicas de reproducción asistida (y su normativa de desarrollo)(82), la Ley 14/2007 de 3 de julio, de Investigación Biomédica, el Real Decreto 2132/2004, de 29 de octubre, por el que se establecen los requisitos y procedimientos para solicitar el desarrollo de proyectos de investigación con células troncales obtenidas de preembriones sobrantes, Real Decreto-ley 9/2017 de 26 de mayo que modifica el RD-Ley 9/2014, de 4 de julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos (83).

La investigación con embrioides generados a partir de células madre está sujeta a las normas anteriores, así como a las medidas de supervisión ética, de buenas prácticas en investigación y al control de los órganos colegiados competentes. Las citadas leyes establecen, además ciertas restricciones en intervenciones relacionadas con la creación de embriones con fines de investigación, las intervenciones destinadas a la modificación del genoma humano si estas afectan a la línea germinal y también lo relativo a la investigación con células, tejidos, embriones y fetos humanos (84).

Resulta importante partir de la definición de embrión que contempla la normativa española:

El embrión es la etapa de desarrollo embrionario desde el momento en que el ovocito fecundado se implanta en el útero hasta el inicio de la organogénesis, que finaliza a los 56 días después de la fecundación. El preembrión es un embrión *in vitro* desde la fertilización del ovocito hasta 14 días después de la fertilización (85,86).

La normativa menciona la fertilización como parte de la definición de embrión, de esta forma, estaría excluyendo la figura del embriode (dado que su formación no implica fertilización), podríamos plantear si la normativa es permisiva en este sentido (87).

Los biobancos están autorizados en España de acuerdo con el RD 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica y el Banco Nacional de Líneas Celulares así como la obtención de muestras para el desarrollo de embrioides en investigación.

En relación con el CI para la obtención y generación de líneas celulares y embrioides tiene la dificultad añadida de hacer entender las particularidades resultantes de la información genética de la muestra y sus usos posibles. Cabría una plausible revisión del contenido de estos CI.

Además, en España, están regulados los métodos para la formación de embrioides incluyendo SCNT y partenogénesis, y por lo tanto desarrollados a partir de hESC o hiPSC son permisibles(86,88). Ahora bien, muchas de las leyes y otras normas nacionales fueron desarrolladas para abordar otras cuestiones como la clonación reproductiva, la investigación con hESC y la investigación con embriones

humanos procedentes de FIV, pero ahora puede que se estén aplicando a la investigación con embrioides.

A raíz de esto, la posición de la normativa en torno a los límites de la investigación con embrioides no se ha desarrollado y es probable que para determinar si debe de existir o existe una restricción a la investigación con embrioides se requiera una revisión cuidadosa del lenguaje y las definiciones asociadas dentro de las leyes y directrices nacionales.

6. Conclusiones

Ante las reflexiones y argumentaciones que hemos descrito en torno a los embrioides como modelo de investigación, a fin de describir el estado actual de desarrollo y las incertidumbres ético-jurídicas que plantean, podemos destacar que son una herramienta científica útil y una alternativa ética a la investigación con embriones humanos. La principal directriz para la investigación de embriones humanos es el límite de los 14 días propuesto por el informe Warnock. Si bien, es la normativa más común podría no ser válida para la investigación con *embrioides*.

La mayoría de los países no tiene unas directrices claras sobre la investigación con embrioides quedando poco definidos sus límites.

Las regulaciones normativas, podrían tener en cuenta la justificación de la investigación, la calidad de esta, los potenciales beneficios, el compromiso ético del proyecto de cara a delimitar sus usos.

Como conclusión principal en este trabajo resaltamos la necesidad del desarrollo de directrices jurídicas con respecto a los límites en la investigación, pues serán cruciales a medida que se perfeccionen los modelos y se avance en el desarrollo hacia un embriode completo con potencial para su transferencia al útero materno. Siendo plausible establecer una prohibición sobre la creación y desarrollo de *embrioides* para su transferencia al útero, destinados o no a producir un embarazo.

Referencias

1. Stern CD. Reflections on the past, present and future of developmental biology. *Dev Biol.* 2022; 488:30-4. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2022.05.001>
2. Ghimire S, Mantziou V, Moris N, Martinez Arias A. Human gastrulation: The embryo and its models. *Dev Biol.* 2021; 474:100-8. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2021.01.006>
3. Pereira Daoud AM, Popovic M, Dondorp WJ, Trani Bustos M, Bredenoord AL, Chuva de Sousa Lopes SM. Modelling human embryogenesis: embryo-like structures spark ethical and policy debate. *Hum Reprod Update.* 2020; 26(6):779-98. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa027>
4. Hyun I, Munsie M, Pera MF, Rivron NC, Rossant J. Toward Guidelines for Research on Human Embryo Models Formed from Stem Cells. *Stem Cell Rep.* 2020; 14(2):169-74. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.12.008>
5. Luijckx D, Shankar V, van Blitterswijk C, Giselbrecht S, Vrij E. From Mice to Men: Generation of Human Blastocyst-Like Structures In Vitro. *Front Cell Dev Biol.* 2022; 10:838356. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.838356>
6. Chen Y, Shao Y. Stem Cell-Based Embryo Models: En Route to a Programmable Future. *J Mol Biol.* 2022; 434(3):167353. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2021.167353>
7. Rossant J, Tam PPL. Opportunities and challenges with stem cell-based embryo models. *Stem Cell Rep.* 2021; 16(5):1031-8. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.02.002>
8. Corujo-Simon E, Radley AH, Nichols J. Evidence implicating sequential commitment of the founder lineages in the human blastocyst by order of hypoblast gene activation. *Development.* 2023; 150(10):dev201522. <https://doi.org/10.1242/dev.201522>
9. Rivron NC, Martinez Arias A, Pera MF, Moris N, M'hamdi HI. An ethical framework for human embryology with embryo models. *Cell.* 2023; 186(17):3548-57. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.07.028>
10. De Miguel Beriain I. What is a human embryo? A new piece in the bioethics puzzle. *Croat Med J.* 2014; 55(6):669-71. <https://doi.org/10.3325/cmj.2014.55.669>
11. Ball P. What is an embryo? Scientists say definition needs to change. *Nature.* 2023; 620(7976):928-9. <https://doi.org/10.1038/d41586-023-02641-2>
12. Steptoe PC, Edwards RG, Purdy JM. Human blastocysts grown in culture. *Nature.* 1971; 229(5280):132-3. <https://doi.org/10.1038/229132a0>
13. Wamaitha SE, Niakan KK. Human Pre-gastrulation Development. *Curr Top Dev Biol.* 2018; 128:295-338. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2017.11.004>
14. Shahbazi MN, Jedrusik A, Vuoristo S, Recher G, Hupalowska A, Bolton V, et al. Self-organisation of the human embryo in the absence of maternal tissues. *Nat Cell Biol.* 2016; 18(6):700-8. <https://doi.org/10.1038/ncb3347>
15. Braude P, Bolton V, Moore S. Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development. *Nature.* 1988; 332(6163):459-61. <https://doi.org/10.1038/332459a0>

16. Molè MA, Weberling A, Zernicka-Goetz M. Comparative analysis of human and mouse development: From zygote to pre-gastrulation. *Curr Top Dev Biol.* 2020; 136:113-38. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2019.10.002>
17. Meistermann D, Bruneau A, Loubersac S, Reignier A, Firmin J, François-Campion V, et al. Integrated pseudotime analysis of human pre-implantation embryo single-cell transcriptomes reveals the dynamics of lineage specification. *Cell Stem Cell.* 2021; 28(9):1625-1640.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.04.027>
18. Weatherbee BAT, Cui T, Zernicka-Goetz M. Modeling human embryo development with embryonic and extra-embryonic stem cells. *Dev Biol.* 2021; 474:91-9. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2020.12.010>
19. Müller F, O'Rahilly R. The primitive streak, the caudal eminence and related structures in staged human embryos. *Cells Tissues Organs.* 2004; 177(1):2-20. <https://doi.org/10.1159/000078423>
20. Amadei G, Handford CE, Qiu C, De Jonghe J, Greenfeld H, Tran M. Embryo model completes gastrulation to neurulation and organogenesis. *Nature.* 2022; 610(7930):143-53. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05246-3>
21. Sozen B, Conkar D, Veenvliet JV. Carnegie in 4D? Stem-cell-based models of human embryo development. *Semin Cell Dev Biol.* 2022; 131:44-57. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.05.023>
22. Deglincerti A, Croft GF, Pietila LN, Zernicka-Goetz M, Siggia ED, Brivanlou AH. Self-organization of the in vitro attached human embryo. *Nature.* 2016; 533(7602):251-4. <https://doi.org/10.1038/nature17948>
23. Rivron N, Pera M, Rossant J, Martinez Arias A, Zernicka-Goetz M, Fu J. Debate ethics of embryo models from stem cells. *Nature.* 2018; 564(7735):183-5. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-07663-9>
24. Moris N, Alev C, Pera M, Martinez Arias A. Biomedical and societal impacts of in vitro embryo models of mammalian development. *Stem Cell Rep.* 2021; 16(5):1021-30. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.03.023>
25. O'Rahilly R, Müller F. Developmental stages in human embryos: revised and new measurements. *Cells Tissues Organs.* 2010; 192(2):73-84. <https://doi.org/10.1159/000289817>
26. Pera MF, Trounson AO. Human embryonic stem cells: prospects for development. *Dev Camb Engl.* 2004; 131(22):5515-25. <https://doi.org/10.1242/dev.01451>
27. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006; 126(4):663-76. Disponible en: [https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674\(06\)00976-7](https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674(06)00976-7)
28. Pullicino P, Richard EJ, Burke WJ. Mass Production of Human Embryoid Cells from Developmentally Frozen Embryos: Is It Ethical? *Linacre Q.* 2020; 87(3):347-50. <https://doi.org/10.1177/0024363920926013>
29. Fu J, Warmflash A, Lutolf MP. Stem-cell-based embryo models for fundamental research and translation. *Nat Mater.* 2021; 20(2):132-44. <https://doi.org/10.1038/s41563-020-00829-9>
30. Shahbazi MN, Siggia ED, Zernicka-Goetz M. Self-organization of stem cells into embryos: A window on early mammalian development. *Science.* 2019; 364(6444):948-51. <https://doi.org/10.1126/science.aax0164>

31. Kagawa H, Javali A, Khoei HH, Sommer TM, Sestini G, Novatchkova M. Human blastoids model blastocyst development and implantation. *Nature*. 2022; 601(7894):600-5. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04267-8>
32. Matthews KRW, Wagner DS, Warmflash A. Stem cell-based models of embryos: The need for improved naming conventions. *Stem Cell Rep*. 2021; 16(5):1014-20.
33. Warmflash A, Sorre B, Etoc F, Siggia ED, Brivanlou AH. A method to recapitulate early embryonic spatial patterning in human embryonic stem cells. *Nat Methods*. 2014; 11(8):847-54. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.02.018>
34. Aach J, Lunshof J, Iyer E, Church GM. Addressing the ethical issues raised by synthetic human entities with embryo-like features. *eLife*. 2017; 6:e20674. <https://doi.org/10.7554/eLife.20674>
35. Warmflash A. Synthetic Embryos: Windows into Mammalian Development. *Cell Stem Cell*. 2017; 20(5):581-2. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.04.001>
36. Oldak B, Wildschutz E, Bondarenko V, Comar MY, Zhao C, Aguilera-Castrejon A, et al. Complete human day 14 post-implantation embryo models from naive ES cells. *Nature*. 2023; 622(7983):562-73. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06604-5>
37. Turner DA, Girgin M, Alonso-Crisostomo L, Trivedi V, Baillie-Johnson P, Glodowski CR, et al. Anteroposterior polarity and elongation in the absence of extra-embryonic tissues and of spatially localised signalling in gastruloids: mammalian embryonic organoids. *Dev Camb Engl*. 2017; 144(21):3894-906. <https://doi.org/10.1242/dev.150391>
38. van den Brink SC, Baillie-Johnson P, Balayo T, Hadjantonakis AK, Nowotschin S, Turner DA, et al. Symmetry breaking, germ layer specification and axial organisation in aggregates of mouse embryonic stem cells. *Dev Camb Engl*. 2014; 141(22):4231-42. <https://doi.org/10.1242/dev.113001>
39. Simunovic M, Brivanlou AH. Embryoids, organoids and gastruloids: new approaches to understanding embryogenesis. *Dev Camb Engl*. 2017; 144(6):976-85. <https://doi.org/10.1242/dev.143529>
40. Zeevaert K, Elsafi Mabrouk MH, Wagner W, Goetzke R. Cell Mechanics in Embryoid Bodies. *Cells*. 2020; 9(10):2270. <https://doi.org/10.3390/cells9102270>
41. Veenvliet JV, Bolondi A, Kretzmer H, Haut L, Scholze-Wittler M, Schifferl D, et al. Mouse embryonic stem cells self-organize into trunk-like structures with neural tube and somites. *Science*. 2020; 370(6522):eaba4937. <https://doi.org/10.1101/2020.03.04.974949>
42. Zheng Y, Xue X, Shao Y, Wang S, Esfahani SN, Li Z, et al. Controlled modelling of human epiblast and amnion development using stem cells. *Nature*. 2019; 573(7774):421-5. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1535-2>
43. Wang X, Hu G. Human embryos in a dish – modeling early embryonic development with pluripotent stem cells. *Cell Regen*. 2022; 11:4. <https://doi.org/10.1186/s13619-022-00107-w>
44. Cornwall-Scoones J, Zernicka-Goetz M. Unifying synthetic embryology. *Dev Biol*. 2021; 474:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2021.03.007>
45. Sozen B, Amadei G, Cox A, Wang R, Na E, Czukiewska S, et al. Self-assembly of embryonic and two extra-embryonic stem cell types into gastrulating embryo-like

- structures. *Nat Cell Biol.* 2018; 20(8):979-89. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0147-7>
46. Moris N, Anlas K, van den Brink SC, Alemany A, Schröder J, Ghimire S, et al. An in vitro model of early anteroposterior organization during human development. *Nature.* 2020; 582(7812):410-5. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2383-9>
47. Baillie-Benson P, Moris N, Martinez Arias A. Pluripotent stem cell models of early mammalian development. *Curr Opin Cell Biol.* 2020; 66:89-96. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.05.010>
48. Bayerl J, Ayyash M, Shani T, Manor YS, Gafni O, Massarwa R. Principles of signaling pathway modulation for enhancing human naive pluripotency induction. *Cell Stem Cell.* 2021; 28(9):1549-1565.e12. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.04.001>
49. Oh SY, Na SB, Kang YK, Do JT. In Vitro Embryogenesis and Gastrulation Using Stem Cells in Mice and Humans. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(17):13655. <https://doi.org/10.3390/ijms241713655>
50. Wilson D. Creating the ethics industry: Mary Warnock, in vitro fertilization and the history of bioethics in Britain. *BioSocieties.* 2011; 6(2):121-41. <https://doi.org/10.1057/biosoc.2010.26>
51. Cavaliere G. A 14-day limit for bioethics: the debate over human embryo research. *BMC Med Ethics.* 2017; 18(1):38. <https://doi.org/10.1186/s12910-017-0198-5>
52. Pera MF. Human embryo research and the 14-day rule. *Dev Camb Engl.* 2017; 144(11):1923-5. <https://doi.org/10.1242/dev.151191>
53. McLaren. Where to draw the line. *P Roy Inst* [Internet]. 1984 [citado 9 de abril de 2023]. Disponible en: https://scholar.google.com/scholar_lookup?journal=P+Roy+Inst&title=Where+to+draw+the+line&author=A+McLaren&volume=56&publication_year=1984&pages=101-121&
54. Hengstschläger M, Rosner M. Embryoid research calls for reassessment of legal regulations. *Stem Cell Res Ther.* 2021; 12(1):356. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02442-2>
55. Matthews KR, Moralí D. National human embryo and embryoid research policies: a survey of 22 top research-intensive countries. *Regen Med.* 2020; 15(7):1905-17. <https://doi.org/10.2217/rme-2019-0138>
56. Fabbri M, Ginoza M, Assen L, Jongsma K, Isasi R. Modeling policy development: examining national governance of stem cell-based embryo models. *Regen Med.* 2023; 18(2):155-68. <https://doi.org/10.2217/rme-2022-0136>
57. Rossant J, Fu J. Why researchers should use human embryo models with caution. *Nature.* 2023; 622(7983):454-6. <https://doi.org/10.1038/d41586-023-03062-x>
58. Pera MF, de Wert G, Dondorp W, Lovell-Badge R, Mummery CL, Munsie M, et al. What if stem cells turn into embryos in a dish? *Nat Methods.* 2015; 12(10):917-9. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3586>
59. Nicolas P, Etoc F, Brivanlou AH. The ethics of human-embryoids model: a call for consistency. *J Mol Med Berl Ger.* 2021; 99(4):569-79. <https://doi.org/10.1007/s00109-021-02053-7>
60. Cortina A. Las fronteras de la persona: el valor de los animales, la dignidad de los humanos. Madrid: TAURUS; 2009.

61. De Lora P. Justicia para los animales La ética más allá de la humanidad. Madrid: Alianza Editorial; 2003.
62. Singer, Casal. Los derechos de los simios. Editorial Trotta; 2022.
63. Singer P. Liberación animal El clásico definitivo del movimiento animalista. Taurus; 2018. 3
64. Sawai T, Akatsuka K, Okui G, Minakawa T. The regulation of human blastoid research: A bioethical discussion of the limits of regulation. *EMBO Rep.* 2022; 23(10):e56045. <https://doi.org/10.15252/embr.202256045>
65. Lovell-Badge R. Stem-cell guidelines: why it was time for an update. *Nature.* 2021; 593(7860):479-479. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-01387-z>
66. ISSCR. Guidelines for Stem Cell Research and Clinical Translation [Internet]. ISSCR; 2021 [citado 9 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.isscr.org/guidelines>
67. Clark AT, Brivanlou A, Fu J, Kato K, Mathews D, Niakan KK. Human embryo research, stem cell-derived embryo models and in vitro gametogenesis: Considerations leading to the revised ISSCR guidelines. *Stem Cell Rep.* 2021; 16(6):1416-24. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.05.008>
68. Savulescu J, Pugh J, Douglas T, Gyngell C. The moral imperative to continue gene editing research on human embryos. *Protein Cell.* 2015; 6(7):476-9. <https://doi.org/10.1007/s13238-015-0184-y>
69. Harris J. It's time to extend the 14-day limit for embryo research. *The Guardian* [Internet]. 2016 [citado 1 de abril de 2023]; Disponible en: <https://www.theguardian.com/commentisfree/2016/may/06/extend-14-day-limit-embryo-research>
70. Carbonell M, editor. El principio de proporcionalidad y la interpretación constitucional. [Internet]. V&M Gráficas. Quito; 2008. (Justicia y Derechos Humanos.). Disponible en: <https://biblioteca.corteidh.or.cr/tablas/25613.pdf>
71. Martínez M de la LC. El principio de proporcionalidad terapéutica. *Cir Plast* [Internet]. [citado 7 de julio de 2023]; Disponible en: https://www.academia.edu/22304328/EL_PRINCIPIO_DE_PROPORCIONALIDAD_TERAP%C3%89UTICA
72. Pennings G, Van Steirteghem A. The subsidiarity principle in the context of embryonic stem cell research. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2004; 19(5):1060-4. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh142>
73. Sandel MJ. Embryo ethics--the moral logic of stem-cell research. *N Engl J Med.* 2004; 351(3):207-9. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh142>
74. Freeman JS. Arguing along the slippery slope of human embryo research. *J Med Philos.* 1996; 21(1):61-81. <https://doi.org/10.1093/jmp/21.1.61>
75. Munthe C. *The Price of Precaution and the Ethics of Risk.* Springer Science & Business Media; 2011.
76. Denker HW. Embryonale Stammzellforschung: Aufklärung notwendig. Problematik der informierten Zustimmung der Spender. *Dtsch Arztebl.* 2005; 102:A892-3. Disponible en: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/46117/Embryonale-Stammzellforschung-Aufklaerung-notwendig>
77. Denker HW. Autonomy in the Development of Stem Cell-Derived Embryoids: Sprouting Blastocyst-Like Cysts, and Ethical Implications. *Cells.* 2021; 10(6):1461. <https://doi.org/10.3390/cells10061461>

78. Mollaki V. Ethical Challenges in Organoid Use. *BioTech*. 2021; 10(3):12. <https://doi.org/10.3390/biotech10030012>
79. Yui H, Muto K, Yashiro Y, Watanabe S, Kiya Y, Kamisato A, et al. Comparison of the 2021 International Society for Stem Cell Research (ISSCR) guidelines for «laboratory-based human stem cell research, embryo research, and related research activities» and the corresponding Japanese regulations. *Regen Ther*. 2022; 21:46-51. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2022.05.002>
80. NHMRC Embryo Research Licensing Committee. NHMRC statement on iBlastoids [Internet]. Australia: NHMRC; 2021 [citado 11 de abril de 2023]. 2021. Disponible en: <https://www.nhmrc.gov.au/about-us/news-centre/nhmrc-statement-iblastoids>
81. De Miguel B. Intervenciones en gametos, embriones o fetos. *Manual de Bioderecho* [Internet]. Madrid: Dykinson. 2022; 1-1080. Disponible en: <https://www.dykinson.com/>
82. Jefatura del Estado. Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida [Internet]. Sec. 1, Ley 14/2006 may 27. 2006; 19947-56. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/l/2006/05/26/14>
83. Jefatura del Estado. Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos [Internet]. Sec. 1, Real Decreto-ley 9/2014. 2014; 52716-63. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/rdl/2014/07/04/9>
84. Romeo Casabona. Ley de Investigación Biomédica: un nuevo y completo mapa para la investigación científica en biomedicina. *Med Clínica*. 2009; 132(16):633-7.
85. BOE-A-2006-9292 Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. [Internet]. 2006. Disponible en: <https://boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2006-9292>
86. Jefatura del Estado. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica [Internet]. Sec. 1, Ley 14/2007. 2007; 28826-48. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/l/2007/07/03/14>
87. El embrioides y sus leyes. Una breve aproximación al contexto internacional | *Revista de Bioética y Derecho*. 2023 [citado 27 de enero de 2024]. Disponible en: <https://revistes.ub.edu/index.php/RBD/article/view/42742>
88. Ministerio de Sanidad y Consumo. Real Decreto 2132/2004, de 29 de octubre, por el que se establecen los requisitos y procedimientos para solicitar el desarrollo de proyectos de investigación con células troncales obtenidas de preembriones sobrantes [Internet]. Sec. 1, Real Decreto 2132/2004. 2004; 35905-7. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/rd/2004/10/29/2132>

Esta obra está bajo licencia internacional Creative Commons Reconocimiento-No-Comercial-CompartirIgual 4.0.

