

CMIEET

**Comité Científico Multidisciplinar para la Investigación en
Encefalopatías Espongiformes Transmisibles**

Ministerio de Ciencia y Tecnología

OPINIÓN CIENTÍFICA SOBRE:

***BANCOS DE TEJIDOS Y MUESTRAS NEUROLÓGICAS DE PROCEDENCIA
HUMANA***

**Adoptada por el CMIEET (Subcomité de Bancos de Tejidos de Procedencia
Humana) en su reunión celebrada en Madrid, el 9 de Octubre de 2001**

Nota:

El Subcomité de Bancos de Tejidos de Procedencia Humana del CMIEET ha elaborado este documento basándose, por lo que se refiere a cuestiones procedimentales, en el examen y discusión de datos publicados en revistas científicas. Así mismo, se han tenido en cuenta otros aspectos, tales como la legislación pertinente, las estructuras existentes relacionadas con los futuros Bancos de Tejidos y las previsiones de necesidades de muestras biológicas para la comunidad científica.

En todo caso, se hace notar que las opiniones vertidas por el CMIEET no vinculan necesariamente al Ministerio de Ciencia y Tecnología.

ÍNDICE

	Página
I. Introducción: concepto, funciones y actividad de los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas	3
II. Protocolo de donación, procesamiento del material y diagnóstico	7
II.1. Registro del donante y seguimiento clínico	7
II.2. Consentimiento informado y obligaciones legales	7
II.3. Casos de consulta	7
II.4. Bases de datos: estructura y confidencialidad	8
II.5. Procedimiento de actuación postmortem	8
II.6. Traslado del cadáver al centro de extracción	8
II.7. Extracción del sistema nervioso central: protocolos de procesamiento	9
II.8. Protocolos de tallado: toma de muestras	11
II.9. Formas de procesamiento de tejido	12
II.10. Archivo del material: muestras disponibles	12
II.11. Técnicas histológicas	13
II.12. Diagnóstico neuropatológico	13
II.13. Tejido de control: origen y definición	14
III. Aspectos éticos y legales	14
III.1. Aspectos éticos relacionados con la actividad de los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas	14
III.2. Normativa legal aplicable en España	15
IV. Normas de bioseguridad	16
IV.1. Medidas generales de bioseguridad	16
IV.2. Medidas especiales de bioseguridad en casos de sospecha de EETH	16
V. Solicitud y cesión de muestras	19
V.1. Formato de solicitud: información requerida	19
V.2. Decisión de cesión de material: criterios e instancias	19
V.3. Responsabilidad del investigador	19
VI. Recursos necesarios y vías de financiación	20
VII. Parámetros de calidad de los Bancos	21
VIII. Laboratorios de diagnóstico molecular: procedimientos específicos como Bancos de Muestras Neurológicas	22
IX. Consideraciones finales: hacia una coordinación de los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas en España	23
X. Conclusiones	24
XI. Bibliografía citada	26
Anexo I. Banco de Tejidos y Muestras Neurológicas existentes en España	27
Anejo II. Redes diagnósticas de encefalopatías espongiformes transmisibles Humanas	29

I. INTRODUCCIÓN: CONCEPTO, FUNCIONES Y ACTIVIDAD DE LOS BANCOS DE TEJIDOS Y MUESTRAS NEUROLÓGICAS

Los Bancos de muestras biológicas pueden definirse en general como “sistemas que almacenan uno o más tipos de muestras biológicas para su posterior análisis mediante uno o múltiples tipos de estudio, y lo hacen en condiciones que permiten una recuperación eficaz y una estabilidad óptima de las muestras” (1).

En lo que sigue, emplearemos el término de “Banco de Tejidos y Muestras Neurológicas” para designar conjuntamente a los Bancos de Cerebros y a los Bancos de muestras neurológicas, entendidos estos últimos básicamente como Bancos de líquidos biológicos. El término de “Banco de Cerebros” hará referencia exclusivamente a los centros cuya actividad se basa fundamentalmente en cerebros postmortem. Este tipo de material, como se verá, requiere unos protocolos de actuación y manejo específicos y más elaborados. No obstante, con frecuencia los Bancos de Cerebros mantienen en sus archivos, además de cerebros postmortem, otro tipo de material, como biopsias cerebrales, de músculo y nervio periférico, y muestras de sangre y líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes donantes del Banco. Por su parte, los Bancos de líquidos biológicos procedentes de pacientes neurológicos, a los que nos referiremos específicamente como “Bancos de muestras neurológicas” pueden estar incorporados en Bancos de Cerebros o coordinados con ellos. Al tratar de las cuestiones que afectan por igual a los Bancos de Cerebros y a los Bancos de Muestras Neurológicas, nos referiremos, pues, en conjunto, a los “Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas”.

Los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas tienen como funciones básicas el diagnóstico y la investigación, y, al igual que otros Bancos de Tejidos para investigación, se diferencian esencialmente de los Bancos incluidos en programas de trasplante. Este rasgo diferencial determina el contexto ético y legal, así como el marco clínico-asistencial en el que actúan los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas. Así, mientras que nuestro país tiene una de las legislaciones más avanzadas en cuanto a regulación de la obtención y cesión de tejidos para trasplante, carece de una normativa legal específica para la obtención y cesión de tejidos para investigación.

Desde hace casi medio siglo, los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas se han constituido, en Europa y Norteamérica principalmente, en una pieza esencial para la investigación básica y aplicada en Neurociencias, y, especialmente, en enfermedades neurodegenerativas. Sobre la base del material depositado y archivado en ellos se han realizado las aportaciones más significativas al conocimiento y al tratamiento de estas enfermedades (por citar algunos ejemplos señeros: el déficit de dopamina en la E. de Parkinson, el déficit colinérgico en la E. de Alzheimer, las bases moleculares de la E. de Alzheimer, la base genética de la E. de Huntington) (2-4). Estudiando directamente tejido humano pueden conocerse en detalle las alteraciones moleculares y celulares que condicionan cada patología, y pueden trasladarse al contexto humano los hallazgos obtenidos en modelos experimentales animales o *in vitro*. Cualquier búsqueda bibliográfica que se haga hoy en relación con patología neurodegenerativa humana, al igual que sobre enfermedades heredo-degenerativas y otras enfermedades neurológicas o psiquiátricas, como esclerosis múltiple o esquizofrenia, pone de manifiesto que prácticamente la totalidad de la investigación realizada sobre tejido humano está basada actualmente en material procedente de Bancos de Cerebros. A lo largo de las últimas décadas, en diversos países se han ido desarrollado Bancos, bien monográficos, en relación con una patología o un grupo de patologías determinado, o bien, con más

frecuencia, generales, que reciben tejido de cualquier patología neurológica o psiquiátrica.

La actividad de los Bancos de Cerebros se basa en la donación de tejido por parte de pacientes con enfermedades neurológicas o sus familiares (en demencias), y por parte de individuos sanos (controles), lo que garantiza que tras su fallecimiento, este material va a quedar disponible para los investigadores que necesiten trabajar con él. Un criterio básico de actuación de un Banco es la aceptación de toda solicitud de tejido siempre que el proyecto de investigación al que va destinado reúna unas condiciones suficientes de calidad y ética científicas. En la captación de donantes tienen un papel fundamental los neurólogos clínicos y las Asociaciones de Autoayuda surgidas en torno a distintas enfermedades neurológicas crónicas (asociaciones de pacientes y de familiares). Estas asociaciones empiezan a tener en nuestro país una presencia y una influencia similar a la de otros países europeos.

Un Banco de Tejidos y Muestras Neurológicas constituye, pues, un foco de integración de la actividad investigadora que condiciona de forma significativa la actividad de los grupos de pacientes y familiares, de neurólogos, psiquiatras, neuropatólogos e investigadores básicos de una comunidad social y científica determinada. De hecho, tanto en nuestro país como en otros, la creación de un Banco de Cerebros ha supuesto en todos los casos un revulsivo y un nuevo impulso y potencial investigador para la comunidad científica a él vinculada, así como una fuente de estímulo y esperanza para los pacientes y sus familias.

El material recibido se procesa de acuerdo con unos protocolos muy similares en todos los Bancos, que garantizan la obtención de un diagnóstico neuropatológico definitivo en parte del tejido, así como el archivo del resto del material en distintas condiciones de conservación (distintos protocolos de fijación, congelación, etc.), que permiten utilizarlo durante muchos años aplicando las técnicas de investigación disponibles en cada momento (5). Una clave de la utilidad de los Bancos de Cerebros está, pues, en la posibilidad de emplear distintos tipos de muestras de tejido neural en el que se ha establecido un diagnóstico neuropatológico definitivo.

El material archivado en los Bancos de Cerebros durante décadas ha hecho posible el estudio de series amplias de casos que han permitido, además de los estudios básicos mencionados, el establecimiento de criterios de consenso para el diagnóstico clínico y neuropatológico de las principales enfermedades neurodegenerativas. Este ha sido el caso, p. ej. de los criterios actuales para el diagnóstico clínico y patológico de la E. de Alzheimer, la E. de Parkinson, la Demencia con cuerpos de Lewy, la Enfermedad de la neurona motora, la Parálisis supranuclear progresiva, etc. (5, 6).

La infraestructura material y organizativa de los Bancos de Cerebros ha permitido la creación de archivos, no sólo de tejido neural obtenido postmortem, sino, además, de biopsias (de tejidos neurológicos y extraneurales) y de muestras de LCR, sangre y DNA. A ello ha contribuido muy significativamente la creciente posibilidad de realizar tests de diagnóstico molecular sobre estas muestras y, en consecuencia, el desarrollo de Laboratorios específicos de Diagnóstico Molecular. Estos laboratorios han constituido el germen de los Bancos de muestras biológicas procedentes de pacientes neurológicos (Bancos de Muestras Neurológicas), que en este momento aparecen incorporados o vinculados a los Bancos de Cerebros en sentido estricto. En condiciones ideales, pues, el material clínico y biológico referente a un caso neurológico, depositado en un Banco de Tejidos y Muestras Neurológicas, permite disponer de toda la información clínica,

neuropatológica y molecular de ese paciente, tanto para establecer el diagnóstico de la patología particular de ese caso, como para su uso en investigación.

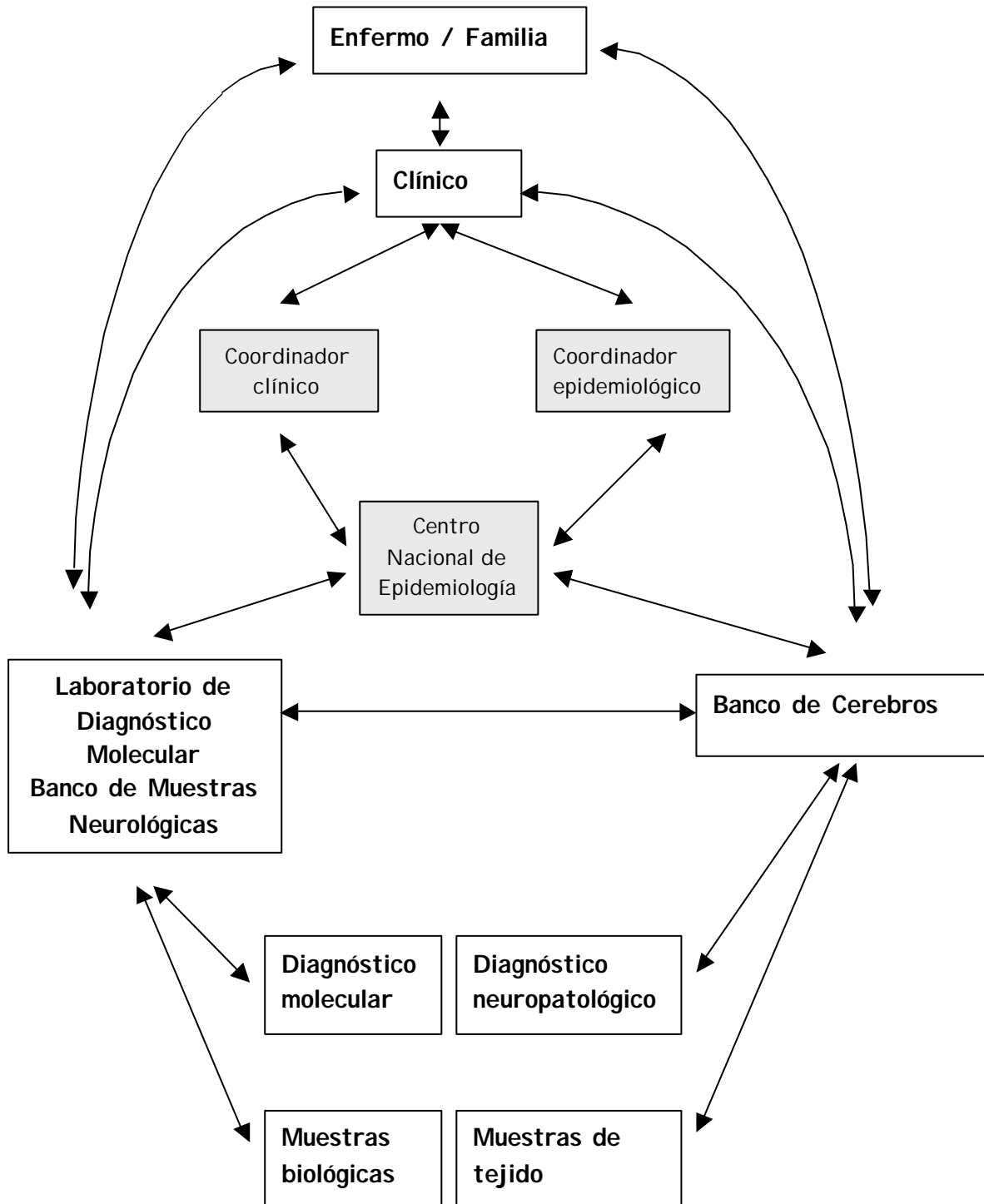
Los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas deben disponer de una infraestructura de recursos humanos, materiales y organizativos que garantice una total eficacia en la compleja serie de procesos que se inicia con la incorporación del donante a la base de datos del Banco, y concluye con la cesión de material a los investigadores. Ello implica, en las primeras horas inmediatas al fallecimiento del paciente, el traslado del cadáver al centro sanitario más adecuado (en términos geográficos y horarios) para la extracción del cerebro, y el correcto procesamiento del tejido de acuerdo con el protocolo del Banco. Para ello, el Banco debe disponer de un número suficiente de arcones congeladores, que permitan mantener el material congelado durante periodos prolongados, y de un Laboratorio de Neuropatología que pueda realizar todo el panel de técnicas (convencionales, especiales, neurohistológicas, inmunohistoquímicas, etc.) que requieren los criterios diagnósticos actuales. Es conveniente, además, que el Banco disponga de un laboratorio de patología molecular que permita clasificar los casos, además, en función de sus resultados (7). La gestión de las solicitudes de tejido para investigación requiere también unos procedimientos específicos que garanticen una respuesta ágil y adecuada ante las solicitudes por parte del Banco, y un buen uso del material por parte de los investigadores.

En condiciones ideales, un sistema óptimo de Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas, en un país como el nuestro, con una elevada producción científica en Neurociencias, debería garantizar un circuito de muestras que redujera al mínimo las pérdidas de casos útiles, y una disponibilidad universal de material a la medida del potencial investigador real del país.

Tanto en Europa como en Norteamérica, el rendimiento científico de los Bancos de Cerebros se ha incrementado con su integración en redes que han permitido la homogeneidad de procedimientos y criterios de actuación, así como la posibilidad para los investigadores de obtener un alto número de muestras de tejido, tanto de patologías frecuentes como infrecuentes. La Red Europea de Bancos de Cerebros fue promovida por una Acción Concertada de la Comunidad Europea, y, entre otros resultados, ha generado unos criterios comunes de diagnóstico neuropatológico de las distintas entidades (6). La Red Americana de Bancos de Cerebros ha permitido unificar las bases de datos de sus miembros (8). Una noción actualizada de las dimensiones de estas redes puede obtenerse en la página web de la Red Norteamericana (www.brainbanks.org), que en este momento registra 54 Bancos en EE.UU., 2 en Canadá, y 18 en Europa (8 de ellos en el Reino Unido).

Las encefalopatías espongiiformes transmisibles humanas (EETH) son enfermedades neurodegenerativas de baja incidencia que requieren un apoyo molecular al diagnóstico (con confirmación diagnóstica en los casos genéticos), y confirmación diagnóstica mediante examen neuropatológico postmortem. Al igual que en otras enfermedades neurodegenerativas (de origen genético o esporádico), la actividad diagnóstica se realiza sobre muestras y tejidos que, debidamente conservados, clasificados y archivados, pueden ser utilizados posteriormente para investigación. De hecho, en muchos países, y también en el nuestro, el diagnóstico, la vigilancia epidemiológica y la investigación básica de este grupo de enfermedades se encuentra vinculada a Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas.

El siguiente esquema ilustra la complejidad de las relaciones existentes entre todos los elementos del sistema. En el inicio del proceso se encuentran los propios pacientes y sus familias, que son seguidos por los clínicos conforme a protocolos consensuados y establecidos. Como resultado de los distintos procesos se obtienen diagnósticos o apoyo analítico a diagnósticos, así como archivos de muestras biológicas procedentes de los pacientes estudiados. Los cuadros rayados indican los procesos de transmisión de información que son específicos del sistema nacional de vigilancia de las EETH, que implican la existencia de coordinadores clínicos y epidemiológicos en las Comunidades Autónomas, en permanente contacto con el Centro Nacional de Epidemiología (Instituto de Salud Carlos III), sede del Registro Nacional de las EETH.



II. PROTOCOLOS DE DONACIÓN, PROCESAMIENTO DEL MATERIAL Y DIAGNÓSTICO

II.1. Registro del donante y seguimiento clínico

Generalmente, el paciente recibe la información sobre la posibilidad de convertirse en donante de cerebros a partir de una Asociación de pacientes y familiares, o bien directamente a partir de su médico. Una vez mostrada su voluntad de incorporarse al programa del Banco de Cerebros, todo donante queda registrado en una base de datos e incluido en un protocolo de diagnóstico y seguimiento clínicos por parte del clínico con arreglo a criterios de consenso internacionales. Cada patología incluye un protocolo específico adoptado de forma consensuada por los neurólogos clínicos que colaboran con el Banco.

El protocolo de diagnóstico y seguimiento clínico implica la obtención de muestras de LCR y sangre y su archivo como material de diagnóstico e investigación en el Banco (como Banco de Muestras Neurológicas o como Banco de Tejidos y Muestras Neurológicas).

La relación entre el Banco y sus donantes implica la elaboración de información científica actualizada dirigida a los pacientes, sus familias y a las Asociaciones de familiares y pacientes, así como la celebración de jornadas de puertas abiertas.

II.2. Consentimiento informado y obligaciones legales

El paciente donante o sus familiares quedan vinculados al Banco a través de un documento firmado (carnet de donante) que recoge sus datos personales, así como los datos del Banco.

Se dispone de protocolos de consentimiento informado para las pruebas específicas de diagnóstico que lo requieren, y en particular para el estudio genético de los casos.

Como donatario del tejido o de la muestra biológica, el Banco se compromete a estudiarlo desde el punto de vista diagnóstico, a informar sobre el diagnóstico definitivo, y se responsabiliza de la conservación del tejido a largo plazo y de su buen uso científico.

Los familiares del donante podrán conocer en todo momento, si así lo solicitan, en qué proyectos de investigación se ha utilizado el material donado.

II.3. Casos de consulta

Los Bancos de Cerebros disponen en sus archivos, además de material procedente de donación, de abundante tejido procedente de consultas diagnósticas. Se trata en estos casos de material obtenido de autopsias clínicas o forenses para diagnóstico postmortem, y susceptible de ser utilizado en investigación de acuerdo con lo que establece la Ley de Autopsias Clínicas.

II.4. Bases de datos: estructura y confidencialidad

Las bases de datos de los Bancos deben recoger exhaustivamente, además de datos personales de filiación del donante y de personas de contacto, datos sobre los siguientes aspectos:

- Diagnóstico y seguimiento clínicos. Neurólogo o neurólogos responsables del caso, identificación del Centro y teléfonos de contacto
- Tipos de muestra obtenidos (sangre, LCR, SNC postmortem, biopsia, etc.).
- Datos clínicos sobre el fallecimiento y evolución clínica final del paciente (diagnósticos clínicos, tratamiento farmacológico, etc)
- Datos sobre el período postmortem previo a la extracción del SNC (tiempo total, tiempo de cámara, etc.)
- Datos sobre el estudio neuropatológico, el patólogo y el diagnóstico definitivo del caso
- Datos sobre el tipo de muestras disponibles para investigación (material fijado, congelado, etc.)
- Información sobre el destino de las muestras y los grupos de investigación que las utilizan.

Todos los datos contenidos en estas bases deben ser empleados con absoluta confidencialidad, y el acceso a ellas, siempre por un número limitado de personas, debe estar sometido a los correspondientes controles informáticos.

II.5. Procedimiento de actuación postmortem

Inmediatamente después del fallecimiento del paciente, y de acuerdo con las indicaciones que se les han dado, los familiares se ponen en contacto con el Banco a través de su teléfono de 24h. El personal del Banco registra entonces todos los datos necesarios para planificar la extracción del SNC: datos personales del donante, datos del familiar de contacto, teléfonos de contacto durante el proceso de extracción, diagnóstico clínico, neurólogo responsable, datos sobre la evolución final, hora y lugar del fallecimiento.

A continuación, se determina el centro en el que se extraerá el SNC, en función de la ubicación actual del cadáver y la disponibilidad horaria y de personal de los centros hospitalarios más próximos, en el caso de que el paciente no haya fallecido en un hospital. La autopsia se realizará siempre en un centro hospitalario (la mayoría de las veces) o en un Instituto Anatómico Forense. Una de las tareas esenciales del Banco es mantener una coordinación estrecha con todos los posibles centros de extracción, y conocer su disponibilidad horaria.

Durante estas primeras horas tras el fallecimiento del paciente, la comunicación debe ser muy fluida entre los familiares, el Banco y los posibles centros de extracción, con el fin de ofrecer a los familiares un proceso de extracción rápido y sencillo, que no suponga una excesiva demora para ellos.

II.6. Traslado del cadáver al centro de extracción

Previamente al traslado se obtendrá el certificado de defunción, que deberá estar firmado por un médico antes de continuar el proceso.

Una vez decidido por el Banco el hospital en el que será extraído el SNC, y una vez acordado el protocolo de extracción con los patólogos de ese hospital, se obtiene la autorización de ingreso del cadáver en el hospital, concedida por el Director Asistencial o, fuera del horario laboral, por el Jefe de la Guardia o el Jefe de Hospital.

El traslado del cadáver lo realiza la Empresa Funeraria con la que se haya puesto en contacto la familia. Es conveniente una comunicación fluida entre el Banco y la Funeraria con el fin de que ésta reciba unas instrucciones claras y precisas sobre el procedimiento a seguir. La Empresa Funeraria podrá exigir un compromiso documental del Banco sobre el traslado del cadáver.

II.7. Extracción del sistema nervioso central: protocolos de procesamiento

En función de las características logísticas del caso (lugar de fallecimiento, lugar de extracción, patología específica sospechada, etc.), de la presencia o no de un neuropatólogo concertado con el Banco en el centro de extracción, y de las infraestructuras locales disponibles (sistemas de congelación, medidas de bioseguridad, etc.), se adaptará el protocolo de actuación estándar del Banco. En caso necesario, y si ello es posible geográficamente, se desplazará un patólogo del Banco al lugar de extracción para colaborar directamente en el procedimiento. En todos los casos el objetivo será, en las circunstancias propias de cada caso, lograr el máximo nivel de procesamiento de material, esto es, obtener tejido congelado en condiciones óptimas.

De acuerdo con la normativa vigente (Ley de Autopsias Clínicas de 28 de junio, 1980), la autopsia sólo podrá realizarse mediante autorización expresa y documental de un familiar del paciente fallecido, y con las limitaciones que en dicho documento establezca el familiar. Sólo en caso de interés para la Salud Pública es posible realizar, por mandato judicial, una autopsia sin autorización familiar.

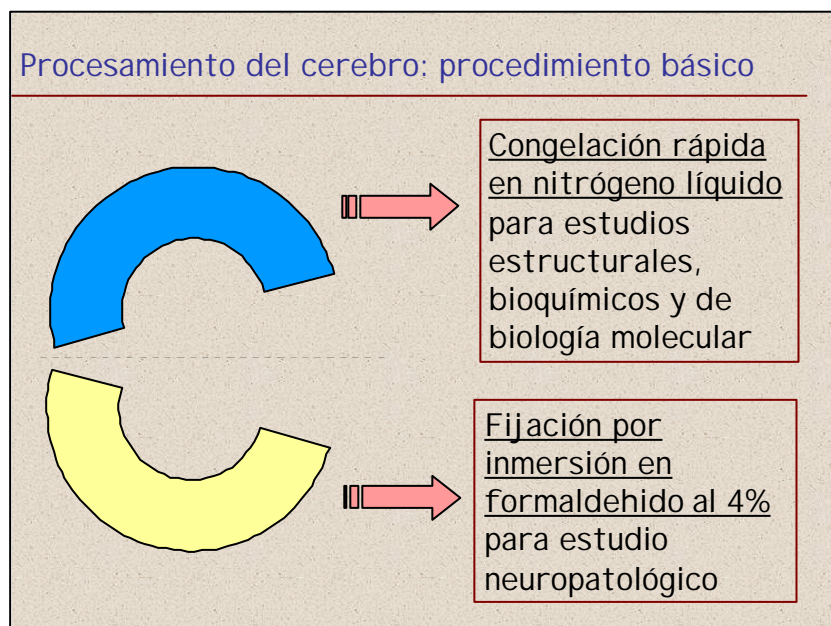
El protocolo de extracción está condicionado en primer lugar por las normas de bioseguridad aplicables a cada caso. La extracción del cerebro se realizará siempre en una sala de autopsias, y en ella participará personal entrenado que conozca las medidas de bioseguridad que se aplican a este procedimiento. Siempre que exista una sospecha clínica de EETH, se aplicarán las recomendaciones en vigor en relación con las prácticas clínicas y postmortem en relación con estas patologías (10). En el Apartado IV se recogen las normas y recomendaciones actualmente en vigor en nuestro país, así como las recogidas en Guías internacionales.

En segundo lugar, el protocolo de extracción debe tomar en consideración la sospecha clínica del caso y el tipo de muestras necesarias para diagnóstico e investigación. En la mayoría de los casos es necesario encontrar un equilibrio entre la necesidad de proceder rápidamente, en beneficio de la familia, y la necesidad de obtener un conjunto de muestras lo más amplio y completo que sea posible, teniendo siempre en cuenta el lugar y las condiciones en las que se extraen. Siempre que sea posible y haya autorización expresa de la familia (ya que ello requiere la apertura de las cavidades torácica y abdominal), se extraerá la médula espinal además del encéfalo. En algunas patologías será conveniente, además, disponer de muestras de nervio periférico y músculo, e incluso de muestras viscerales.

El protocolo de extracción estándar (con autorización exclusivamente para la apertura de la cavidad craneal), implica la apertura del cráneo, el examen macroscópico de las paredes óseas y la paquimeninge, y la extracción del encéfalo, incluyendo un segmento corto de médula cervical. Durante la extracción se pueden obtener muestras de LCR y sangre. A continuación, el encéfalo se divide en dos mitades simétricas a través de un corte sagital (comenzando por el tronco del encéfalo, y continuando por el vermis cerebeloso, las comisuras y el cuerpo caloso, para facilitar la obtención de dos mitades realmente simétricas).

El hemiencéfalo derecho se sumerge en formaldehído tamponado (tampón fosfato al 4%), en un recipiente amplio (al menos 10 litros de capacidad), y se deja fijar 3 semanas por inmersión.

El hemiencéfalo izquierdo se procesa para congelación, de acuerdo con varios procedimientos posibles. El procedimiento estándar implica la separación en bloque del tronco cerebral y el cerebelo de los hemisferios cerebrales. A continuación, el hemisferio cerebral se seriala en lonchas sucesivas de 1 cm de espesor mediante cortes coronales. La seriación se inicia en el plano coronal de los cuerpos mamilares. Desde este plano, y en sentido pósterio-anterior (hacia el polo frontal), las lonchas se etiquetan como A1, A2, A3, ..., y en sentido ántero-posterior (hacia el polo occipital) como P1, P2, P3, ... El hemicerebelo se separa del tronco mediante sección de los pedúnculo cerebelosos. El tronco se seriala en cortes transversales al eje de Meynert (rostró-caudal) en lonchas de 0,5-1 cm, y se etiqueta, desde el mesencéfalo hasta la médula cervical, como T1, T2, T3, ... Por último, el cerebelo se seriala en cortes sagitales (paralelos al vermis), desde el vermis cerebeloso hasta el vértice del lóbulo, y se etiqueta como C1, C2, C3, ... Todas las lonchas así obtenidas se congelan mediante inmersión en nitrógeno líquido, en condiciones ideales, o sobre nieve carbónica o en el interior de un arcón de -80°C en el caso de que no se disponga de nitrógeno líquido.



Previamente a la congelación del material, pueden tomarse muestras para estudio por microscopía electrónica, o para fijaciones especiales (paraformaldehído y posterior crioprotección, etc.).

II.8. Protocolos de tallado: toma de muestras

El tallado estándar del hemiencéfalo fijado en formaldehído tamponado está dirigido a detectar alteraciones macroscópicas (áreas de atrofia, lesiones focales, etc.), y a obtener bloques de tejido para inclusión y corte en parafina. El protocolo de tallado estándar tiene como objeto muestrear las áreas principales de lesión en las enfermedades neurodegenerativas de mayor incidencia, e incluye prácticamente todas las regiones cerebrales que se han establecido como de estudio obligado en los criterios de diagnóstico neuropatológico publicados (6). Adicionalmente, la observación de lesiones en otras regiones no previstas en el protocolo estándar (p. ej. un infarto) obliga a tomar muestras también de esas áreas. Por otra parte, determinados hallazgos en el estudio histológico pueden aconsejar una nueva toma de muestras que complete criterios diagnósticos para una entidad específica (la sospecha clínica o histológica de una demencia con cuerpos de Lewy, p. ej., obliga a un muestreo específico de la corteza cerebral según criterios de consenso, que no coincide exactamente con el muestreo estándar dirigido a diagnosticar o descartar E. de Alzheimer).

Si bien distintos Bancos realizan protocolos de estudio neuropatológico ligeramente diferentes, un protocolo estándar común, válido para la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas y, en consecuencia, para el diagnóstico de cerebros de control como “normales”, incluye la toma de muestras de las siguientes regiones cerebrales:

- Corteza prefrontal dorso-lateral (según criterios CERAD: circunvolución frontal media)
- Corteza cingular, incluyendo cuerpo calloso
- Estriado anterior, incluyendo cabeza de n. caudado y putamen
- Estriado medio, incluyendo cuerpo de n. caudado y n. lenticular, así como n. basalis de Meynert a este nivel
- Hipotálamo posterior, en el nivel del cuerpo mamilar
- Corteza insular anterior
- Tálamo, incluyendo n. subtalámico y s. nigra rostral
- Corteza temporal externa (según criterios CERAD: circunvoluciones temporales superior y media)
- Hipocampo anterior, incluyendo amígdala
- Hipocampo medio-posterior
- Corteza parietal inferior (según criterios CERAD)
- Cisura calcarina
- Vermis cerebeloso superior
- Hemisferio cerebeloso, incluyendo corteza y n. dentado
- Mesencéfalo
- Protuberancia (nivel medio)
- Bulbo raquídeo (nivel medio)
- Médula cervical

II.9. Formas de procesamiento del tejido

El estudio neuropatológico completo puede realizarse en la mayoría de los casos sobre material incluido y cortado en parafina. El proceso de inclusión y corte es superponible al empleado en el estudio histológico de otros órganos.

Al procesamiento del tejido se le aplican igualmente las normas de bioseguridad actuales en los casos con sospecha clínica de EETH, y que implican la descontaminación del tejido, previa a su inclusión en parafina, mediante inmersión durante una hora en ácido fórmico al 98% en agitación suave.

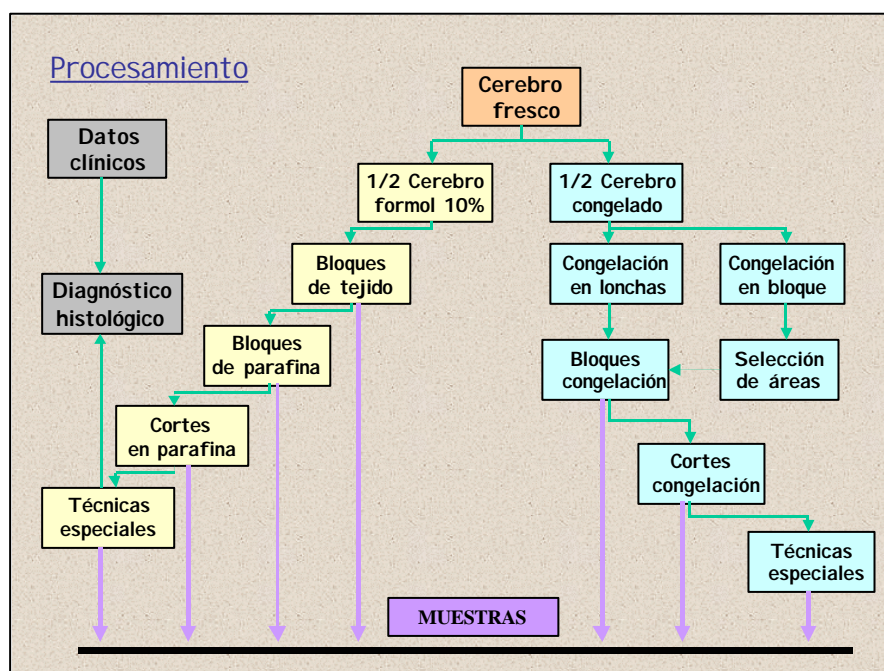
Así mismo, si el diagnóstico de la patología en estudio o los proyectos de investigación en curso lo requieren, se procesará material seleccionado para microscopía electrónica, para fijación en fijadores especiales (paraformaldehído, Zamboni, etc.) y posterior inclusión en parafina o congelación para corte en criostato, o para corte en vibratomo.

II.10. Archivo del material: muestras disponibles

El procesamiento del tejido postmortem a lo largo de las dos vertientes principales (tejido fijado y tejido congelado, respectivamente) permite obtener dos series consecutivas de muestras disponibles para investigación. El material de archivo del Banco está constituido por todas las muestras procesadas para su conservación a largo plazo, convenientemente identificadas, y a las que se les adscribe un número de registro común y un diagnóstico neuropatológico definitivo.

A partir del tejido fijado según distintos protocolos obtendremos: bloques de tejido fijado de distinto tamaño, bloques incluidos en parafina, cortes de parafina, cortes de vibratomo conservados a largo plazo mediante criopreservación, bloques de microscopía electrónica.

Muestras de sangre y de LCR obtenidas postmortem, o remitidas durante el diagnóstico y seguimiento del paciente para diagnóstico clínico y molecular.



A partir de tejido fresco y congelado obtendremos: bloques de tejido congelado y cortes de tejido obtenidos en criostato. Se han descrito técnicas para determinar el estado de conservación de cada cerebro, en términos de la conservación de algún RNAm abundante, como el de neurofilamentos, p.ej., determinada mediante hibridación *in situ* (9).

II.11. Técnicas histológicas

El laboratorio de neuropatología de un Banco de Cerebros dispone de todas las técnicas histológicas necesarias para hacer el diagnóstico de cualquier entidad conocida. La realización de técnicas en cada caso en estudio sigue un algoritmo basado en los hallazgos detectados mediante técnicas progresivamente más complejas.

Técnicas convencionales y especiales. El estudio comienza realizando en todos los bloques de tejido las técnicas convencionales y especiales que se aplican a todos los órganos: hematoxilina/eosina (H/E) en todos los casos, y PAS y Rojo Congo (y otras técnicas especiales) en función de los hallazgos con H/E, y los datos previos de la historia clínica.

Técnicas neurohistológicas. Técnica de Nissl para estudio de neuronas, en bloques y casos seleccionados. Técnicas para mielina: Klüver-Barrera, Luxol fast blue, solocromocianina. Técnicas de plata, para detección de inclusiones celulares: plata metenamina, Bielschowsky, Gallyas, etc.

Técnicas de inmunohistoquímica, para la detección de moléculas normales o modificadas asociadas a patologías específicas: tau, PHF, ubiquitina, beta-amiloide, alfa-sinucleína, proteína ácida gliofibrilar, proteína priónica, sinaptofisina, neurofilamentos, etc.

II.12. Diagnóstico neuropatológico: criterios

El tejido y las muestras biológicas archivadas en un Banco sólo son aplicables a investigación si se acompañan de un diagnóstico definitivo, neuropatológico y/o genético, en el caso de enfermedades familiares (p.ej., E. de Huntington, E. de Creutzfeldt-Jakob familiar, Ataxias hereditarias.)

En las enfermedades neurodegenerativas más frecuentes se han establecido y publicado criterios de diagnóstico clínico y patológico de consenso. Así, existen criterios de diagnóstico neuropatológico definitivo, referidos a regiones de estudio, técnicas necesarias, hallazgos, y valoración cuantitativa o semicuantitativa de los hallazgos, para la E. de Alzheimer, la Demencia con cuerpos de Lewy y la Parálisis supranuclear progresiva (6). En el resto de las entidades el diagnóstico neuropatológico es más directo y cualitativo, y no depende tanto de valoraciones de este tipo.

La inclusión de material en el archivo del Banco de acuerdo con los citados criterios diagnósticos permite minimizar las diferencias entre distintos centros y favorece la colaboración entre Bancos.

II.13. Tejido de control: origen y definición

Entre las solicitudes de material que reciben los Bancos de Cerebros, una de las más frecuentes se refiere a muestras de cerebros normales, como tejido de control en estudios de series de cerebros patológicos, para el estudio de marcadores moleculares o celulares en el cerebro normal, o para el estudio del desarrollo y el envejecimiento del SNC.

La definición de cerebros de control, en particular en grupos de edad avanzada, debe tener en cuenta los cambios que acompañan al “envejecimiento normal” (cambios estructurales como consecuencia inevitable del envejecimiento) y a lo que se conoce como “envejecimiento usual”, esto es, los cambios prevalentes en una población dada debidos a la presencia de enfermedades crónicas habituales.

En la experiencia de la mayoría de los Bancos de cerebros, la obtención de cerebros de control a partir de donaciones es particularmente difícil, y se tiende a promoverla activamente en el entorno familiar, más sensibilizado, de los pacientes con enfermedades neurológicas. En la práctica, gran parte del material de control empleado en investigación procede de casos de consulta.

En general puede definirse un cerebro de control como un caso sin datos clínicos de enfermedad neurológica o psiquiátrica, y sin hallazgos significativos en un estudio histológico básico del SNC. Puede variar de un Banco a otro el protocolo de estudio histológico necesario para clasificar un caso como control, así como los propios criterios de definición.

III. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

III.1. Aspectos éticos relacionados con la actividad de los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas

La donación de tejido para investigación, tanto de paciente vivo como de cadáver, constituye un aspecto importante de los debates bioéticos actuales en torno al uso médico de células y tejidos humanos (ver, p.ej., J. Harris, *Wonderwoman and Superman. The Ethics of Human Biotechnology*, Oxford University Press, 1992; existe traducción al castellano en Ed. Tecnos, Madrid, 1998).

El principal problema ético que se plantea en torno a las muestras biológicas se refiere al diagnóstico genético. En enfermedades monogénicas, este diagnóstico puede indicar a un paciente y a una familia la existencia de una mutación y permite prever el desarrollo en algunos miembros de la familia de una enfermedad que no tiene tratamiento curativo en el momento actual. Toda toma de muestra que implique un diagnóstico genético debe ir acompañada de un consentimiento informado que demuestre que el paciente conoce el tipo de estudio que se va a realizar, y establezca la información que desea recibir. Si parte de la muestra queda disponible para investigación, el paciente debe saberlo.

En relación con el tejido postmortem, el contexto bioético es diferente si se trata de un caso de donación premortem, o si se trata de un caso de consulta, esto es, de una autopsia clínica o forense. Cuando se trata de una donación, la obligación ética del Banco es poner ese tejido a disposición del mayor número posible de investigadores, y establecer procedimientos de cesión de tejidos que aseguren el aprovechamiento máximo del tejido, con un alto nivel de calidad científica. Si se trata de una autopsia realizada con fines diagnósticos, la responsabilidad moral en cuanto al aprovechamiento del tejido ya no es con el donante (o con su memoria o sus familiares), sino con la sociedad a la que perteneció el donante, y que puede beneficiarse, en sus componentes vivos, de los tejidos de un individuo fallecido. La legislación española (Apartado II.5.), aunque de forma fragmentaria, refleja adecuadamente la traducción normativa de este contexto ético en cuanto a la utilización de tejidos de cadáver para formación e investigación.

La identidad de los pacientes queda siempre protegida en el ámbito hospitalario, toda vez que los datos remitidos al Banco no incluirán ninguna referencia que permita identificar directa o indirectamente al paciente. En aquellos casos en los que la naturaleza de la investigación haga necesario el acceso a otros datos de la historia clínica del paciente, será el investigador principal del proyecto quien deberá acudir a los servicios clínicos del Hospital para conseguir dicha información, previo informe favorable, si fuese preciso, de los Comités de Ética e Investigación de los hospitales correspondientes.

III.2. Normativa legal aplicable en España

A continuación se recoge la normativa vigente en relación con la utilización de tejidos de cadáver para investigación, así como la que afecta a la donación de órganos para trasplante, puesto que no existe en nuestro país, como en otros países (p.ej., el Reino Unido, “Human Tissue Act” de 1961), una legislación específica sobre las donaciones para investigación. La normativa sobre Bioseguridad se recoge en el Apartado V del presente documento:

- Recomendación R.94, de 14 de marzo de 1994, sobre Bancos de Tejidos Humanos, adoptada por el Comité de Ministros de Estados del Consejo de Europa
- Ley de Transplantes de Órganos, de 27 de octubre de 1979
En su Art. 5.2 se hace referencia a la “extracción de órganos u otras piezas anatómicas de fallecidos... con fines terapéuticos o científicos”
- Real Decreto 426/180, de 22 de febrero de 1980, que desarrolla la Ley anterior.
En su Cap. II, Art. 6 hace referencia a los centros en los que podrán realizarse extracciones de órganos
- Ley de Autopsias Clínicas, de 21 de junio de 1980
El Art. 4 hace referencia al “aprovechamiento científico-social de los datos”, y el 4.2 a la necesidad de utilizar el material con fines formativos
- Real Decreto 2230/1982, de 18 de junio de 1982, que desarrolla la Ley anterior.
El Art. 7.2 y 7.3 regula el aprovechamiento formativo y científico del material obtenido en la autopsia clínica
- Real Decreto 411/1996, de 1 de marzo, por el que se regulan las actividades relativas a la Utilización de Tejidos Humanos. Regula los Bancos de Tejido para trasplante no recogidos por la legislación anterior, y excluye explícitamente “la mera obtención de sustancias o tejidos humanos con la finalidad exclusiva de realizar estudios y análisis clínicos”

- Comunidad de Madrid: Decreto 124/1997, de 9 de octubre, por el que se aprueba el Reglamento de Policía Mortuoria.

IV. NORMAS DE BIOSEGURIDAD

IV.1. Medidas generales de bioseguridad

Los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas deben cumplir estrictas normas de bioseguridad, tanto en el manejo de tejidos y muestras procedentes de pacientes y controles con fines diagnósticos, como en la cesión de material a investigadores. A lo largo de todo el proceso de obtención, procesamiento, archivo y envío de la muestra, cualquier riesgo biológico existente debe ser conocido y controlado mediante procedimientos garantizados por grupos o instituciones acreditadas.

Si el riesgo deriva de agentes biológicos que son objeto del interés científico de los investigadores (HIV, priones, p.ej.), el tejido y las muestras deberán ser manejadas con las precauciones estándar para estos agentes, y en unas instalaciones acondicionadas al efecto. Por lo demás, como regla general, se evitará congelar material cuando exista un riesgo conocido, derivado de otros agentes sin interés directo para los investigadores (p.ej., virus de hepatitis).

Durante la manipulación de tejido o muestras frescas o congeladas, sin riesgo biológico especial conocido, se adoptarán medidas universales de protección personal y de las instalaciones: vestimenta adecuada, uso de guantes y mascarilla, limpieza y desinfección posterior de las superficies de trabajo. Salvo en las EETH, el manejo de tejido fijado en formaldehído es seguro desde el punto de vista de riesgo biológico.

La normativa de bioseguridad de las áreas de trabajo descritas en los Bancos de Cerebros y en los Laboratorios de Diagnóstico Molecular viene recogida en la regulación de las autopsias clínicas referida en el Apartado II.5. Así mismo, el Real Decreto 664/1997 de 12 de mayo, sobre “la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo”, determina los niveles de contención preceptivos ante la sospecha de cualquier agente infeccioso.

En lo referente al transporte de material biológico, además de la legislación española aplicable (el referido RD 664/1997), es preciso tener en cuenta la Directiva del Parlamento Europeo 2000/54/EC del 18 de septiembre del 2000.

IV.2. Medidas especiales de bioseguridad en casos con sospecha de EETH

En relación con las medidas de seguridad recomendadas en casos con sospecha de EETH, el INSALUD publicó en 1997 una “Guía de Información y Recomendaciones”. Durante los últimos meses, un Grupo de Trabajo designado por el INSALUD ha elaborado una versión actualizada de dicha Guía, que en este momento se encuentra, como borrador final, sometida a la valoración de los distintos colectivos profesionales implicados.

En el RD 664/1997, los agentes causales de las EETH figuran con una categoría de riesgo 3*, lo que implica un nivel 3 de riesgo, pero sin riesgo de transmisión por vía aérea en condiciones habituales. Las medidas de contención que corresponden a este nivel figuran como sigue:

Medidas de contención	Nivel de contención 3
El lugar de trabajo se encontrará separado de toda actividad que se desarrolle en el mismo edificio	Aconsejable
El aire introducido y extraído del lugar de trabajo se filtrará mediante la utilización de filtros de alta eficacia para partículas en el aire (HEPA) o de forma similar	Si, para la salida de aire
Solamente se permitirá el acceso al personal designado	Si
El lugar de trabajo deberá poder precintarse para permitir su desinfección	Aconsejable
Procedimientos de desinfección especificados	Si
El lugar de trabajo se mantendrá con una presión negativa respecto a la presión atmosférica	Aconsejable
Control eficiente de vectores, por ejemplo, de roedores e insectos	Si
Superficies impermeables al agua y de fácil limpieza	Si, para el banco de pruebas o mesa de trabajo y el suelo
Superficies resistentes a ácidos, álcalis, disolventes y desinfectantes	Si
Almacenamiento de seguridad para agentes biológicos	Si
Se instalará una ventanilla de observación o un dispositivo alternativo en las zonas de manera que se pueda ver a sus ocupantes	Aconsejable
Laboratorio con equipo propio.	Aconsejable
El material infectado, animales incluidos, deberá manejarse en una cabina de seguridad biológica o en un aislador u otra contención apropiada	Si, cuando la infección se propague por el aire
Incinerador para destrucción de animales muertos	Si (disponible)

Sobre la base de la ausencia de riesgo de transmisión por vía aérea, las autoridades británicas han establecido unas condiciones de derogación del nivel 3 de contención para la manipulación en el laboratorio de tejidos y muestras procedentes de pacientes con sospecha de EETH.

En cuanto a la realización de la autopsia, y el estudio neuropatológico posterior, en pacientes con sospecha de EETH, es posible mantener un nivel de contención adecuado si se adoptan unas medidas sobre las que existe un consenso internacional prácticamente total. Recogemos a continuación los aspectos claves de estas medidas (para su desarrollo detallado y aplicación práctica puede consultarse la citada Guía del INSALUD, o bien cualquiera de las Guías que se citan al final de este Apartado):

1. La autopsia será realizada por un equipo de tres personas, incluyendo un patólogo, con amplia experiencia en autopsias, dos de los cuales actuarán en la zona “sucia” de trabajo, y uno en la zona “limpia” para la preparación y entrega de material
2. La autopsia se puede realizar en cualquier sala de autopsias que cumpla unos requisitos mínimos (como los exigidos por la Ley de Autopsias), si bien es preciso mantener un control especial en cuanto a la circulación de personal y al respeto de las zonas de trabajo “sucio” y “limpio”, así como a la entrada y salida de personal durante la autopsia
3. Se adoptarán medidas especiales de protección personal para evitar pinchazos y cortes en las manos, así como salpicaduras en piel y mucosas (bata impermeable, guantes anti-corte, medios de protección ocular o facial)
4. Se adoptarán medidas especiales de protección de las instalaciones para evitar que cualquier tejido o líquido procedente del cadáver entren en contacto con la mesa de autopsias o el suelo de la sala. Se evitará el uso de agua a chorro. Ningún líquido procedente de la autopsia será eliminado a través del desagüe. Cualquier derramamiento de líquido será tratado mediante medidas eficaces de descontaminación de las superficies
5. Durante la apertura del cráneo se evitará la emisión de aerosoles de polvo óseo, para lo cual se empleará una sierra manual o una sierra oscilatoria provista de un mecanismo de aspiración.
6. El tejido cerebral fresco y el tejido congelado serán manipulados en el interior de una cabina de bioseguridad. El tejido destinado a fijación será introducido rápidamente en un recipiente con formaldehído
7. Previamente a su inclusión en parafina, los bloques de tejido fijados serán tratados mediante inmersión en ácido fórmico al 98% durante una hora
8. Se recomienda el uso de arcones congeladores sólo para material de este tipo, así como el empleo de instrumentos y material de microtomía especialmente dedicados
9. Se empleará todo el instrumental y material desechable que sea posible, y el material empleado, junto con los residuos orgánicos, será clasificado como residuo para incineración
10. El material no desechable será descontaminado mediante procedimientos químicos y físicos eficaces.

- Otras Guías elaboradas durante los últimos años son:

Transmissible spongiform encephalopathy agents: safe working and the prevention of infection. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Spongiform Encephalopathy Advisory Committee. 7 may 1998. www.official-publications.co.uk/documents/doh/spongiform/report.htm

WHO Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies. WHO. Geneva, 23-26 march 1999. www.who.int/emc

Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Section VII-D Prions. US Department of Health and Human Services. Fourth Edition 1999. Pag 135-148.

World Health Organization. Guía para el transporte seguro de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos. Geneva: WHO 1997. www.who.int/emc

WHO infection control guidelines for transmissible spongiform encephalopathies. Report of a WHO Consultation 1999.

V. SOLICITUD Y CESIÓN DE MUESTRAS

V.1. Formato de la solicitud: información requerida

Las solicitudes de material para investigación son formuladas por los investigadores en un documento del Banco, en el que especifican el tipo de material requerido, la patología, las regiones cerebrales, y el número de muestras que solicitan. Los investigadores deben incluir en la solicitud un resumen del proyecto de investigación, y la agencia de la que depende su financiación.

V.2. Decisión de cesión de material: criterios e instancias

Para evaluar las solicitudes se utilizará un procedimiento de evaluación externa, a iniciativa del Comité Científico del Banco, que asegure la calidad científica y la viabilidad del proyecto para el que se solicita el material. Los informes de evaluación serán finalmente considerados por el Comité Científico del Banco, que decidirá sobre la cesión de tejidos teniendo en cuenta: 1) la prioridad científica del proyecto, 2) la disponibilidad del material solicitado. No requerirán evaluación científica externa los proyectos de investigación financiados por Agencias o Programas que ya cuentan con evaluación previa por parte de la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP), o los aprobados dentro del Programa Marco de la UE.

Se ha de tener en cuenta que con frecuencia el material disponible puede ser limitado y que su obtención es el resultado de un esfuerzo especial y prolongado de personal clínico. En tales casos específicos, el Comité Científico del Banco puede servir de nexo entre los investigadores solicitantes y el personal que aportó los casos.

V.3. Responsabilidad del investigador

A través de la cesión, el investigador tiene la responsabilidad de hacer buen uso de un tejido que ha sido donado por pacientes y que constituye un material de investigación escaso. Así mismo, en todas las comunicaciones y publicaciones científicas de trabajos basados en material cedido por el banco deberá mencionar la procedencia de las muestras.

VI. RECURSOS NECESARIOS Y VÍAS DE FINANCIACIÓN.

Cualquier medida que se adopte en relación con los Bancos de Cerebros y Muestras Neurológicas tendrá una consecuencia sensible, no sólo en relación con la vigilancia, el diagnóstico e investigación de las EETH, sino sobre otras enfermedades neurodegenerativas, como la E. de Alzheimer y la E. de Parkinson, que en este momento tienen un impacto socio-sanitario incomparablemente más importante en nuestro país.

Parece razonable considerar que el sistema actual de Bancos debe ser extendido, consolidado y coordinado con el fin de que, durante los próximos años, todas las muestras obtenidas con fines diagnósticos en pacientes con sospecha clínica de EETH puedan ser puestas a disposición de líneas de investigación ya existentes o emergentes.

En el futuro inmediato, el sistema de vigilancia de las EETH dará lugar, fundamentalmente con el incremento de la tasa de autopsias (que es previsible que alcance en pocos meses un índice global superior al 60%), a un incremento del volumen de material disponible para diagnóstico e investigación. Ello implica la necesidad de reforzar la estructura de los Bancos de Cerebros en los que este material será procesado, diagnosticado y archivado. También los Laboratorios de Diagnóstico Molecular (constituidos en Bancos de Muestras Neurológicas) deberán hacer frente a un incremento de la demanda de estudios, así como a la puesta en marcha de técnicas para la realización de nuevos estudios (p.ej., dirigidos a la identificación de los distintos tipos moleculares de PrP^{SC}).

Entre las necesidades que sería preciso financiar en estos centros, y en los nuevos centros que se desarrollen en el futuro se encuentran:

1. Asegurar la actividad de diagnóstico y de archivo de material ante el aumento previsible de casos estudiados: recursos humanos, inventariable, fungible
2. Organización de reuniones de coordinación de los especialistas implicados, con el fin de consensuar criterios y protocolos de actuación, y de facilitar el intercambio de información
3. Coordinación informática de todos los Bancos que permita un acceso rápido, por parte de los investigadores a información sobre el material disponible.

Es claro que las actuales formas de financiación de los Bancos ya existentes en nuestro país son inadecuadas y muy precarias para soportar el crecimiento de necesidades previsible. Por otra parte, la actividad básica de un Banco de Cerebros y Muestras Neurológicas tiene un coste relativamente bajo, y es precisamente este hecho el que ha permitido que hasta el momento la financiación haya derivado en gran parte de sus propios proyectos de investigación. Sin embargo, esta fórmula precaria de financiación pone en grave riesgo tanto los proyectos de investigación desarrollados en los Bancos de Tejidos como la propia financiación de estas estructuras.

Las necesidades de financiación de los Bancos pueden clasificarse esquemáticamente como sigue:

- Infraestructura e instalaciones:

- Laboratorio de Neuropatología y Sala de tallado
- Laboratorio de Patología Molecular
- Archivo de material fijado (archivo húmedo), de bloques y de preparaciones
- Archivo de material congelado (arcones congeladores)
- Despachos y oficina de gestión/coordinación, con infraestructura informática y software específico
- Recursos humanos:
 - Personal facultativo (patólogos, biólogos moleculares, etc.)
 - Personal técnico
 - Personal administrativo y de gestión
- Gastos corrientes:
 - Pago de traslado de cadáveres y transporte de muestras
 - Material fungible de laboratorio (tallado, procesamiento, reactivos, kits, etc.)
 - Material fungible de oficina
 - Gastos de luz, agua corriente, teléfono, etc.

Una parte de la financiación de los Bancos puede proceder en el futuro del cobro de algún tipo de tasa por la cesión de muestras a los investigadores, de modo que dicho pago pudiera cargarse a los proyectos de investigación implicados. Sin embargo, con el nivel de tasa aplicable de forma competitiva (con respecto a otros Bancos europeos que cobran por el envío de muestras, y a los que también recurren habitualmente investigadores de nuestro país) sólo se podría alcanzar una financiación parcial, que podría sostener un modelo de co-financiación en el que intervinieran otras fuentes de ingresos.

Es preciso, pues, crear mecanismos administrativos que permitan una fórmula de financiación que contemple, de forma estructural y estable, tanto el servicio de tipo asistencial (diagnóstico, vigilancia epidemiológica) ofrecido por los Bancos, como su función en la promoción de la investigación. Esta financiación debería ser mixta (Ministerios implicados, Comunidades Autónomas, Universidades) y debería contemplar la posibilidad de acuerdos con la Industria.

VII. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS BANCOS

Las variables que deben ser evaluadas, a través de Memorias Anuales, en el análisis de la actividad de un Banco de Cerebros y Muestras Neurológicas, son (2):

- Calidad de la información clínica en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes registrados. Los pacientes incorporados al registro del Banco como donantes deben estar sometidos a un protocolo de seguimiento clínico (que implica el estudio y archivo de muestras biológicas) consensuado por los neurólogos vinculados al Banco. Todavía son frecuentes los casos de demencia con estudio neuropatológico, y mínima información clínica referida a los últimos años de evolución, aunque estén disponibles los informes correspondientes al diagnóstico clínico original

- Número de casos incorporados al registro. Uno de los parámetros básicos del Banco es el del número de pacientes registrados en los que se está haciendo un seguimiento activo conforme a los protocolos del Banco, así como el rango de patologías
- Número de casos de donación con estudio neuropatológico definitivo. El número de casos con estudio postmortem (en un período anual, p.ej.) da una buena medida de la actividad real del Banco y de su capacidad para responder a las necesidades de los grupos de investigación de su entorno
- Distribución de material a los investigadores. Muestras solicitadas y grupos de investigación que trabajan con material del Banco. Un Banco tiene como objetivo poder ofrecer tejido y muestras a los grupos de investigación que se encuentran en su radio de acción. Si bien este ámbito es principalmente geográfico, el territorio de referencia de un Banco viene dado también por los vínculos de colaboración con grupos nacionales y extranjeros, ligados a líneas de investigación, e independientemente de la ubicación geográfica del grupo. En cualquier caso, carecería de sentido un Banco al que no se le solicitaran muestras
- Contribución a la investigación en Neurociencias básicas y aplicadas, demostrada en publicaciones. Aunque no constituye el resultado final (que sería en realidad el impacto efectivo sobre el conocimiento y el tratamiento de las enfermedades neurológicas), un resultado último y cuantificable de la actividad global de un Banco puede medirse, sin duda, a través de las publicaciones realizadas con la ayuda del material en él depositado.

Periódicamente se realizarán controles de calidad del funcionamiento del Banco para minimizar las posibles disfunciones en los distintos procesos descritos. Estos controles afectarán a los siguientes apartados:

- Idoneidad del estado de conservación del tejido fijado y congelado
- Identificación de las muestras
- Mantenimiento de los medios materiales y la infraestructura
- Transcripción, adecuación y validación de datos
- Control de códigos de acceso

Estos controles de calidad deberán seguir la norma ISO 9000.

VIII. LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR: PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS COMO BANCOS DE MUESTRAS NEUROLÓGICAS.

Como ya se ha mencionado explícitamente en este documento, todas las consideraciones que aquí se hacen en relación con los Bancos de Cerebros son válidas para los Bancos de Muestras Neurológicas constituidos a partir de Laboratorios de Diagnóstico Molecular, si bien con algunos matices, que serán analizados en este Apartado.

Como indica el esquema del Apartado I, las muestras que se reciben en estos laboratorios son enviadas, bien por los clínicos, cuando se trata de muestras para diagnóstico clínico premortem, o bien por los patólogos, cuando se trata de muestras de

tejido o de líquidos postmortem. Aquí no se plantean problemas logísticos como los asociados a la realización de autopsias. Sin embargo, es importante que los envíos de muestras se realicen respetando las normas de bioseguridad establecidas (y recogidas en el Apartado IV).

En cuanto a los aspectos éticos, es importante recordar la necesidad de disponer de consentimiento informado en todos los casos de estudio genético de un paciente.

Análogamente a lo descrito en los Bancos de Cerebros, es importante que los protocolos de procesamiento de las muestras, para la realización de técnicas específicas y para el archivo del material, sean homogéneos entre distintos centros nacionales e internacionales.

En cuanto a la solicitud y cesión de muestras para investigación, las normas no deben diferir de las establecidas en general para los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas.

Los Laboratorios de Diagnóstico Molecular actuales tienen capacidad para constituirse en Bancos de Muestras Neurológicas de pacientes con EETH:

- + Son los que reciben las muestras iniciales de pacientes con sospecha clínica
- + Están conectados con los clínicos, y pueden solicitar las muestras siguiendo el mismo circuito
- + Realizan un seguimiento, a través del clínico de forma inicial, y a través de los sistemas de vigilancia a posteriori, que permite identificar perfectamente las muestras en las categorías diagnósticas establecidas
- + Están relacionados con dos Bancos de Tejidos establecidos, con los que colaboran, y pueden compartir y complementar técnicas diagnósticas.

IX. HACIA UNA COORDINACIÓN DE LOS BANCOS DE TEJIDOS Y MUESTRAS NEUROLÓGICAS EN ESPAÑA

Al igual que ha ocurrido en ámbitos geográficos y políticos más amplios, también en nuestro país es previsible una tendencia a la coordinación e integración de los Bancos de Cerebros y Muestras Neurológicas existentes y emergentes. Si bien la forma final de integración no es aún previsible, en una situación que probablemente cambiará en los próximos años con la constitución y el desarrollo de nuevos centros, sí parece posible diseñar el procedimiento inicial de una coordinación a nivel estatal. Esta coordinación permitiría homogeneizar y optimizar protocolos de actuación, y posibilitaría la financiación, al menos parcial, de algunos procesos. Esta coordinación podría estar basada en los siguientes principios metodológicos y organizativos:

1. En conjunto, la red de Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas podría ser similar a las redes ya constituidas para la vigilancia y el diagnóstico de las EETH, y, de hecho, podría emplear en parte la estructura y los procedimientos de estas redes. Esto podría ser fundamental para definir una red de hospitales para la extracción de cerebros postmortem, similar a la definida en el caso de las EETH
2. Existirá una conexión informática entre los distintos centros, que permitiría compartir información sin vulnerar la protección de los datos personales y clínicos de los pacientes ni la información que cada Banco considere que debe mantener como confidencial

3. La constitución de un Comité Científico-Técnico, que actuará como grupo coordinador para la definición de protocolos de trabajo (clínico, neuropatológico, molecular) consensuados y homogéneos, con reuniones regulares. Este Comité también promoverá campañas para la donación de tejidos, y propondrá iniciativas institucionales de apoyo logístico para la obtención del material. En este Comité participarán neurólogos, psiquiatras, neuropatólogos y biólogos moleculares vinculados a los distintos Bancos
4. La puesta en marcha de la red implica unos costes de infraestructura de la propia red (informática, recursos humanos), así como unos costes de optimización de la actividad de cada uno de los Bancos integrados, que no es posible cuantificar en este momento
5. Desde el punto de vista legal y representativo, la red deberá estar dotada de una Normativa de Régimen Interno, en la que figurarán sus órganos científicos y de gestión, así como sus funciones respectivas
6. El Comité Científico-Técnico se coordinará con el órgano equivalente de los Bancos de Tejidos Animales. Ello pondría a disposición de los investigadores de ambos campos, el humano y el animal, una importante fuente de material para estudios comparados, cada vez más importantes en la patología neurodegenerativa.

En resumen, cada centro que se incorporara a la red podría ofrecer su material a través de ella, y recibiría de ella apoyo logístico, técnico y financiero.

XII. CONCLUSIONES

1. Los Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas constituyen una pieza esencial para la investigación en enfermedades neurológicas, y en particular en las enfermedades neurodegenerativas. Sus archivos contienen material que puede ser utilizado durante muchos años. En muchos países existen Bancos monográficos de distintas patologías, y Bancos dedicados a múltiples patologías. La existencia de material de control (sin patología) en sus archivos es tan importante como la de tejido patológico.
2. La actividad de un Banco de Tejidos y Muestras Neurológicas se organiza en torno al eje que implica el procesamiento de parte del material para alcanzar un diagnóstico neuropatológico y/o molecular definitivo, la conservación del resto del material en condiciones óptimas, y la puesta de este material a disposición de la comunidad científica.
3. Tanto la donación del tejido por parte de los pacientes, como su disponibilidad por los investigadores se realiza de acuerdo con principios éticos fundamentales que exigen el respeto de la voluntad individual del donante y la necesidad social de investigación en estas enfermedades. La legislación española, muy desarrollada en cuanto a donaciones para trasplante, no contiene una normativa específica sobre donaciones para investigación.

4. Los protocolos de actuación, en cuanto a la obtención del tejido, su procesamiento, conservación y diagnóstico, son muy homogéneos en todo el mundo y fruto del consenso entre numerosos centros. Un estrecho contacto entre Bancos de todo el mundo permite mantener este consenso con el desarrollo de nuevas técnicas y criterios diagnósticos y de actuación.
5. La cesión de muestras a los investigadores se realiza de acuerdo con protocolos establecidos, mediante solicitud reglada, que es evaluada por el órgano científico del Banco. La decisión sobre la cesión de una muestra debe tener en cuenta la cantidad de material disponible en el Banco, y la calidad científica del proyecto de investigación implicado.
6. La obtención y el procesamiento de tejidos y muestras procedentes de pacientes con sospecha clínica de Encefalopatía espongiforme transmisible (con mayor frecuencia, alguna forma de E. de Creutzfeldt-Jakob), presentan unas características especiales, derivadas de la singular biología de su agente causal. Se recomienda diagnóstico molecular en todos los pacientes. Ello implica estudio del gen PRNP (mutaciones y polimorfismos) y tipaje molecular de la PrP^{SC} en tejido postmortem. Por otra parte, la transmisibilidad del agente y su alta resistencia a métodos convencionales de descontaminación obliga a adoptar medidas de bioseguridad específicas.
7. En nuestro país existen varios Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas consolidados y algunos centros emergentes. La mayoría de ellos forman parte de las distintas redes establecidas por distintas Comunidades Autónomas y por el INSALUD para garantizar el diagnóstico neuropatológico y molecular de las Encefalopatías espongiformes transmisibles.
8. El desarrollo de un sistema de coordinación entre los Bancos existentes y emergentes en nuestro país podría incrementar notablemente su eficiencia y, en consecuencia, el potencial investigador del país en el ámbito de las Neurociencias.

XIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Winn, D.M., Reichmann, M.E., Gunter, E. (1990). Epidemiologic issues in the design and use of biologic specimen banks. *Epidemiologic Reviews*, 12, 56-70.
2. Cairns NJ, Lantos PL. Brain tissue banks in psychiatric and neurological research. *J Clin Pathol* 1996; 49: 870-873.
3. Stefan MD and Royston MC. Brain banks. In: Molecular neuropathology. RW Roberts and JM Polak eds. CUP, 1995.
4. O'Brian C. Brain banks: treasures in store for molecular analysis. *Mol Med Today*, 1996 Jun; 2 (6): 226-7.
5. Cruz-Sánchez FF and Tolosa E, eds. How to run a brain bank. *J Neural Transmission*, Suppl 39, 1993.
6. Cruz-Sánchez FF, Ravid R, Cuzner ML, eds. Neuropathological diagnostic criteria for brain banking. Oxford: IOS Press, 1995.
7. McKee AC. Brain banking: basic science methods. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 1999 Apr-Jun; 13 Suppl 1: S39-44.
8. Bidaut-Russel, Ravid R, McKeel DW, Cruz-Sanchez FF, Grossberg GT. Survey of North American and European Dementia Brain Banks: a 1994 Directory. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 1995, 9 (4): 193-202.
9. Vonsattel JPG, Aizawa H, et al. An improved approach to prepare human brains for research. *J Neuropath Exp Neurol.*, 1995 Jan, 54 (1): 42-56.
10. Bell JE, Ironside JW. Principles and practice of "high risk" brain banking. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1997 Aug; 23 (4): 281-8.

ANEXO I: BANCOS DE TEJIDOS Y MUESTRAS NEUROLÓGICAS EXISTENTES EN ESPAÑA

Tejidos:

Banc de Teixits Neurologics
Hospital Clínic Universitari
Villarroel 170
08036 Barcelona
Tel.: 934517664
E-mail: iferrer@sakma.es

El primer Banco de Cerebros que se puso en marcha en nuestro país. Vinculado a la Red Europea de Bancos de Cerebros. Extenso archivo de material fijado y congelado. Demencias y trastornos del movimiento, y otras patologías. Centro de referencia para el diagnóstico neuropatológico de EETH en Cataluña en coordinación con el Servicio de Vigilancia Epidemiológica de la ECJ del Servei de Salut catalán, y con la Unidad de Biodiagnóstico de ECJ del Hospital Clínic. Archivo, solicitud y cesión de material conforme a protocolos de Banco de Cerebros.

Banco de Tejidos para Investigaciones Neurológicas
Facultad de Medicina, Universidad Complutense
Avda. Complutense s/n.
28040 Madrid
Tel: 91 394 1326
Fax: 91 394 1329
E-mail: fuinvesn@med.ucm.es

Ubicado en la Universidad Complutense de Madrid. Unidad Asociada al CSIC (I. de Neurobiología Ramón y Cajal). Extenso archivo de material fijado y congelado. Demencias, trastornos del movimiento, patología vascular y otras patologías. Uno de sus centros asociados, la Fundación Hospital Alcorcón, es referencia para la Red de diagnóstico neuropatológico de EETH del INSALUD. Archivo, solicitud y cesión de material conforme a protocolos de Banco de Cerebros.

Instituto de Neurociencias de Castilla y León
Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca
Avda. de Alfonso X el Sabio.
37007 Salamanca
Tel: 92 329 4730
Fax: 92 329 4730
E-mail: incvl@usal.es

Banco de Cerebros de reciente creación, en fase de puesta en marcha. Su ámbito de actuación es el de la Comunidad Autónoma. Orientación a enfermedades neurodegenerativas. Vinculación de los dos hospitales de Salamanca.

Muestras biológicas:

Unidad de Bodiagnóstico de la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob
Servei de Neurologia
Hospital Clínic Universitari
Villarroel 170
08036 Barcelona
Tel.: 93 227 5414
Fax: 93 227 5783
E-mail: asaiz@clinic.ub.es

Diagnóstico molecular de EETH en muestras de suero, LCR y DNA. Extenso archivo de muestras. Laboratorio de referencia de la Generalitat de Catalunya en coordinación con el Servicio de Vigilancia Epidemiológica y con el Banc de Teixits.

Unidad de Encefalopatías Espongiformes
Centro Nacional de Biología Fundamental
Instituto de Salud Carlos III
28220 Madrid
Tel: 91 509 7904
Fax: 91 509 7919
E-mail: mcalero@isciii.es

Diagnóstico molecular de EETH en muestras de suero, LCR y DNA. Extenso archivo de muestras.

Nota:

La presente relación de centros refleja la situación a fecha 15 de octubre de 2001. La incorporación de nuevos centros a este listado se realizará mediante comunicación a la Presidencia del Comité Multidisciplinar para la Investigación en Encefalopatías Espongiformes Transmisibles. E-mail: mjesus.fraga@mcyt.es

ANEXO II: REDES DIAGNÓSTICAS DE ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES HUMANAS

Recientemente se han constituido en España varias redes de vigilancia y diagnóstico de las EETH, con estructura autonómica o comprendiendo a varias Comunidades Autónomas.

Estas redes se sirven de los dos laboratorios mencionados de diagnóstico molecular actualmente existentes en Madrid y Barcelona, que atienden a solicitudes de estudios de todo el territorio nacional.

En cuanto al diagnóstico neuropatológico postmortem (y para el estudio de biopsias), el INSALUD ha constituido en su territorio una red, cuyo centro de referencia es la Fundación Hospital Alcorcón (vinculada al Banco de Tejidos para Investigaciones Neurológicas). En Cataluña, el centro de referencia es el H. Clinic (Banco de Tejidos Neurológicos). En Galicia, el hospital de referencia es el H. do Meixoeiro de Vigo, en el País Vasco el H. Txagorritxu de Vitoria, y en la Comunidad Valenciana el H. Clínico de Valencia. En otras Comunidades Autónomas se están constituyendo en este momento redes análogas a las descritas.

El siguiente esquema recoge la estructura de funcionamiento y el circuito de muestras comunes a las distintas redes territoriales citadas:

Hospitales de la Red de Autopsias (Red del INSALUD y Redes de las CC.AA. con competencias sanitarias transferidas).

