

Achtergronddocument Wetenschappelijk belang van embryo-onderzoek na 14 dagen

Nr. 2023/16A, Den Haag, 31 oktober 2023

Achtergronddocument bij:

De veertiendagengrens in de Embryowet

Nr. 2023/16, Den Haag, 31 oktober 2023



Tabel 1 Alternatieven voor onderzoek met klassieke embryo's

Alternatief	Omschrijving	Vergelijking met embryonaal ontwikkelingsstadium	Voordelen t.o.v. menselijke embryo's	Nadelen t.o.v. menselijke embryo's
Abortus-materiaal	Vrouwen die een geplande abortus ondergaan (voor medische of niet-medische redenen) kunnen abortusmateriaal ter beschikking stellen.	Abortusmateriaal is beschikbaar in ontwikkelingsstadia tussen 2 en 22 weken na bevruchting, maar in de praktijk wordt er zelden een embryo gevonden in de vruchtzak vóór 28 dagen ontwikkeling (dus na bevruchting).	Embryo's zijn in dit geval restmateriaal; alle organen en structuren zijn beschikbaar van 4-22 weken na bevruchting en kunnen in vitro de ontwikkeling (gedeeltelijk) hervatten (slechts beperkt omdat er geen bloedsomloop meer is en het materiaal vaak niet-intact wordt verkregen) of er kunnen cellen verkregen worden om als organoïden verder te kweken; in het geval van een medische indicatie zijn chromosomale afwijkingen bekend.	Pas voldoende beschikbaar vanaf circa 6 weken zwangerschap (dus 4 weken embryonale ontwikkeling); materiaal is vaak niet-intact (waardoor niet langer de ontwikkeling van het embryo in zijn geheel te bestuderen valt); ad hoc toegang tot materiaal; afwisselende kwaliteit, mede afhankelijk van de gezondheid van moeder (bijvoorbeeld in geval van drugs-, medicijn- of alcoholgebruik tijdens zwangerschap).
Dier-modellen	Embryo's van dieren (zoals muizen, ratten of niet-menselijke primaten) en in mindere mate van andere zoogdieren (runderen) of andere diersoorten (zebravis, fruitvlieg, etc.).	Zoogdieren hebben morfologisch een vergelijkbare pre-implantatieperiode, maar met significante verschillen in de timing van processen. Tijdens de implantatie en vorming van de lichaamsassen zijn de ontwikkelingsprocessen zeer soortspecifiek. De vorming van organen is weer relatief vergelijkbaar tussen zoogdieren, maar met significante verschillen, zoals bij de vorming van de hersenen. De orgaanvorming in de mens is complexer en duurt langer dan in de muis. Daarbij ondergaan organen in de mens exponentiële groei.	Diermodellen zijn fysiologische modellen. Indien de infrastructuur en ethische goedkeuring in orde is, is er toegang en beschikbaarheid (het is eenvoudig om zwangerschappen te plannen met proefdieren qua aantallen en zwangerschapsstadia); de genetische achtergrond is vaak bekend; het is mogelijk om genen te modificeren om de functie van genen te bestuderen en het is mogelijk om genproducten of structuren te markeren om deze zichtbaar te maken.	Significante verschillen met humane embryo's, waardoor de kennis van beperkte waarde is voor de mens (extrapolatie is niet altijd mogelijk).

Alternatief	Omschrijving	Vergelijking met embryonaal ontwikkelingsstadium	Voordelen t.o.v. menselijke embryo's	Nadelen t.o.v. menselijke embryo's
Celkweek	<p>2D-stamcelmodellen die een beperkt gedeelte (celtypen) van een humaan embryo nabootsen tijdens de ontwikkeling en/of volwassenheid (bv. stamcellen uit beenmerg). Normaal is een celkweek beperkt tot een celtype, dat zich normaliter niet ontwikkelt tot het volwassen stadium, tenzij het afkomstig is van volwassen cellen. Bij een celkweek gaat het om een of enkele cel-lagen.</p>	<p>Een celkweek kan minder complexe stadia laten zien, omdat de cellen in een 2D-laag blijven. In een celkweek met pluripotente stamcellen ontwikkelen de cellen vanuit het stadium van de primitiefstreep/gastrulatie verder, soms zelfs tot volwassen celtypen. Vaak stagneert de ontwikkeling in een foetaal stadium. Er is namelijk weinig bekend over de signalen die nodig zijn om de cellen te laten ontwikkelen tot een volwassen stadium. In tegenstelling tot organoïden – waar afwezigheid van bloedsomloop de groei remt – speelt dat bij celkweek geen rol. Vaak helpt het de cellen om verder te differentiëren wanneer deze alsnog in 3D-kweek opgenomen worden met cellen van een specifiek orgaan.</p>	<p>Voordelen zijn dat het een eenvoudig systeem is om te interpreteren, omdat het minder heterogeen is (minder verschillende celtypen bij elkaar) en een plaatstructuur heeft. 2D-stamcelmodellen zijn goed reproduceerbaar, ideaal voor medicijntesten en om veel aandoeningen tegelijk te testen. 2D-stamcelmodellen zijn interessant om op celniveau te onderzoeken, door bijvoorbeeld een genmutatie te repareren en meteen op functionaliteit te testen of om te begrijpen hoe de celtypen reageren. Omdat er veel aandoeningen tegelijkertijd getest kunnen worden en de cellen met precisie in kweek gevolgd kunnen worden, zijn 2D-stamcelmodellen uitermate geschikt voor onderzoek op celniveau.</p>	<p>2D-stamcelmodellen zijn niet fysiologisch (het gedrag van de celtypen in isolatie is vaak anders dan in een weefsel) en weinig complex (celtypen in isolatie bevinden zich vaak op een hard substraat/plastic). Ze representeren dus noch het orgaan van een embryo, noch het embryo in zijn geheel.</p>

Alternatief	Omschrijving	Vergelijking met embryonaal ontwikkelingsstadium	Voordelen t.o.v. menselijke embryo's	Nadelen t.o.v. menselijke embryo's
Niet-intacte ELS	<p>3D- of 2D-stamcelmodellen die de humane embryonale ontwikkeling gedeeltelijk nabootsen. Organoïden zijn een type niet-intacte ELS (zie hieronder). Er zijn ook nog niet-intacte ELS die alle embryonale celtypen kunnen bevatten, maar in ieder geval niet al het extra-embryonaal weefsel corresponderend met het ontwikkelingsstadium welke het nabootst.</p> <p>Niet-intacte ELS kunnen niet alle aspecten van een intact embryo nabootsen.</p>	<p>Niet-intacte ESL kunnen corresponderen met bepaalde structuren van ontwikkelingsstadia tussen dag 5 en dag 28. Omdat er weinig kennis is over in hoeverre niet-intacte ELS verschillen van embryo's is voorzichtigheid met extrapolatie noodzakelijk. Ook laten wetenschappers uit voorzorg bepaalde niet-intacte ELS juist niet verder ontwikkelen dan een structuur die op een dag 14-embryo lijkt, met het oog op de veertien-dagengrens.</p>	<p>Niet-intacte ELS kunnen niet alle aspecten van een intact embryo nabootsen, maar kunnen geschikt zijn om specifieke processen die tijdens de vroege ontwikkeling plaatsvinden te bestuderen. Niet-intacte ELS kunnen bijvoorbeeld processen die tijdens week 3 en week 4 plaatsvinden nabootsen. Zoals bij celweek (2D) of organoïden (3D), kunnen genetisch gemodificeerde stamcellen gebruikt worden. Daarnaast zijn niet-intacte ELS klein, relatief eenvoudig te maken en reproduceerbaar. ELS zijn genetisch identiek aan de donor van de gebruikte stamcellen.</p>	<p>Omdat er weinig kennis is over in hoeverre niet-intacte ELS verschillen van embryo's is voorzichtigheid met extrapolatie noodzakelijk. Omdat niet-intacte ELS niet alle aspecten van een intact embryo nabootsen, blijft het onduidelijk hoe studies met die structuren zich verhouden tot studies met (intacte) embryo's.</p>

Alternatief	Omschrijving	Vergelijking met embryonaal ontwikkelingsstadium	Voordelen t.o.v. menselijke embryo's	Nadelen t.o.v. menselijke embryo's
Organoïden	<p>3D-stamcel-modellen die een gedeelte van een humaan embryo nabootsen tijdens de ontwikkeling en/of van het volwassen lichaam. Dit kan door een of meerdere organen of structuren tegelijk te vormen en in vitro te kweken (zoals bij axio-loids, die zowel een neurale buis als somieten bevatten). Organoïden kunnen ontstaan uit een enkele stamcel of uit meerdere cellen (al dan niet van hetzelfde celtype). Afhankelijk van het type cellen, de hoeveelheid organen en de mate van zelf-organisatie die een organoïde vertoont, kan een organoïde beschouwd worden als niet-intacte ELS, ervan uitgaande dat ELS-structuren zijn die een embryo geheel of gedeeltelijk nabootsen.</p>	<p>Organoïden kunnen gemaakt worden van stamcellen, uit weefsels van een embryo of volwasse. De oorsprong bepaalt welk stadium zij nabootsen. Organoïden kunnen ook gemaakt worden uit pluripotente stamcellen en de ontwikkeling van bepaalde organen of weefsels doorlopen vanaf het stadium van de primitiefstreep/gastrulatie (eerste stap is differentiatie van de kiemlagen) tot en met een structuur die ten minste een specifieke functie van het orgaan vertoont. Meestal differentiëren de celtypes in organoïden uit pluripotente stamcellen niet tot het volwassen stadium (maar er zijn steeds betere protocollen).</p>	<p>Aangezien organoïden slechts een gedeelte van het lichaam/het embryo nabootsen, is het minder complex om deze te analyseren. Wanneer organoïden vanuit stamcellen gevormd zijn, is het eenvoudig om ze genetisch te modificeren of bepaalde genproducten of structuren te markeren om deze zichtbaar te maken (zoals bij diermodellen). Organoïden zijn klein, relatief eenvoudig te maken en goed reproduceerbaar. Daarom zijn organoïden zeer geschikt om op functionele eenheid of weefselniveau als model te gebruiken voor onderzoek. Organoïden zijn bijvoorbeeld een aantrekkelijk model om medicijnen op te testen.</p>	<p>Organoïden hebben vaak een zeer beperkte functionaliteit en complexiteit. Deze modellen kunnen niet al te complexe structuren nabootsen en de ontwikkeling bereikt het volwassen stadium van organen niet (tenzij de cellen van volwassenen oorsprong zijn, zoals tumoïden). Organoïden zijn geen fysiologisch model. Er ontbreken veel celtypen en de organisatie van cellen en weefsels is niet hetzelfde als in het specifieke orgaan. Organoïden hebben vaak geen doorbloeding, geen innervatie (zenuwen), geen immuunsysteem, etc. Veel typen organoïden zijn cystische structuren, met 1-2 cellagen en een paar celtypen. De structuren zijn vaak heel klein (tot enkele millimeters), met zeer beperkte groei-mogelijkheden omdat er geen doorbloeding is. Organoïden bootsen nooit gehele embryo's na, maar altijd slechts delen van een orgaan of een orgaanstelsel.</p>

Alternatief	Omschrijving	Vergelijking met embryonaal ontwikkelingsstadium	Voordelen t.o.v. menselijke embryo's	Nadelen t.o.v. menselijke embryo's
Intacte ELS	Embryo's die gemaakt worden door het samen--rengen van de benodigde stam--celtypen, waarna een embryo--achtige structuur ontstaat. Intacte ELS correspon--deren met een intact embryo van het ontwikkelings--stadium dat het nabootst, met zowel alle embryonale als extraembryonale celtypen. Intacte ELS kunnen hiermee alle aspecten van een intact embryo nabootsen.	Inherent aan het proces van het maken van intacte ELS is dat de daaruit ontstane structuren bij hun ontstaan te vergelijken zijn met embryo's van dag 5-10. Daarna zijn ze door te kweken op eenzelfde manier als klassieke embryo's (ontstaan door be--vruchting). Omdat er weinig kennis is over in hoeverre ELS ver--schillen van embryo's is voorzichtigheid met extrapolatie geboden. Ook laten weten--schappers uit voorzorg bepaalde ELS juist niet verder ontwikkelen dan een structuur die op een dag 14 embryo lijkt, met het oog op de veertien--dagengrens.	ELS zijn eenvoudiger en in grotere hoeveelheden te produceren dan embryo's. Er zijn namelijk geen donoren van eicellen en zaad--cellen nodig, alleen donoren van de te gebruiken stamcellen. Bovendien zijn ELS eenvoudig om genetisch te modificeren (al voordat de gehele structuur gemaakt wordt).	Het is nog onduidelijk of intacte ELS volledig identiek zijn aan klassieke embryo's en tot hoever ze zich kunnen ontwikkelen. Genetisch gezien zijn intacte ELS minder divers dan klassieke embryo's, omdat de structuren een genetische kloon zijn van de cellen waaruit zij ontstaan. In de ziens--wijze van de Gezondheidsraad zijn intacte ELS geen moreel wenselijker alternatief voor het gebruik van klassieke embryo's. Zij dienen op eenzelfde manier beschermd te worden.

Literatuur

- 1 Schoenwolf G, Bleyl S, Brauer P, Francis-West P. *Larsen's Human Embryology*. Elsevier; 2021.
- 2 Gilbert SF, Barresi MJF. *Developmental biology*. Oxford University Press; 2020.
- 3 Jensen KB, Little MH. *Organoids are not organs: Sources of variation and misinformation in organoid biology*. Stem Cell Reports 2023; 18(6): 1255-1270.
- 4 International Society for Stem Cell Research. *Guidelines for Stem Cell Research and Clinical Translation*. 2021.
- 5 Dondorp WJ, Ploem MC, De Wert GMWR, De Vries MC, Gevers JKM. *Derde evaluatie Embryowet*. Den Haag, 2021.
- 6 IGJ. *Rapportage Wet afbreking zwangerschap (Wafz)*. <https://www.igj.nl/over-ons/igj-in-cijfers/cijfers-zwangerschapsafbreking>.

Tabel 2 Ontwikkelingsprocessen en gerelateerde stoornissen in week 3 en 4 van de embryonale ontwikkeling

Periode van ontwikkeling	Week 3 (dag 15 – dag 21 na bevruchting)	Week 4 (dag 22 – dag 28 na bevruchting)
Wat gebeurt er tijdens deze periode?	Gastrulatie (vorming van de drie kiemlagen); vorming van bloedeilandjes en primitieve hematopoëse in de dooierzak; vorming van de oergeslachtscellen (kiemcellen), neurale plaat, kloppende hartbuis en begin van de bloedsomloop	Start van de morfogenese van het hart (<i>looping</i>); neurulatie; migratie van neurale lijstcellen (perifeer zenuwstelsel); ontstaan van voorstadia van de darmen, longen, lever, pancreas, nieren, spieren, wervels, huid en (bij)schildklier; definitieve hematopoëse (vorming van bloedcellen en bloedplaatjes); begin van de vorming van de ledematen, voorstadia van de ogen en oren; migratie van oergeslachtscellen (kiemcellen) naar de gonaden en aanleg van het immuunsysteem
Wat zouden we kunnen leren van het onderzoeken van een intact embryo tijdens die periode?	Het ontstaan van de drie lichaamsassen (dorsaal-ventraal, anterior-posterior en links-rechts); lichaamssegmentatie; ontstaan van de bloedsomloop en de ontwikkeling van de interactie tussen moeder en foetus	Vouwing van het lichaam; ontstaan van de grootste lichaamsholtes; patroonvorming van de organen en regionalisatie langs de drie assen; celmigratie (neuronen, kiembaan, bloed- en immuuncellen); allervroegste ontwikkeling van de voorstadia van alle organen; uitbreiding van de placenta en het amnion
Welke ontwikkelingsstoornissen zouden we beter kunnen begrijpen?	Ziekten die te maken hebben met morfogenese, waarbij het belangrijk is om het embryo als geheel te bestuderen. Voorbeelden hiervan zijn: afwijkingen die ontstaan bij onjuiste vorming van de drie lichaamsassen (cyclopia, situs inversus, caudale dysplasie); cardia bifida; <i>twinning abnormalities</i> (Siamese tweelingen) en <i>midline</i> defecten (holoprosencefalie)	Ziekten die te maken hebben met morfogenese, waarbij het belangrijk is om het embryo als geheel te bestuderen. Voorbeelden hiervan zijn: defecten aan de lichaamswand (gastroschisis, omphalocèle, Eagle-Barrett syndroom, extrofie van de blaas, ectopia cordis (vouwing van het embryo mislukt)); problemen met neurulatie; <i>midline</i> defecten; neurale lijstziekten die te maken hebben met migratie van de neurale lijstcellen (bijv. syndroom van Waardenburg, ziekte van Hirschsprung); scoliose; teratomen (ectopische kiembaan tumor) en aanlegstoornissen van alle organen

Periode van ontwikkeling	Week 3 (dag 15 – dag 21 na bevruchting)	Week 4 (dag 22 – dag 28 na bevruchting)
Welke alternatieven zijn er om de ontwikkelingsprocessen in die periode te bestuderen?	<ul style="list-style-type: none"> • Diermodellen • Organoïden en andere niet-intacte ELS, zoals gastruloids/axioloids kunnen bijvoorbeeld gebruikt worden voor onderzoek naar (patroon)-vorming van de neurale plaat, somieten en segmentatie; hartorganoïden zijn geschikt voor onderzoek naar de vorming van cardiomyocyten • Celkweek: voor specificatie van kiemcellen 	<ul style="list-style-type: none"> • Diermodellen • Orgaanspecifieke organoïden • Bepaalde niet-intacte ELS voor onderzoek naar de voorstadia van organen en regionalisatie • Celkweken, die specifieke celtypen nabootsen
Voor welke ontwikkelingsprocessen zijn er geen alternatieven?	Vorming van de lichaamsassen als geheel en in relatie tot de extraembryonale weefsels; ontstaan van de bloedsomloop; morfogenese van het hart en neurale plaat (beperkt mogelijk met diermodellen)	Ziekten waarbij het belangrijk is om een intact embryo te bestuderen, zoals bij problemen met de migratie van neurale lijstcellen of kiemcellen; migratie van immuun- en bloedcellen; vouwing van het embryo; vorming van de lichaamswand en holtes; morfogenese van organen (bijv. hart <i>looping</i> /septatie)

Literatuur

- 1 Schoenwolf G, Bleyl S, Brauer P, Francis-West P. *Larsen's Human Embryology*. Elsevier; 2021.

De Gezondheidsraad, ingesteld in 1902, is een adviesorgaan met als taak de regering en het parlement 'voor te lichten over de stand der wetenschap ten aanzien van vraagstukken op het gebied van de volksgezondheid en het gezondheids(zorg)onderzoek' (art. 22 Gezondheidswet). De Gezondheidsraad ontvangt de meeste adviesvragen van de bewindslieden van Volksgezondheid, Welzijn en Sport; Infrastructuur en Waterstaat; Sociale Zaken en Werkgelegenheid en Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit. De raad kan ook op eigen initiatief adviezen uitbrengen, en ontwikkelingen of trends signaleren die van belang zijn voor het overheidsbeleid. De adviezen van de Gezondheidsraad zijn openbaar en worden als regel opgesteld door multidisciplinaire commissies van – op persoonlijke titel benoemde – Nederlandse en soms buitenlandse deskundigen.

U kunt dit document downloaden van www.gezondheidsraad.nl.

Gezondheidsraad. Achtergronddocument Wetenschappelijk belang van embryo-onderzoek na 14 dagen. Achtergronddocument bij De veertiendagengrens in de Embryowet. Den Haag: Gezondheidsraad 2023; publicatienr. 2023/16A.

Auteursrecht voorbehouden

