IQ Scientific Institute for Quality of Healthcare

Radboud University Nijmegen Medical Centre

Adviesrapport Cybriden

Dr E. Garcia
Prof. dr. Evert van Leeuwen

Nijmegen, augustus 2012

UMC St Radboud

Adviesrapport Cybriden

Dr. E. Garcia
Prof. dr. Evert van Leeuwen

Nijmegen, augustus 2012

IQ Scientific Institute for Quality of Healthcare
Radboud University Nijmegen Medical Centre

Scientific Institute for Quality of Healthcare (IQ healthcare)

Missie

Scientific Institute for Quality of Healthcare (IQ healthcare) is een internationaal topcentrum voor onderzoek, onderwijs en ondersteuning op het gebied van ethiek, kwaliteit, veiligheid en innovatie in de gezondheidszorg. Daarmee willen we bijdragen aan effectieve, veilige, patiëntgerichte en ethisch verantwoorde patiëntenzorg.

Onze ambities

- Uitvoeren van hoogwaardig wetenschappelijk onderzoek op het gebied van kwaliteit en veiligheid in de zorg. Bij een internationale visitatie werd IQ healthcare neergezet als 'excellent' en 'world leading' op het terrein van ethiek, kwaliteit en patiëntveiligheid van de zorg.
- Verzorgen van onderwijs op het gebied van kwaliteit en veiligheid van zorg.
- Ondersteunen van zorgaanbieders, beleidsmakers, beroeps- en patiëntenorganisaties, instellingen, zorgverzekeraar en overheden bij de implementatie van optimale patiëntenzorg.

IQ healthcare is een onafhankelijke, zelfstandige afdeling van het UMC St Radboud. Het instituut is actief in de eerstelijnsgezondheidszorg, de intra- en transmurale zorg, paramedische wetenschappen, verplegingswetenschap en ethiek. In het instituut werken ruim 140 mensen. Het team is ervaren, deskundig en sterk door haar multiprofessionele samenstelling van artsen, verpleegkundigen, paramedici, gezondheidswetenschappers, epidemiologen, sociale wetenschappers en ethici.

Belangrijke thema's

- Implementatie van richtlijnen en 'best practices'
- Meten en evalueren van innovaties in de zorg
- Patiëntveiligheid en veiligheidsmanagement
- Professionele ontwikkeling van klinische professionals
- Ethische en morele aspecten van kwaliteit en veiligheid
- Versterken van de rol van patiënten in de zorg
- Indicatorontwikkeling, transparantie en publieksinformatie
- Integrale zorg, ketenzorg en 'disease management'
- Leefstijl, zelfmanagement en therapietrouw voor patiënten
- Zorg voor kwetsbare ouderen en palliatieve zorg

Correspondentie

Prof. dr. E. van Leeuwen
Scientific Institute for Quality of Healthcare,
UMC St Radboud
Postbus 9101 (114 IQ healthcare)
6500 HB Nijmegen
T: 024-3615320
E: e.vanleeuwen@iq.umcn.nl
www.iqhealthcare.nl

Bezoekadres

Geert Grooteplein Noord 21
Route 114
6525 EZ Nijmegen

Over de auteurs:
Dr. E. Garcia is doctor in de moleculaire biologie en in de ethiek. Zij werkt als postdoc aan het UMC St Radboud.
Prof. Dr. E. van Leeuwen is hoogleraar Medische Ethiek aan het UMC St Radboud.

Lijst met Afkortingen

AS	Adulte Stamcellen
ES	Embryonale Stamcellen
iPSC	Induced Pluripotent Stem Cells
iSCNT	Interspecies Somatic Cell Nuclear Transfer
mtDNA	Mitochondrieel DNA
nDNA	Nucleair DNA
SCNT	Somatic Cell Nuclear Transfer

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING 8

OPSOMMING VAN DE BEVINDINGEN IN DE WETENSCHAPPELIJKE LITERATUUR: 13

CONCLUSIE EN ADVIES 14

1. INLEIDING 16

2. WETENSCHAPPELIJKE ASPECTEN 20

2.1. Enkele termen 20
2.2. Geschiedenis van het gebruik van mens-dier constructen in onderzoek 20
2.3. Stamcellen 24
2.3.1. Embryonale stamcellen (ES) 24
2.3.2. Adulte stamcellen (AS) 26
2.3.3. Hoe kom je aan pluripotente stamcellen? 29
2.4. Cytoplasmatische hybride mens-dier embryo's (Cybriden) 32
2.4.1. Werking en functie van de mitochondriën 33
2.4.1.1.Het aantal mitochondriën in de eicel, samengebracht met de kern van de donorcel 34
2.4.1.2. Replicatie van het dierlijke en menselijke mtDNA 34
2.4.1.3. Levensvatbaarheid van cybriden 37
2.4.2. Veiligheid 40
2.4.2.1. Risico's verbonden aan kerntransplantatie 40
2.4.2.2. Kruisinfecties: Overdracht van virussen van dieren naar de mens 41
2.5. Wetenschappelijk belang van cybriden: Waarvoor wordt onderzoek naar menselijke stamcellen gekweekt uit cybriden gedaan? 42
2.6. Alternatieven voor het gebruik van cybriden 44
2.7. Conclusies 49

3. LEVENSBESCHOUWELIJKE ASPECTEN 51

3.1. Inleiding 51
3.2. Morele status van het embryo 52
3.2.1 Absolute beschermwaardigheid 52
3.2.2. Geen beschermwaardigheid 54
3.2.3. Toenemende/ Relatieve beschermwaardigheid 56
3.2.4. De morele status van cybriden 58
3.3. Relatie mens-natuur 59
3.3.1. De mens als rentmeester (beheerder) van de natuur 59
3.3.2. De mens als heerser over de natuur 62
3.3.3. De mens als onderdeel van eco-systemen 62
3.4. Relatie mens/dier 63
3.4.1. Ontologisch verschil tussen mens en dier 64
3.4.2. Continuïteit tussen mens en dier 65
3.4.3. Vermenging DNA van mens, dier of tussen soorten 65
3.5. De morele status van dieren 67

3.5.1. Antropocentrisme 67
3.5.2. Pathocentrisme 68
3.5.3. Intrinsieke waarde van het dier als "subject" van leven. 70
3.6. Toepassingen op cybriden 71
3.6.1. Ingrijpen in de natuurlijke ordening 71
3.6.2. Morele houding tegenover cybriden 72

4. ETHISCHE ASPECTEN VAN CYBRIDENONDERZOEK 74

4.1. Inleiding 74
4.2. Menselijke waardigheid 75
4.3. Schending van de orde in natuur/ grenzen tussen soorten 77
4.4. Het onnatuurlijkheidsargument. 79
4.5. Morele intuïties van afkeer: de Yuk factor 81
4.6. De waarde en integriteit van het dier 82
4.7. Waarde en noodzaak van cybridenonderzoek met het oog op klinische toepassing 84
4.8. Conclusie: Morele argumenten voor en tegen cybridenonderzoek 87

5. JURIDISCHE ASPECTEN VAN CYBRIDENONDERZOEK 90

5.1.Embryowet 90
5.1.1.Onderzoek met embryo's 90
5.1.2. Embryo's ter beschikking stellen 92
5.1.3. Centrale toetsing van embryo-onderzoek 92
5.2. Regelgeving op het gebied van dieren 93
5.2.1. Wet op de dierproeven (Wod) 93
5.2.2. Gezondheids- en welzijnswet voor dieren (GWWD) 94
5.3. Europese dimensie 94
5.3.1 Convention on Human Rights and Biomedicine Verdrag inzake Mensenrechten en Biogeneeskunde 94
5.3.2. Protocol inzake het kloneren van mensen 95
5.3.3.Bescherming van dieren 96
5.3.4. Rechtsbescherming van biotechnologische uitvindingen; Europees Octrooi Verdrag 97

6. LITERATUUR 101

Samenvatting

Onderzoek met 'interspecies Somatic Cell Nuclear Transfer (iSCNT) embryo's', of cybriden, wordt beschouwd als een alternatief voor onderzoek met embryonale stamcellen (ES). De belangrijkste morele problemen die aan het onderzoek met ES kleven, gelden niet voor cybriden.

Wel roept het creëren van cybriden nieuwe (morele) vragen op. De meest in het oog springende vraag betreft de biologische status van de cybride. Kan de cybride als een menselijk of dierlijk embryo worden gekwalificeerd of is het slechts een klompje cellen met embryonale kenmerken? Welke criteria zou men moeten aanleggen om die vraag te beantwoorden en de menselijke of dierlijke aard vast te stellen? Van belang bij het antwoord op deze vragen is het feit dat cybriden voor ongeveer 99% uit menselijk DNA bestaan en dat slechts 1% DNA (het mitochondriële DNA (mtDNA)) van dierlijke oorsprong is.[1] [2]

Het speciaal en opzettelijk bij elkaar voegen van menselijke en dierlijke gameten, uitsluitend voor onderzoeksdoeleinden, is in Nederland ingevolge de Embryowet verboden. Een cybride wordt niet door een dergelijke samenvoeging tot stand gebracht en dus vormt dat verbod in de Embryowet geen belemmering voor het tot stand brengen van cybriden. Wanneer cybriden worden beschouwd als menselijke embryo's, dan geldt in dat geval artikel 1 van de Embryowet, althans wanneer zij het vermogen hebben om uit te groeien tot een mens. Met andere woorden, zij moeten dan ten minste levensvatbaar zijn ook buiten het laboratorium. Veel van de in de literatuur als 'embryosparend' gepresenteerde voorstellen berusten op de veronderstelling dat cybriden niet levensvatbaar zijn buiten het laboratorium en dat vervolgens niet-levensvatbare embryo's strikt genomen geen embryo's zijn, ook niet in de zin van de Embryowet, zodat de vernietiging

[1] Lanza RP, *et al*. 2000. "Cloning of an Endangered Species (*Bos gaurus*) Using Interspecies Nuclear Transfer". *Cloning;* 2:79–90.
[2] De Wert GM. "Humane embryonale stamcellen als Heilige Graal. Een ethische reflectie". *Filosofie & Praktijk;* 2001; 22(3): 34-56.

ervan om stamcellen te verkrijgen ook geen moreel en juridisch probleem hoeft op te leveren.[3] [4] [5]

Op dit moment is het niet mogelijk om de levensvatbaarheid van cybriden buiten het laboratorium vast te stellen. Daarvoor zou inplanting noodzakelijk zijn in een menselijke of dierlijke baarmoeder. Dat laatste is in Nederland verboden.[6] Het bewijs dat kan aantonen dat cybriden wel of niet levensvatbaar zijn en dus mogelijk als embryo's in de zin van de Embryowet kunnen worden gezien, stuit derhalve op een ernstig juridisch bezwaar dat het onmogelijk maakt om de implicaties voor de morele handelingsruimte definitief te bepalen.[7] Gesteld dat de uitgroei van een cybride anderszins mogelijk zou zijn, dan zou langs die weg diens status als menselijke embryo kunnen worden bevestigd of ontkend door te bezien of de cybride het vermogen heeft uit te groeien tot een mens. In beide gevallen rijzen er dan ethische problemen met betrekking tot het kunnen verantwoorden van eventuele gebreken en beperkingen bij de uitgegroeide cybride.

Ook als aangetoond kan worden dat cybriden niet levensvatbaar zijn buiten het laboratorium, blijft de vraag naar hun ontologische, morele en juridische status bestaan. Afhankelijk van het antwoord daarop kan worden beargumenteerd of het maken en gebruiken van cybriden al dan niet een ethisch onproblematisch alternatief is voor het gebruik van menselijke embryo's.[8] [9] De vraag naar de morele status van cybriden is in dit rapport nader onderzocht.

[3] Jaenisch R. 2004."Human cloning, the science and ethics of nuclear transplantation". *New England Journal of Medicine;* 351(27): 2787-2791.
[4] Levick SE. 2004. "Ethics of embryonic stem cells". *New England Journal of Medicine*; 351(16): 1687-1690.
[5] Trounson A. 2002. "The genesis of embryonic stem cells. Does parthenogenesis offer a more promising means of developing immune-matched ED cells?" *Nature Biotechnology*; 20(3):237-238.
[6] Wet van 20 juni 2002, houdende regels inzake handelingen met geslachtscellen en embryo's (Embryowet). Staatsblad 2002, 338.
[7] Beca JP. 2007. "Hybrid embryos as a source of embryonic stem cells". *Revista Medica de Chile*; 135(11):1367-1369.
[8] Zwanziger LL. 2003. "Crossing Perspectival Chasms about Species". *American Journal of Bioethics*; 3(3):9-10
[9] De Wert G, Mummery C. 2003. "Human embryonic stem cells: research, ethics and policy". *Human Reproduction*; 18(4): 672-682.

De opvatting dat cybriden niet als menselijke embryo's, maar als dierlijke embryo's dienen te worden beschouwd, leidt eveneens tot ethische afwegingen. In verband met de relatie tussen het mtDNA en het nucleaire DNA (nDNA) in cybriden is de vraag relevant in hoeverre de verhouding tussen mtDNA en nDNA van doorslaggevend belang is voor het bepalen van de status van een entiteit. Slechts een klein deel (1%) van het erfelijke materiaal van een cybride is van dierlijke herkomst, en dat lijkt te weinig om van een dierlijk embryo te kunnen spreken. De onzekerheid over de mogelijke levensvatbaarheid van cybriden buiten het laboratorium speelt ook hier weer een beperkende rol. Wanneer cybriden niet levensvatbaar zijn, is het niet plausibel om aan te nemen dat zij aanspraak kunnen maken op dezelfde bescherming als dieren. Indien zij wel levensvatbaar kunnen zijn na inplanting in een dierlijke baarmoeder, moet worden bepaald of zij in een aantal gevallen in aanmerking komen voor de bescherming zoals wettelijk geldt voor dieren. Wanneer we tot slot spreken van een entiteit die noch mens noch dier is, dan valt die entiteit als zodanig geheel buiten de bestaande ethische en juridische kaders van controle en beoordeling en buiten het rechtendiscours.

Een volgend aspect betreft de zinvolheid van het wetenschappelijk onderzoek met cybriden. Tot nu toe worden cybriden als model gebruikt om de interactie tussen menselijk DNA en dierlijk mtDNA te bestuderen. Er zijn nog geen resultaten verkregen die uitzicht bieden op therapeutische toepassing van cybriden bij de mens.[10] [11] Wetenschappers zijn sinds 2001 bezig om de genen en eiwitten die bij iSCNT zijn betrokken te identificeren.[13] Daarnaast wordt er geëxperimenteerd met iSCNT embryo's van dieren die evolutionair relatief ver van elkaar staan. Die experimenten leveren geen levensvatbare

[10] Vrana PB, *et al*. 2000. "Genetic and epigenetic incompatibilities underlie hybrid dysgenesis in *Peromyscus*". *Nature Genetics;* 25:120–124; Zechner U, *et al*. 2004. "Divergent genetic and epigenetic postzygotic isolation mechanisms". in: *Mus* and *Peromyscus*." *Journal of Evolutionary Biology;* 17: 453–460.
[11] Beyhan Z, *et al.* 2007. "Interspecies nuclear transfer; implications for embryonic stem cell biology." *Cell Stem Cell*; 1:502-512.

cybriden op.[12] De kennis van de ontwikkelingsmogelijkheden van door iSCNT verkregen embryo's is kortom nog beperkt.[13] [14] [15].

De verschillen tussen het mtDNA van verschillende zoogdieren kunnen ertoe leiden dat de uit cybriden resulterende cellen afwijkingen vertonen die hen ongeschikt maken voor therapeutische toepassingen. Experimenten met nucleus transplantatie bij dieren wijzen op verstoorde genexpressie[16] met als gevolg dat de verkregen cellen defecte controlemechanismen vertonen, onder andere in hun genetische blauwdruk.[17] Stamcellen verkregen uit iSCNT bevatten nog DNA van het oorspronkelijke eicel leverende zoogdier in de mitochondriën. Dit zou problemen kunnen opleveren bij de aanmaak van mitochondriën in gespecialiseerde cellen en weefsels.

Er is nog onvoldoende kennis over de veiligheid van de via iSCNT verkregen ES bij therapeutische toepassingen. De veiligheid van de procedure hangt onder meer samen met het mogelijke risico van kruisinfecties van dier naar mens. Aangezien zulke voor dieren besmettelijke virussen zich vooral in het nucleaire dierlijke DNA bevinden, is de kans op dergelijke kruisinfecties volgens schatting gering.[18] Toch is nader onderzoek naar de veiligheid van het gebruik van dergelijke cellen ook dan nodig.

De argumenten die gegeven worden om verder onderzoek te verdedigen lijken onderling tegenstrijdig. Zo opperen voorstanders van

[12] Kwon DK, *et al.* 2011 "Blastocysts derived from adult fibroblasts of a rhesus monkey (Macaca mulatta) using interspecies somatic cell nuclear transfer." *Zygote*; 19(3):199-204; Jiang Y,*et al*. 2011. "Interspecies somatic cell nuclear transfer is dependent on compatible mitochondrial DNA and reprogramming factors." *PLoS One*; 27, 6(4):e14805;Wang K, et al.2011. "Reprogrammed transcriptome in rhesus-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos." PLoS One. 2011;6(7):e22197.
[13] Jaenisch R, Wilmut I. 2001. "Developmental Biology. Don't Clone Humans!" *Science;* 291:2552.
[14] Rhind S, *et al*. 2003. "Human cloning: can it be made safe?" *Nature Reviews Genetics;* 4: 855–864.
[15] Loi P*, et al.*2011. "Interspecies somatic cell nuclear transfer: a salvage tool seeking first aid". Theriogenology; 76(2):217-28. Review.
[16] Jaenisch R .2004. "Human cloning, the science and ethics of nuclear transplantation". *New England Journal of Medicine;* 351(27):2787-2791.
[17] Jaenisch R. 2004."The biology of nuclear cloning and the potential of embryonic stem cells for transplantation therapy". *The President's Council on Bioethics*. Internet: http://www.bioethics.gov/reports/stemcell/appendix_n.html
[18] Gregg K. 2011. "Risk assessment of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) transmission via somatic cell nuclear transfer (SCNT) embryo production using oocytes from commercial abattoirs". *Animal Reproduction Science*; 125(1-4):148-157.

cybridenonderzoek dat met de gebruikte techniek geen (levensvatbare) embryo's ontstaan[19] [20], maar beweren zij tegelijkertijd dat cybriden cruciaal zijn voor onderzoek naar embryonale ontwikkeling. Eveneens is de verwachting dat de toepassing van iSCNT relevant is voor de studie naar neurologische ziekten die pas op volwassen leeftijd tot expressie komen[21] [22], wellicht niet realistisch wanneer cybriden niet levensvatbaar zijn of wanneer hun embryonale ontwikkeling na de 14e dag wordt gestopt.

Tegenstanders van cybridenonderzoek baseren zich voornamelijk op bezwaren die te maken hebben met het overschrijden van mogelijke grenzen tussen de mens en dierlijke soorten. Die bezwaren wortelen voornamelijk in opvattingen over de plaats van de mens in de natuur en de kosmos en over mogelijke morele begrensdheid van het menselijk handelen daarin.

De emotionele afkeer (*yuk factor*) die het vermengen van menselijk en dierlijk erfelijk materiaal kan oproepen, wordt door sommigen als voldoende reden gezien om cybridenonderzoek af te wijzen.[23] De afkeer wordt dan gezien als de emotionele uiting van een diepgewortelde morele overtuiging. Het is van belang die morele afkeer te scheiden van de reacties die een sociale en historische emotionele houding tegenover nieuwe ontwikkelingen vertolken, zoals bij het doorbreken van een taboe. Een belangrijke vraag is dan of en in hoeverre publieke afkeer, of zelfs angst, gehonoreerd c.q. gerespecteerd moet worden. Het emotionele onbehagen bij cybridenonderzoek doet hoogstens de vraag ontstaan: 'hoever kunnen we gaan in het onderzoek naar het leven als verschijnsel'. Bij deze vragen gaat het dan niet alleen om het overschrijden van grenzen tussen soorten of de natuurlijke orde.

[19] Wilmut I. 2004. "The moral imperative for human cloning". *New Scientist;* 181(2435):16–17.
[20] Henderson M. 2007. "Cloning can beat disease". *The [London] Times* (5 January 2007), 6.
[21] Eggan K. 2007. "Dolly's Legacy: Human Nuclear Transplantation and Better Medicines for Our Children". *Cloning Stem Cells;* 9:.21–25
[22] Rose D. 2007. "Research is now my only hope of a cure". *The [London] Times* (5 January 2007), 7.
[23] De Witt N. 2002. "Scientists divided over proposal to create human-mouse embryos". *Nature;* 420: 255.

Opsomming van de bevindingen in de wetenschappelijke literatuur:

- Het onderzoek aan ES verkregen uit iSCNT kan tot belangrijke nieuwe inzichten en therapeutische mogelijkheden leiden. Als wetenschappers erin slagen om ES te verkrijgen zou het probleem van de beschikbaarheid van humane eicellen zijn opgelost. Toch brengt de techniek zijn eigen wetenschappelijke, ethische en juridische problemen met zich mee.
- Er is nog onvoldoende bekend over de eigenschappen van de stamcellen die door iSCNT worden verkregen. Deze stamcellen bevatten nog dierlijk DNA, afkomstig uit de mitochondriën van de eicel waar het menselijke DNA is ingebracht. Het verschil in DNA zou problemen kunnen opleveren bij de aanmaak van mitochondriën in gespecialiseerde weefsels.
- De veiligheid is nog niet met zekerheid vastgesteld. Of de reeds bekende complicaties de toepassing van uit cybriden verkregen stamcellen transplantatie bij de mens onaanvaardbaar maken, is bij de huidige stand van de wetenschap nog niet bekend.
- Een praktisch wetenschappelijk voorstel om aan de onzekerheid een einde te maken is cybriden te creëren waarvan op voorhand vaststaat dat ze nooit levensvatbaar zullen zijn (*non-viable embryo-like artefacts*).[24] Door het opzettelijk aanbrengen van één of meerdere mutaties in de kern van de voor SCNT te gebruiken lichaamscel, zouden cybriden al in een vroeg stadium teloor gaan. De meningen van wetenschappers en filosofen zijn verdeeld over deze procedure.

- Wanneer cybriden buiten de *in vitro* kweekomstandigheden geen kans hebben om te overleven, dan lijkt onderzoek ermee aanvaardbaar te zijn binnen de grenzen van de morele discussie over menselijke en dierlijke beschermwaardigheid.

- Ook al kent de westerse traditie een rijke geschiedenis aan mythen, sprookjes, verhalen en (jeugd)televisieprogramma's waarin mens/dier verschijningen ten tonele worden gevoerd, toch staat in de westerse traditie de mens gewoonlijk centraal in de wereld van de levende wezens

[24] President's Council on Bioethics (PCB). 2004. *Reproduction and Responsibility: The Regulation of New Biotechnologies*. Washington, D.C.

(antropocentrisme) en is deze in moreel opzicht dominant. Daarbij wordt uitgegaan van een kloof tussen de mens en het dierenrijk. Die dominantietraditie zal zich kunnen uiten in een sociaal-emotionele afkeuring jegens het maken van cybriden, die het meer inhoudelijke wetenschappelijk-ethische debat kan bemoeilijken.

- De relatie tussen cybriden en menselijke waardigheid is problematisch. Het is thans moreel ongeoorloofd om een cybride tot een (bijna) menselijke individu te laten uitgroeien[25] met als doel de menselijke eigenschappen ervan te kunnen testen en de ernst van mogelijke afwijkingen te kunnen beoordelen. Tegelijkertijd zijn cybriden nodig om nieuwe inzichten te verwerven in verband met juist ook ziekten die de menselijke waardigheid aantoonbaar aantasten. Interspeciële waardigheid blijkt moeilijk te definiëren. De wetenschappelijke robuustheid van het soortbegrip staat dan ter discussie evenals de morele waardering van het overschrijden van soorten.

Conclusie en Advies

De voors- en tegens overwegende is het verstandig om te stellen dat wetenschappelijk onderzoek met cybriden als model voor de bestudering van de vroege embryonale ontwikkeling thans nog steeds in ontwikkeling is en mogelijk nieuwe inzichten biedt die voor de geneeskunde relevant kunnen zijn. Aangezien er geen uitspraak kan worden gedaan over de levensvatbaarheid van cybriden en hun verdere ontwikkeling, is het geboden om aan de ontwikkeling van cybriden een grens te stellen. In het Verenigd Koninkrijk is die grens bepaald op 14 dagen na het ontstaan in het laboratorium.[26] Die grens lijkt ook voor het onderzoek in Nederland vooralsnog toereikend. Het in de dierlijke baarmoeder verder ontwikkelen van cybriden dient in Nederland te worden verboden zoals het implanteren van de cybride in een menselijke baarmoeder dat op dit moment al is ingevolge artikel 6a van de Wet op de bijzondere medische verrichtingen

[25] Castle D. 2003. "Hopes against hopeful monsters". *American Journal of Bioethics;* 3(3):28-30.
[26] http://www.hfea.gov.uk/3468.html?fldSearchFor=admixed embryos guidance#guidanceSection5015

(WBMV), waar moet worden aangenomen dat het een vorm van xenotransplantatie zou betreffen.

1. Inleiding

Wetenschappelijk onderzoek met stamcellen is in vele opzichten uitdagend. Het onderzoek is nog jong en gaat gepaard met hoge verwachtingen. Klinische doorbraken op het terrein van de embryonale, pluripotente stamcellen (ES) en op het terrein van de adulte, multipotente stamcellen (AS) zijn echter nog zeldzaam. Vanwege de ethische problemen die het onderzoek met (embryonale) stamcellen omgeven en ook de technische problemen, zoals afstoting van ES en de beperkte beschikbaarheid van AS, zijn onderzoekers op zoek gegaan naar alternatieven.
Het probleem van ES en allogene AS is dat zij niet zomaar in het lichaam van de ontvanger kunnen worden geïnjecteerd omdat diens immuunsysteem hen als lichaamsvreemd herkent. Afstoting kan worden voorkomen door gebruik te maken van cellen die resulteren na het toepassen van de techniek van somatische celkern transplantatie (SCNT). Bij deze procedure wordt de kern van een lichaamscel van de patiënt ingebracht in een donoreicel waaruit de oorspronkelijke kern is verwijderd. Deze procedure maakt het wellicht mogelijk om een therapie met 'lichaamseigen' cellen te ontwikkelen, zodat er minder gevaar bestaat voor afstoting.

SCNT, ook wel therapeutisch kloneren genoemd, bevindt zich nog in een fundamenteel stadium, maar het onderzoek ernaar en de mogelijke toekomstige toepassingen ervan zijn desalniettemin controversieel. In de eerste plaats omdat daarbij menselijke embryo's ontstaan die uitsluitend worden gebruikt als bron van stamcellen. Uit respect voor het menselijke leven genieten menselijke embryo's een morele status die verschilt van een willekeurig andere menselijke cel. Door de pluripotentie en het vermogen om tot een menselijk individu uit te groeien zijn zij beschermwaardig. Dit impliceert dat het gebruik van menselijke embryo's voor wetenschappelijke of therapeutische doeleinden morele rechtvaardiging behoeft. Een tweede ethische kwestie hangt samen met de behoefte aan menselijke eicellen voor bepaalde toepassingen en de vraag of het aanvaardbaar is om vrouwen te vragen een belastende en niet geheel risicoloze hormoonstimulatie te ondergaan om eicellen af te staan voor doeleinden, zoals wetenschappelijk

onderzoek, waarvan zij geen direct medisch voordeel hebben en waarbij bovendien de meeste eicellen verloren gaan. Tot nu toe is nog geen groep erin geslaagd via SCNT patiënt-specifieke ES te verkrijgen in een pluripotente cellijn. Nader onderzoek is nodig alvorens aan klinische toepassing te denken valt. Studies suggereren bovendien dat duizenden eicellen nodig zijn voor het verkrijgen van een SCNT cellijn. Ten slotte lijken positieve resultaten alleen te behalen met eicellen afkomstig van vrouwen jonger dan 30 jaar.[27] Wanneer SCNT daadwerkelijk voor het verkrijgen van autologe stamcellen zou kunnen worden toegepast, dan zou het tekort aan eicellen zich echter nadrukkelijk doen voelen nog voordat genoeg stamcellen voor de behandeling van een afzonderlijke patiënt zijn verkregen. De vrees is uitgesproken dat vrouwen dan in een positie terechtkomen waarin ze 'hun recht op lichamelijke integriteit moeten verdedigen tegen de wetenschappelijke en medische vraag om eicellen'[28].

Vanwege de ethische en praktische problemen die zijn verbonden met de productie en toepassing van ES in het algemeen, zijn wetenschappers op zoek naar 'embryosparende' alternatieven, waarbij bovendien geen gebruik hoeft te worden gemaakt van menselijke eicellen. Isoleren van stamcellen uit restembryo's is weliswaar een mogelijkheid, maar die benadering levert geen stamcellen op waarvan het weefseltype volledig overeenkomt met dat van de patiënt. De vraag is daarom of er methoden zijn die ES opleveren die bruikbaar zijn voor autologe celtherapie, maar dan zonder dat bij die methoden menselijke embryo's ontstaan.

Eén van de alternatieven betreft het creëren van mens-dier interspecies-embryo's (cybriden) door middel van *interspecies* SCNT (*i*SCNT). Bij het gebruik van deze techniek wordt de kern uit een gespecialiseerde lichaamscel weggehaald en gebracht in de eicel van een ander zoogdier waaruit de kern is verwijderd. De eicel wordt gestimuleerd in de aanwezigheid van de juiste cultuurcondities zodat die zich tot een blastocyste ontwikkelt.

[27] Hall VJ, *et al.* 2007. "Developmental competence of human in vitro aged oocytes as host cells for nuclear transfer*", Human Reproduction;* 22:52-62.
[28] Ethikrat. "Klonen zu Fortpflanzungszwecken und Klonen zu biomedizinischen Forschungszwecken. Stellungnahme". Berlin: Nationaler Ethikrat, 2004.

Geopperd is dat bij deze techniek geen (levensvatbaar) menselijk embryo ontstaat[29] [30], zodat het onderzoek verder niet belast hoeft te zijn met de discussie over de beschermwaardigheid van menselijke embryo's en bijgevolg de morele en juridische aanvaardbaarheid van het onderzoek minder problematisch zou zijn.[31] Een ander voordeel is dat men niet afhankelijk is van menselijke donoreicellen.

Is het gegeven dat een klein deel van het erfelijk materiaal van de cybride van dierlijke herkomst is, voldoende om te beweren dat we niet van een menselijk embryo kunnen spreken?[32] De meest voor de hand liggende mogelijkheid om die vraag te beantwoorden is vast te stellen of cybriden al dan niet het vermogen hebben om uit te groeien tot een mens (die dan wél in al zijn cellen mtDNA van dierlijke herkomst zou hebben). Daarvoor is het noodzakelijk om de cybride te laten uitgroeien en te implanteren in een draagmoeder. Deze procedure is echter bij wet in Nederland verboden.

De kwestie moet daarom theoretisch worden opgelost, met behulp van ontologische, morele en juridische argumenten. De scheiding tussen mens en dier bevindt zich aan de basis van onze culturele en morele tradities, inclusief de wetgeving. Vrijwel elk rechtssysteem kent een brede jurisprudentie voor de bescherming van menselijke en dierlijke individuen in bijvoorbeeld onderzoeksopleidingen en medische experimenten. Bijna geen land, en ook Nederland niet, heeft een (specifieke) wetgeving voor entiteiten waarvan de status menselijk en ook dierlijk is.

Het creëren van cybriden dwingt ons daarmee de tot nu toe gehanteerde visies op de verhouding tussen mens en dier opnieuw te bezien. Welke eigenschappen geven de mens een speciale status te midden van andere diersoorten? Zal het cybridenonderzoek de (morele) scheiding tussen mens

[29] Chang KH, *et al*. 2004. "An optimized protocol of a human-to-cattle interspecies somatic cell nuclear transfer". *Fertility & Sterility;* 82(4):960-962.
[30] Solter D. 2003. "New paths to human ES cells?" *Nature Biotechnology*; 21(10):1154-1155.
[31] Mandavilli A. 2005. "Scientists seek simple remedies to cloning conundrums". *Nature Medicine* 11(5):459; Murray TH. 2005. "Will new ways of creating stem cells dodge the objections?" *Hastings Center Report*; 35(1):8-9; Bahadur G, *et al.* 2008. "Admixed human embryos and stem cells: Legislative, ethical and scientific advances". *Reproductive Biomedicine online;* 17:25-32.
[32] Solter 2003; Gezondheidsraad 2001.

en dier overschrijden? In het geval dat dit mogelijk is, hoe kan de wetgeving dan rekening houden met de ethisch problematische ontwikkelingen van dit onderzoek?

Het doel van deze analyse is het in kaart brengen van wetenschappelijke, ethische, levensbeschouwelijke en juridische vragen die de ontwikkeling van onderzoek naar cybriden oproept.

De analyse is ingedeeld in vier hoofdstukken. Eerst zijn de wetenschappelijke aspecten in kaart gebracht. De eigenschappen van de cybride, inclusief het vermogen om uit te kunnen groeien, zijn met behulp van de literatuur in kaart gebracht. Daarnaast is aandacht besteed aan de interactie van het dierlijke mtDNA uit de eicel met het menselijke DNA uit de kern. Voorts worden de ethische aspecten besproken en de mogelijke voor- en nadelen van het cybridenonderzoek op basis van de wetenschappelijke gegevens die tot nu toe bekend zijn. De ethische aspecten zijn vervolgens uitgediept naar de levensbeschouwelijke aspecten die te maken hebben met het onderzoek naar embryo's, cybriden en chimeren. Bij deze levensbeschouwelijke aspecten is gelet op zowel de filosofische uitgangspunten als de opvattingen van de belangrijkste religieuze tradities in Nederland. Ten slotte is aandacht geschonken aan het stelsel van wetgeving waarin het onderzoek naar cybriden kan worden ingebed.

Het onderzoek is zo neutraal mogelijk uitgevoerd met een zorgvuldige weergave van de belangrijkste standpunten die in het debat over cybriden aan de orde kunnen komen.

2. Wetenschappelijke aspecten

2.1. Enkele termen

Voordat de wetenschappelijke aspecten van cybridenonderzoek behandeld worden, beschrijven wij een aantal van de termen die veelal worden gebruikt in de context van dat onderzoek. Om verwarring te voorkomen: de cybride valt niet onder één van hen.

- Een *chimeer* is een combinatie van twee organismen waarvan sommige delen van het lichaam het genoom hebben van het ene organisme en andere delen het genoom van het andere organisme. Een chimeer komt tot stand door in een vroeg stadium van de embryonale ontwikkeling embryo's of delen van embryo's samen te voegen. Het kan gaan om het samenbrengen van twee embryo's van dezelfde soort of van verschillende soorten.
- Een *hybride* is een organisme waarvan in alle cellen een combinatie wordt aangetroffen van het genetische materiaal van twee verschillende organismen die van dezelfde soort (intra-specifiek) of van twee of meer verschillende soorten (inter-specifiek) zijn. Een voorbeeld is een muilezel, een hybride van een ezelin en een paardenhengst.

2.2 Geschiedenis van het gebruik van mens-dier constructen in onderzoek

Vermenging van genetisch materiaal afkomstig uit verschillende dieren heeft een lange geschiedenis in de wetenschap en heeft vaak geleid tot omvangrijke vooruitgang in medisch en landbouwkundig onderzoek.

De eerste interspecies hybriden werden meer dan 500 jaar geleden tot stand gebracht in de veehouderij met het doel dieren met specifieke eigenschappen te verkrijgen.[33] In de 19e eeuw werden in enkele dierentuinen interspecieshybriden verkregen uit leeuwen en tijgers (liger or tigon genoemd) en zebra's en ezels. Interspecies hybriden komen ook in de natuur voor. De meest bekende voorbeelden van natuurlijke hybriden zijn de

[33] Burke JM, Arnold ML. 2001 "Genetics and the fitness of hybrids". *Annual Review of Genetics*; 35:31-52; Zeder MA, *et al.* 2006. "Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology". *Trends in Genetics*; 22:139-155.

muilezel, die ontstaat uit de kruising van een ezelin en een paardenhengst en het muildier, dat ontstaat uit de kruising tussen een paardenmerrie en een ezelhengst.

De nakomelingen die ontstaan uit de kruising van verschillende soorten zijn in de meeste gevallen niet levensvatbaar. Alleen wanneer de soorten genetisch dicht bij elkaar liggen, zoals bijvoorbeeld bij sommige apensoorten, kan kruising levende dieren voortbrengen. Deze nakomelingen zijn meestal onvruchtbaar. Vruchtbaarheid bij de nakomelingen is daarom vaak gezien als een aanwijzing dat de ouders tot dezelfde soort horen. Zo zijn honden en wolven onder dezelfde soort gebracht omdat zij bij kruising vruchtbare nakomelingen voortbrengen. Ook zijn een aantal gevallen gemeld van vruchtbare nakomelingen die zijn ontstaan uit de kruising van paarden en ezels.[34] Er zijn ten slotte vruchtbare nakomelingen verkregen uit de kruising van schapen en geiten.[35]

De ontwikkelingen met het kruisen van diersoorten hebben wetenschappers aangemoedigd apen met de mens te kruisen. Deze pogingen hadden vrijwel geen succes.[36] Alleen in het geval van de bevruchting van orang-oetans met menselijk sperma werd enkele keren een zwangerschap bereikt.

Versmelting van geslachtcellen uit verschillende organismen is gebruikt voor het creëren van mens-hamster embryo's met het doel het penetratievermogen van menselijk sperma vast te stellen ("de hamster test"). Eén van de oorzaken van infertiliteit kan zijn dat de zaadcel het membraan dat de bevruchte eicel omgeeft, niet kan penetreren. Het is vastgesteld dat zaadcellen die de hamsteroocyten penetreerden op een natuurlijke manier een hogere kans hadden om een bevruchting tot stand te

[34] Rong R, *et al.* 1988. "A fertile mule and hinny in China". *Cytogenetics and Cell Genetics*; 47:134-139.
[35] Letshwenyo M, Kedikilwe K. 2000. "Goat-sheep hybrid born under natural conditions in Botswana". *Veterinary Record*; 146:732-734.
[36] Rohleder HO. 1918. "Künstliche Zeugung und Anthropogenie, in Monographien über Zeugung beim Menschen". vol. 6. Leipzig: Georg Thieme; Rossiianov K. 2002. "Beyond species: Il'ya Ivanov and his experiments on cross-breeding humans and anthropoid apes". *Science in Context*; 15:277-316.

brengen dan zaadcellen die dit natuurlijke vermogen niet hadden.[37] De ontwikkeling van het resulterende embryo komt echter niet verder dan het tweecellig stadium.

Een andere manier om interspecies hybriden te verkrijgen is door embryo's uit twee verschillende soorten met elkaar te combineren tot één embryo. Deze techniek werd voor het eerst begin jaren zestig gebruikt bij de combinatie van twee pre-implantatie muizenembryo's van dezelfde soort. In 1965 slaagde Mintz erin twee erfelijk niet verwante jonge muizenembryo's samen te voegen tot één embryo. Na implantatie in een draagmoeder kwam hier één volwassen individu uit voort.[38] Deze techniek is met succes gebruikt voor het combineren van verschillende bovine soorten[39], muis en rat[40] en schaap en geit[41], en resulteert dan in chimeren.

Interspecies hybriden kunnen ook door micro-injectie van DNA worden gemaakt, waarbij genen afkomstig uit één diersoort in de kern van zygotes van een andere diersoort worden ingebracht.[42] Deze techniek is begin tachtiger jaren van de vorige eeuw voor het eerst gebruikt. Sindsdien zijn gecombineerde hybriden (iSCNT embryo's) - voornamelijk muizen en ratten - met genen afkomstig van andere dierensoorten (inclusief menselijke genen) met succes tot stand gebracht.[43] [44]

[37] Koulischer L, Debry JM. 1989. "The hamster test. Practical consequences". *Acta Urologica Belg*a; 57(1):77-81.
[38] Rossant J, Frels WI. 1980. "Interspecific chimeras in mammals: successful live chimeras between mus musculus and mus caroli". *Science;* 208:419-421.
[39] Williams TJ, *et al*.1990 "Production of inter-species chimeric calves by aggragation of Bos indicus and Bos Taurus demi-embryos". *Reproduction, Fertility and Development*; 2:385-394.
[40] Stern MS. 1973 "Chimaeras obtained by aggregation of mouse eggs with rat eggs". *Nature;* 243:472-473.
[41] Fehilly CB*, et al*. 1984 "Interspecific chimerism between sheep and goat". *Nature*; 307:634-636.
[42] Harbers K, Jähner D, Jaenisch R. 1981. "Microinjection of Cloned Retroviral Genomes into Mouse Zygotes: Integration and Expression in the Animal". *Nature;* 293:540-542.
[43] Costantini F, Lacy E. 1981. "Introduction of a Rabbit-Globin Gene into the Mouse Germ Line".*Nature*; 294:92-94.
[44] Wagner TE, *et al.* 1981."Microinjection of a Rabbit Beta-Globin Gene into Zygotes and Its Subsequent Expression in Adult Mice and Their Offspring". *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*; 78:6376-6380.

In der loop der jaren zijn er steeds nieuwe methoden ontwikkeld om mens-dier entiteiten tot stand te brengen.[45] Zo kunnen specifieke genen via virale vectoren in cellen worden gebracht. De genen kunnen worden geïntroduceerd in specifieke loci binnen een gen door middel van homologe recombinatie van ES. ES met menselijke genen die zijn geïntroduceerd in specifieke genloci, worden bij voorbeeld gebruikt om muizen met een bijna compleet 21 menselijke chromosoom te creëren teneinde de pathofysiologie van de trisomie 21 (syndroom van Down) te bestuderen.[46]

De laatste ontwikkelingen in de productie van hybriden betreft interspecies Somatic Cell Nuclear Transfer (iSCNT)waar het DNA van een somatische cel van een organisme uit één diersoort wordt ingebracht in een ontkernde eicel afkomstig uit een andere diersoort. Het doel van iSCNT is niet het tot stand brengen van een (interspecies) embryo dat eigenschappen vertoont van beiden diersoorten. Het voornaamste doel is een entiteit – die cybride wordt genoemd - te ontwikkelen, geschikt voor het isoleren van stamcellen die gebruikt kunnen worden voor onderzoek naar mogelijke therapieën voor ernstige ziekten zoals Alzheimer en Parkinson.

Het inbrengen van menselijke genen en chromosomen in dieren heeft het wetenschappers mogelijk gemaakt om de rol die specifieke genen spelen bij het ontstaan van ziekten te identificeren en dierlijke modellen van menselijke ziekten te ontwikkelen voor nieuwe therapieën.[47] Een voorbeeld is het creëren van muisstammen waarin het gen dat verantwoordelijk is voor de ziekte van Alzheimer is gebracht. Daarnaast worden menselijke genen in dieren, vooral in schapen en geiten, ingebracht voor de productie van therapeutische menselijke eiwitten in de dierenmelk.[48] De productie van groeihormonen in het serum van transgene muizen was in 1982 het eerste

[45] Capecchi MR. 2005. "Gene targeting in mice: functional analysis of the mammalian genome for the twenty-first century". *Nature Reviews Genetics*; 6:507-512.
[46] O'Doherty A, *et al*. 2005 "An aneuploid mouse strain carrying human chromosome 21 with Down Syndrome phenotypes". *Science;* 309:2033-2037.
[47] Wagner EF, Stewart TA, Mintz B. 1981."The Human Beta-Globin Gene and a Functional Viral Thymidine Kinase Gene in Developing Mice". *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*; 78: 5016-5020.
[48] Bosze Z, Baranyi M, Whitelaw BA. 2008. "Producing Recombinant Human Milk Proteins in the Milk of Livestock Species." *Advances in Experimental Medicine and Biology*; 606:357-395.

voorbeeld van de productie van een menselijk therapeutisch eiwit door een dier.[49]

2.3 Stamcellen

Een stamcel is een cel die in staat is om zichzelf in stand te houden door zich eindeloos te delen (*self-renewal*) maar die zich ook kan differentiëren tot één of meer celtypes met uiteenlopende functies in het lichaam, zoals hartspiercellen, rode bloedlichaampjes en huidcellen. Stamcellen zouden dus in beginsel kunnen worden ingezet voor het vervangen van menselijk weefsel. Afhankelijk van het type heeft de stamcel meer of minder mogelijkheden om tot verschillende celtypes te differentiëren.

Voor een goed begrip van de mogelijkheden die stamcellen bieden, wordt in deze analyse een onderscheid gemaakt tussen twee typen stamcellen op basis van hun oorsprong en van de manier waarop zij worden verkregen: a) ES - die kunnen worden afgezonderd uit nog niet ingenestelde embryo's in het blastocyste stadium; b) adulte of volwassen stamcellen - die kunnen worden verkregen uit weefsels of organen van volwassen individuen of foetussen of uit navelstrengbloed.

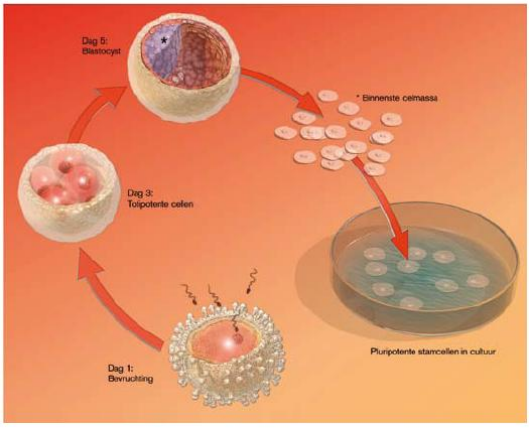
2.3.1. Embryonale stamcellen

Een bevruchte eicel kan in principe uitgroeien tot een complete mens, en deze cel is totipotent (heeft het vermogen heeft alle cellen te vormen die een individu bezit). In de eerste uren na de bevruchting deelt de cel zich een aantal keer, waardoor meerdere, eveneens nog totipotente cellen ontstaan.

Na meerdere rondes van celdeling beginnen de cellen zich te specialiseren, waarbij ze een soort holte vormen, de blastocyste. De blastocyste bestaat uit een buitenste laag cellen en de cellen die zich in de holte bevinden, de zogenaamde binnenste celmassa (Inner Cell Mass ICM). In dit stadium zijn de cellen niet meer totipotent. De buitenste laag ontwikkelt zich tot de placenta en de andere ondersteunende weefsels die bij de vorming van een embryo noodzakelijk zijn. De binnenste celmassa kan ieder celtype vormen dat zich in

[49] Palmiter RD, *et al*. 1982. "Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes". *Nature*; 300: 611-615.

een menselijk lichaam bevindt. Deze embryonale cellen van de binnenste celmassa zijn *pluripotente* stamcellen die kunnen uitgroeien tot ieder gewenste soort weefsel. Deze stamcellen worden afgekort tot ES-cellen of hESC (van het Engelse *human Embryonic Stem Cells)*. ES kunnen zich onophoudelijk blijven delen en vermeerderen. Zij kunnen in het laboratorium onder bepaalde omstandigheden tot relatief snelle deling worden gebracht. Het is daardoor theoretisch mogelijk om in het laboratorium een zeer groot aantal ES te verkrijgen die uit kunnen groeien tot weefsels en misschien tot organen.



Afb. 1: verkrijgen van ES uit de binnenste celmass van de belastocyst.
Bron: viWTA. 2006 Dossier. "Stamceltechnologie modegril of therapie voor de toekomst?"

Over de factoren die de celdeling en differentiatie van ES bepalen bestaat nog veel onduidelijkheid.[50] [51] [52] Menselijke ES cellen die lange tijd zijn gekweekt in een laboratorium vertonen vaak een opeenstapeling van mogelijk kanker-gerelateerde mutaties. Deze eigenschap maakt ze ongeschikt voor therapeutische toepassingen. Bij muizen (proefdieren) is het voorgekomen dat ES niet alleen uitgroeien tot een vervangend of ondersteunend weefsel, maar dat er tumoren ontstaan of een op onjuiste wijze gedifferentieerd weefsel.[53]

ES worden gekweekt op voedingsbodems, die zelf bestaan uit celmateriaal (fibroblasten) afkomstig van muizen (de zogenaamde feeder-layer). Deze

[50] Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. 2001. "Can stem cells cross lineage boundaries?" *Nature Medicine*; 7:393-395.
[51] Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. 2001. "The Evolving Concept of a Stem Cell. Entity or Function?" *Cell*; 105:829-841.
[52] Amit M, *et al*. 2004. "Feeder Layer- and Serum-Free Culture of Human Embryonic Stem Cells." *Biology of Reproduction*; 70:837–845.
[53] Donovan PJ, Gearhart J. 2001."The end of the beginning for pluripotent stem cells." *Nature*; 414:92-97.

voedingsbodem kan besmet raken (bijvoorbeeld met prionen of virussen) en dat brengt dan weer een belangrijk veiligheidsrisico met zich mee.[54]

2.3.2. Adulte stamcellen

Adulte stamcellen (AS) zijn niet gedifferentieerde of niet-gespecialiseerde cellen die in de foetus en in gedifferentieerd en gespecialiseerd weefsel van een volwassen organisme voorkomen. Ze heten volwassen om aan te geven dat ze verder ontwikkeld zijn dan ES.

Vermoedelijk bevat elk orgaan gedurende het hele menselijke leven een kleine voorraad volwassen stamcellen. Deze stamcellen zijn nodig voor het regenereren van beschadigde cellen of om bepaalde cellen met een korte levensduur te verversen. Dit blijkt duidelijk uit de capaciteit van weefsels om zich te herstellen. Tijdens het herstelproces na bijvoorbeeld een huidwond, beginnen de stamcellen van de huid zich te delen en te specialiseren om zo de beschadigde cellen te vervangen en de wond te dichten.

Nog vrijwel dagelijks worden nieuwe soorten volwassen stamcellen ontdekt. Soms betreft het stamcellen in organen waarin zij niet eerder waren gezien, maar meestal zijn het iets afwijkende soorten van wat tot nu toe bekend is. Er zijn indicaties van de aanwezigheid van stamcellen in het hart, de pancreas, de spieren, de huid, de darmen, de bloedvaten, de tanden, de lever, het netvlies, de testes, de hersenen en navelstrengbloed.[55] [56] [57] [58] [59] [60]

[54] Gezondheidsraad (Health Council of the Netherlands). Advies "stamcellen voor weefselherstel" 27 juni 2002.
[55] Zuk PA, *et al*. 2001. "Mutilineage cells derived from human adipose tissue: a putative source of stem cells for tissue engineering". *Tissue Engineering;* 7(2):211–216.
[56] Zhang L, *et al*. 2008. "The stem cell niche of human livers: symmetry between development and regeneration". *Hepatology*; 48(5):1598-1607.
[57] Tonti GA, Mannello F. 2008. "From bone marrow to therapeutic applications: different behaviour and genetic/epigenetic stability during mesenchymal stem cell expansion in autologous and foetal bovine sera?" *International Journal Developmental Biology*; 52(8):1023-1032.
[58] Chen FH, Rousche KT, Tuan RS. 2006. "Technology Insight: adult stem cells in cartilage regeneration and tissue engineering". *Nature Clinical Practice Rheumatology*; 2(7):373-382. Review.
[59] Ourednik V, *et al*. 1999. "Neural stem cells - a versatile tool for cell replacement and gene therapy in the central nervous system". *Clinical Genetics*; 56(4):267-278.
[60] Lemischka I. 1999. "Searching for Stem Cell Regulatory Molecules: Some General Thoughts and Possible Approaches". *Annals New York Academy of Sciences*; 872:274-288.

[61] [62] De rijkste bron van AS is het beenmerg.[63] [64] [65] [66] [67] [68] Er is aangetoond dat cellen uit het beenmerg zich in vivo kunnen differentiëren naar verschillende celtypen, zoals myocyten, hepatocyten, niercellen, neuronen en ook cardiomyocyten en dat ze niet-hematopoëtisch weefsel kunnen herbevolken in vivo, waaronder het hart.[69]

AS zijn verder gedifferentieerd dan ES en niet meer in staat om tot alle celtypes uit te groeien. Vandaar dat ze *multipotent (en niet pluripotent)* worden genoemd. Bij de mens is de regeneratiekracht van de meeste van deze stamcellen relatief beperkt, zeker in vergelijking met andere diersoorten. In de natuur zijn talrijke voorbeelden van dieren voor wie uitgebreide orgaanregeneratie een normale zaak is, zoals platwormen, salamanders, hagedissen etc.[70] Ook hebben de meeste van de volwassen stamcellen niet meer de potentie om zich in het laboratorium onbeperkt te vermeerderen. Na een aantal delingen neemt de delingskracht snel af. Aanvankelijk was men er vast van overtuigd dat de AS alleen tot celtypen van hetzelfde kiemblad konden differentiëren. De groep van de Belgische onderzoekster Catherine Verfaillie van de K.U. Leuven leek het tegendeel te bewijzen. Verfaillie claimde erin te zijn geslaagd AS die waren geïsoleerd uit het beenmerg van volwassenen dieren, te laten differentiëren tot cellen van

[61] Clarke DL, *et al*. 2000. "Generalized potential of adult neural stem cells". *Science;* 288:1660-1663.
[62] Bjornson CRR, *et al*. 1999. "Turning Brain into Blood: a Hematopoietic Fate Adopted by Adult Neural Stem Cells in vivo". *Science*; 283:534-536.
[63] Jiang Y, *et al*. 2002. "Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow." *Nature*; 418:41-49.
[64] Mummery C, van de Stolpe A, Roelen B. 2006. *Stamcellen, Natuurwetenschap en Techniek.* Diemen: Veen Magazines.
[65] Zeng L, *et al*. 2006. "Multipotent adult progenitor cells from swine bone marrow". *Stem Cells*; 24(11):2355-2366.
[66] Pelacho B, *et al*. 2007. "Multipotent adult progenitor cell transplantation increases vascularity and improves left ventricular function after myocardial infarction". *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*; 1(1):51-59.
[67] Aranguren XL, *et al*. 2006. "In vitro and in vivo arterial differentiation of human multipotent adult progenitor cells". *Blood*; 109(6):2634-2642.
[68] Salgado AJ, *et al*. 2006. "Adult stem cells in bone and cartilage tissue engineering". *Current Stem Cell Research and Therapy*; 1(3):345-364**.**
[69] Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. 2001."The evolving concept of a stem cell: entity or function?" *Cell*; 105:829-841.
[70] viWTA dossier. 2007. "Stamceltechnologie, modegril of therapie voor de toekomst?"

een ander kiemblad.[71] Deze cellen werden *Multipotent Adult progenitor cells* (MAP) genoemd, zij bleken meer flexibel te zijn dan AS en vertoonden kenmerken van ES. Dat fenomeen is bekend geworden als *transdifferentiatie.* Ook al is transdifferentiatie bij een aantal gewervelde dieren geconstateerd, daarmee is het nog niet bewezen of het fenomeen daadwerkelijk ook bij menselijk AS voorkomt.[72] [73] Het onderzoek van Verfaillie bleek op dat punt niet te verifiëren.

Bepaalde typen van AS kunnen worden "geherprogrammeerd" om zich *in vivo* tot verschillende celtypen te differentiëren met behulp van een genetische modificatie. Deze techniek is met succes gebruikt om pancreatische bèta cellen – insulineproducerende cellen (in diabetespatienten zijn die beschadigd) - te herstellen. Door de expressie van drie essentiële *bèta-cel* genen te "herprogrammeren" is mogelijk te maken dat gespecialiseerde volwassen pancreatische exocriene cellen insuline secreteren. De geherprogrammeerde cellen toonden de uiterlijke eigenschappen van bèta-cellen en hadden het vermogen de regulatie van suiker in het bloed van muizen van wie de bèta-cellen door chemische behandeling waren aangetast, gedeeltelijk te herstellen.[74] [75]

AS kunnen genetische afwijkingen hebben door de inwerking van giftige stoffen en zonlicht maar ook door fouten die ontstaan tijdens de celdeling. Ten slotte is het moeilijk om de AS die afkomstig zijn uit het lichaam van volwassenen te herkennen, te isoleren en *in vitro* te vermenigvuldigen.

Wetenschappers beschouwen AS gewoonlijk niet als gelijkwaardig aan ES ook als zij de bevindingen van onderzoek naar AS veelbelovend achten.

---

[71] Verfaillie C. 2008. "The undoing of differentiation by four defined factors: A big step forward towards generating patient specific pluripotent stem cells". *Journal of Hepatology*; 49(5):876-878.
[72] Serafini M, *et al*. 2007. "Hematopoietic reconstitution by multipotent adult progenitor cells: precursors to long-term hematopoietic stem cells". *Journal of Experimental Medicine*; 204(1):129-139.
[73] Ross JJ, *et al.* 2006. "Cytokine-induced differentiation of multipotent adult progenitor cells into functional smooth muscle cells". *Journal of Clinical Investigation*; 116(12):3139-3149.
[74] Baeyens L, Bouwens L. 2008. "Can beta-cells be derived from exocrine pancreas*?" Diabetes Obesity Metabolism*; 10 (Suppl 4):170-178.
[75] *Zhou Q,* et al*. 2008*. "*In vivo* reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to B-cells". *Nature;* 455:627-663.

2.3.3. Hoe kom je aan pluripotente stamcellen?

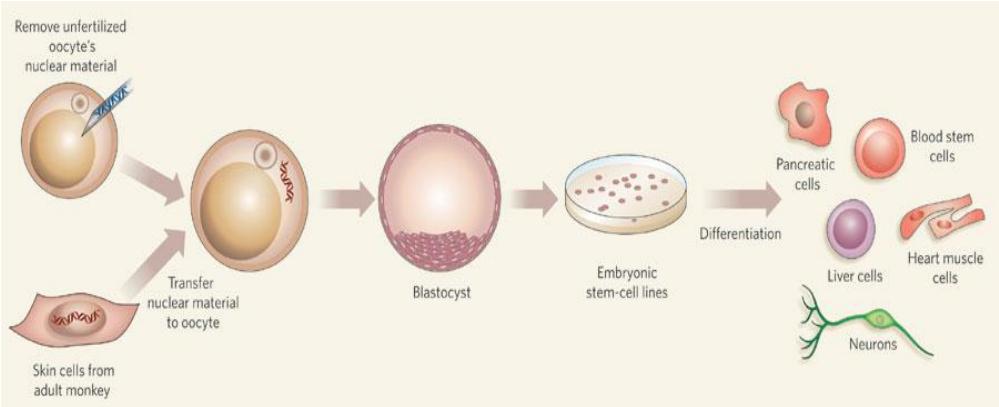
In 1998 isoleerde James Thomson (University of Wisconsin) voor het eerst ES uit de binnenste celmassa van menselijke embryo's in het blastocyste stadium (4-5 dagen embryo). De embryo's waren afkomstig uit IVF klinieken.[76] Sindsdien zijn er wereldwijd meer dan 400 verschillende ES stamcellijnen geïsoleerd. Deze stamcellijnen hebben twee bijzondere eigenschappen. Afhankelijk van de kweekcondities kunnen de cellen zich vernieuwen door identieke dochtercellen te produceren (*proliferatie*) of specialiseren (*differentiatie*). Specialisatie van stamcellen vindt plaats door aanpassing van de kweekomstandigheden waarin de cellen zich bevinden.

Eveneens in 1998 boorde John Gearhart van de Johns Hopkins University op succesvolle wijze een tweede bron van pluripotente stamcellen aan. Hij nam de primordiale kiemcellen weg uit geaborteerde foetussen van vijf à negen weken oud. Ofschoon de vorming van alle weefseltypes niet *in vitro* kon worden bewezen - de cellen vormen na injectie bij muizen geen teratoma's - tonen ook deze kiemcellen zich *in vitro* bijzonder flexibel. Deze foetale stamcellen zijn al enigszins in een bepaalde richting gedifferentieerd, bijvoorbeeld foetaal leverweefsel, maar zij zijn toch nog redelijk pluripotent, m.a.w. zij kunnen nog uitgroeien tot cellen van alle drie de kiemlagen en tot tal van andere weefsels.

Een derde manier om pluripotente stamcellen te isoleren ontstaat door somatische celkerntransplantatie (SNCT). Daarbij wordt de kern van een cel die afkomstig is van een lichaamscel (somatische cel) van een individu of van een cel uit een embryo overgebracht (getransplanteerd) naar een (onbevruchte) eicel waaruit de kern is verwijderd. Wat overblijft in de eicel zijn energieproducerende onderdelen (mitochondriën) en de voedingsstoffen die noodzakelijk zijn voor de ontwikkeling van een embryo. Men verwacht dat de cel die het resultaat is van deze fusie, en de eerstvolgende cellen na deling, de potentie hebben uit te groeien tot een compleet organisme; zij zijn dus totipotent. Zoals eerder beschreven vormen deze *totipotente* cellen na

[76] Thomson J, *et al*. 1998. "Embryonic stem cells derived from human blastocyst". *Science;* 282:1145-1147.

enkele delingscycli een blastocyste. Ook de cellen van de binnenste celmassa van deze blastocyste kunnen, in theorie, worden gebruikt voor het opzetten van pluripotente stamcellijnen. In feite is elke methode waarbij een menselijke blastocyste wordt gevormd een mogelijke bron van menselijke pluripotente stamcellen. Het voordeel van via deze techniek geproduceerde stamcellen is dat ze niet lichaamsvreemd zijn waardoor ze niet worden afgestoten.



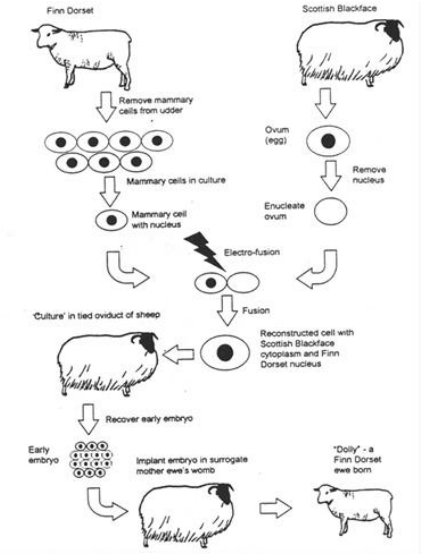
De techniek van SCNT. Bron:Wilmut I, Taylor J. 2007. "Stem cells: Primates join the club" *Nature;* 450:485-486

Deze experimenten zijn relatief gemakkelijk uit te voeren met kernen uit embryo's in een nog zeer vroeg embryonaal stadium, maar lange tijd werd aangenomen dat dit proces onuitvoerbaar zou zijn met cellen afkomstig uit het lichaam van volwassen individuen. De geboorte in 1996 van het gekloneerde schaap Dolly, bracht een omwenteling in deze techniek teweeg en tegelijkertijd nieuwe hoop. De celkern uit een somatische cel (uiercel) van een volwassen schaap werd met micromanipulatoren overgebracht in een eicel van een ander schaap waaruit de eigen, oorspronkelijke celkern was verwijderd. Het zo geconstrueerde embryo groeide uit tot Dolly.[77]

Na Dolly heeft het kloneren van dieren door middel van kerntransplantatie een snelle ontwikkeling doorgemaakt. Sinds Dolly hebben de onderzoekers

[77] Wilmut I, *et al.* 1997. "Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells". *Nature*; 385:810-813.

grotere of kleinere dieren (koeien,[78] geiten,[79] varkens,[80] muizen,[81] honden,[82] apen,[83] wolven,[84] katten, [85] konijnen,[86] en een gaur[87]) gekloond.



Afb. 2: gebruikte techniek om kloonschaap Dolly te krijgen.
Inmiddels is schaap Dolly overleden op 14 februari 2003. ze is 6 jaar geworden.

De slagingskans voor het maken van een SCNT-embryo is vooralsnog beperkt en de kans blijft klein dat het embryo leidt tot de geboorte van een gezond organisme dat vervolgens zal uitgroeien tot een gezonde, volwassen dierlijke kloon.

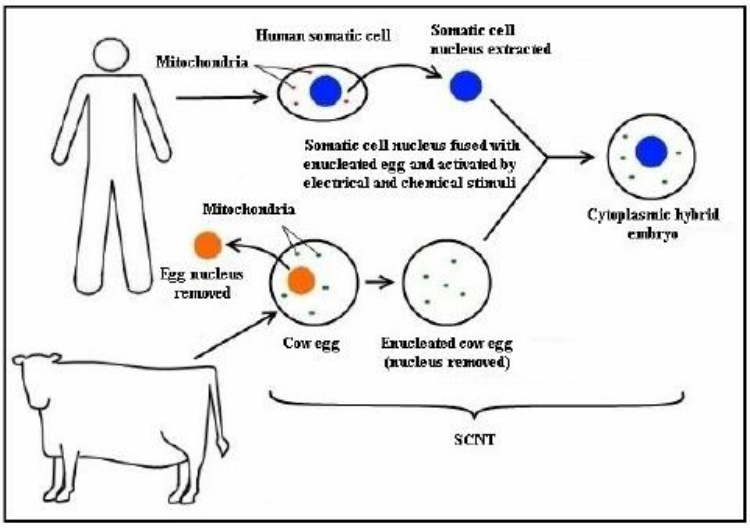
Voor zover bekend bestaat er internationaal nog weinig ervaring met betrekking tot kerntransplantatie bij de mens. De lage efficiëntie van de methode bij dieren doet vermoeden dat de toepassing van kerntransplantatie bij de mens ook weinig efficiënt zal zijn. In mei 2004[88]en in mei 2005[89] trok de groep van de Koreaanse onderzoeker Hwang wereldwijd aandacht omdat zij er als eerste in geslaagd zou zijn via SCNT (inbrengen van de kern

[78] Cibelli JB, *et al*. 1998. "Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts". *Science;* 280:1256–1258.
[79] Baguisi A, *et al*. 1999. "Production of goats by somatic cell nuclear transfer". *Nature Biotechnology*; 17:456–461; Keefer CL, *et al*. 2001. "Generation of dwarf goat (*Capra hircus*) clones following nuclear transfer with transfected and nontransfected fetal fibroblasts and *in vitro*–matured oocytes" *Biology of Reproduction*; 64:849–856.
[80] Polejaeva IA, *et al.* 2000. "Cloned pigs produced by nuclear transfer form adult somatic cells". *Nature;* 407: 86–90.
[81] Wakayama T, *et al.* 1998. "Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei". *Nature;* 394:369–374;
Wakayama T, Yanagimachi R. 2001. "Mouse cloning with nucleus donor cells of different age and type". *Molecular Reproduction and Development*; 58:376–383.
[82] Jang G, *et al*. 2008. "A cloned toy poodle produced from somatic cells derived from an aged female dog". *Theriogenology*; 69(5):556-563.
[83] Byrne JA, *et al*. 2007. "Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer". *Nature;* 450:497-502.
[84] Sanderson K. 2007. "Wolf Clones Confirmed". *Nature News;* Retrieved 4/11/08 at: http://www.nature.com/news/2007/070430/full/news070430-4.html.
[85] Shin T, *et al.* 2002. "A cat cloned by nuclear transplantation". *Nature;* 415:859–860.
[86] Yang F, *et al.* 2007. "Rabbit somatic cell cloning: effects of donor cell type, histone acetylation status and chimeric embryo complementation**".** *Reproduction*; 133(1):219-230.
[87] Lanza R, *et al*. 2000. "Cloning of an Endangered Species (*Bos gaurus*) Using Interspecies Nuclear Transfer". *Cloning:* 2(2):79-90.
[88] Hwang WS. et al. 2004. "Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst". *Science*; 303:1669-1674 (teruggetrokken).
[89] Hwang WS, et al. 2005. "Patientspecific embryonic stem cells derived from human SNCT blastocysts". *Science*; 308:1777-1783 (teruggetrokken).

van menselijke huidcellen in een ontkernde eicel) humane ES te produceren. Enkele maanden na de tweede publicatie kwam aan het licht dat de stamcellen niet verkregen waren uit gekloonde embryo's, maar uit gewone restembryo's na IVF. De publicaties zijn daarna teruggetrokken. Kloneren is bij de mens dus nog geen werkelijkheid.

2.4. Cytoplasmatische hybride mens-dier embryo's (Cybriden)

De ontwikkeling van SCNT heeft ook de creatie mogelijk gemaakt van entiteiten die met interspecies SNCT (iSCNT) tot stand komen, ook wel cybriden genoemd. De meest gevoelig liggende vorm van interspecies cybriden ontstaat door het overbrengen van de kern afkomstig uit een menselijke lichaamscel in een ontkernde dierlijke eicel. Bij deze techniek ontstaat een cytoplasmatisch hybride embryo, cybride genoemd, dat voor meer dan 99% bestaat uit menselijk DNA en ongeveer 1% uit dierlijk DNA - namelijk DNA dat aanwezig is in de mitochondriën van de eicel.



Afb.3: het creëren van een interspecies cytoplasmatic embryo.
Bron: Bioethics advisore committee Singapure. " Human-animal combinations for biomedical research." Consultation paper. (8 Januari) 2008.

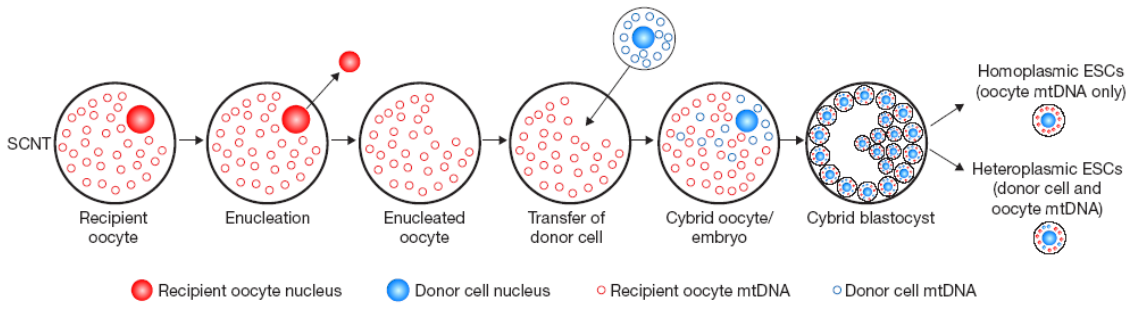
Wetenschappers verschillen van mening over het succes van dit onderzoek en het beoogde doel, namelijk het produceren van *totipotente of pluripotente* stamcellen. De discussie over de techniek concentreert zich op twee aspecten: de werking van de mitochondrieën in de cybride en de veiligheid van de techniek.

2.4.1. Werking en functie van de mitochondriën

Het genetische materiaal in eukaryote cellen is niet beperkt tot de kern. Naast het kern DNA hebben bijna alle cellen een kleine hoeveelheid DNA in hun mitochondriën, het mtDNA. Mitochondriën bestaan onder andere uit 1000 eiwitten die worden gecodeerd door het nucleaire DNA (nDNA). De 13 essentiële polipeptiden van de respiratory chain – het cellulaire complex dat in de mitochondriën verantwoordelijk is voor de productie van energie – worden gecodeerd door het mtDNA. De primaire functie van mitochondrieën is het genereren van energie (ATP) voor de celprocessen. Verder spelen zij ook een rol bij de synthese van steroïden en bij de geprogrammeerde cellulaire dood (apoptosis). Deze functies zijn afhankelijk van genproducten die gecodeerd worden door het nDNA. Mitochondriën staan dus onder de controle van zowel het nucleaire als het mitochondriële genoom.

Embryo's die ontstaan uit natuurlijke bevruchting bevatten alleen mtDNA uit de eicel (*homoplasmie*). ISCNT embryo's kunnen naast mtDNA uit de eicel ook mtDNA uit de donorcel bevatten (*heteroplasmie*). Deze vormen van overerving zijn afhankelijk van twee factoren: het oorspronkelijke aantal mitochondriën in de donorcel en de eicel en het vermogen van producten die het nDNA codeert om te reageren met het mtDNA.

De verhouding tussen het in de cybride aanwezige menselijk en dierlijk mtDNA is van belang voor de levensvatbaarheid van het embryo en voor de eigenschappen van de stamcellen die daaruit worden verkregen. Verder speelt deze verhouding een belangrijke rol bij het bepalen van de aard en morele status van de cybride.



Afb.4: het creëren van ES door middel van SCNT.
*Bron: St*John J, and Lovell-Badge R. 2007.

2.4.1.1.Het aantal mitochondriën in de eicel, samengebracht met de kern van de donorcel

Het aantal mitochondriën varieert in verschillende celtypes. Tijdens het rijpen van de eicel neemt het aantal mitochondriën bijvoorbeeld toe wanneer zij als brandstof voor de fertilisatie nodig zijn. Zo bevatten rijpe eicellen van muizen ongeveer 100.000 mitochondriën.[90]

Een menselijke cel kan tot 2000 mitochondriën bevatten. Moleculen mtDNA komen niet los in de cel voor, maar zij zijn georganiseerd in groepjes die nucleoïden worden genoemd. Sommige van deze nucleoÏden worden met de kern overgebracht tijdens de kerntransplantatie. Gegevens uit studies in transgene muizen hebben aangetoond dat ongeveer 20% van het mtDNA samen met de kern wordt overgedragen.[91] Het aantal mitochondriën dat kan worden overgebracht is afhankelijk van de techniek die gebruikt wordt om de kern te isoleren.

2.4.1.2. Replicatie van het dierlijke en menselijke mtDNA

Bij een natuurlijke bevruchting wordt alleen het mtDNA van de eicel doorgegeven aan het embryo. Het vaderlijke mtDNA wordt verwijderd door een proces dat bekend staat als *ubiquination*.[92]

Embryo's die door SCNT tot stand zijn gebracht hebben vaak mtDNA uit de eicel en mtDNA uit de somatische donorcel.[93] Ook als het meeste mtDNA afkomstig is van de eicel,[94] kan het mtDNA uit de donorcel tot 95% van het

[90] Cao L, *et al.* 2007. "The mitochondrial bottleneck occurs without reduction of mtDNA content in female mouse germ cells". *Nature Genetics*; 39:386-390.
[91] Inoue K, *et al.* 2000. "Generation of mice with mitochondrial dysfunction by introducing mouse mtDNA carrying a deletion into zygotes". *Nature Genetics;* 26:176-181.
[92] Nishimura Y, *et al*. 2006. "Active digestion of sperm mitochondrial DNA in single living sperm revealed by optical tweezers". *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 31;103(5):1382-1287.
[93] Steinborn R, *et al*. 2002. "Coexistence of Bos taurus and B. indicus mitochondrial DNA in nuclear transfer-derived somatic cattle clones". *Genetics*; 162:823–829.
Smith LC, Thundathil J, Filion F. 2005. "Role of the mitochondrial genome in preimplantation development and assisted reproductive technologies". *Reproduction, Fertility & Development;* 17:15–22.
[94] Tecirlioglu RT, Guo J, Trounson AO. 2006. "Inter-species somatic cell nuclear transfer (iSCNT) and preliminary data for horse-cow/mouse iSCNT". *Stem Cell Review*; 2:277–287;Bowles E, Campbell K, St. John J. 2007. "Nuclear transfer: Preservation of a nuclear genome at the expense of its associated mtDNA genome(s)". *Current Topics in Developmental Biology*; 77:251–290.

totale mtDNA van het embryo bijdragen.[95] Een mogelijke verklaring voor het hoge percentage donor mtDNA kan zijn, dat mtDNA-replicatiefactoren uit de donorcel die samen met de kern zijn overgebracht tijdens de kerntransplantatie, nog actief zijn in de eerste fase van de embryonale ontwikkeling.[96] Wanneer de bevruchte eicel begint te delen om een embryo te vormen, groeit ook het aantal mitochondriën (proliferatie). Dit proces is afhankelijk van het vermogen van nucleaire gecodeerde producten om in contact te komen met dat deel van het mtDNA (*D-loop region*) dat is vereist voor replicatie en genexpressie. Dit proces wordt op zijn beurt beïnvloed door het vermogen van producten, die gecodeerd worden door het nucleaire en het mtDNA, om samen te werken in de mitochondriën teneinde de mitochondriële functies te ondersteunen. Een mismatch tussen de (menselijke) nucleaire factoren en de (dierlijke) D-loops zal naar verwachting kunnen leiden tot defecte transcriptie en replicatie van het dierlijke mtDNA van de eicel. Studies uit verschillende onderzoeksgroepen hebben aangetoond dat de replicatie van het donor mtDNA en het mtDNA van de eicel uiteenlopen. Bijvoorbeeld, bij koe-schaap iSCNT bleef de verhouding tussen het mtDNA van de koe-eicel en het mtDNA uit de schaap donorcel constant tot het achtcellig stadium. In de loop van de embryonale ontwikkeling varieerde deze verhouding van 0,06 in het zestiencellig stadium tot 0,01 in het blastocyste stadium. Koe- en schaapmitochondrieën bleken in ongelijke mate voor te komen in de cellen van de blastocyste.[97] In andere studies met koe-kat iSCNT was het percentage mtDNA van de kat donorcel stabiel tot het achtcellig stadium. Het koe-eicel mtDNA was aanzienlijk lager in het achtcellig stadium dan in het viercellig stadium.

Chang KH, *et al*. 2003. "Blastocyste formation, karyotype, and mitochondrial DNA of interspecies embryos derived from nuclear transfer of human cord fibroblasts into enucleated bovine oocytes." *Fertility & Sterility;* 80: 1380-1387.

[95] Takeda K, *et al*. 2003. "Proliferation of donor mitochondrial DNA in nuclear transfer calves (*Bos taurus*) derived from cumulus cells." *Molecular Reproduction and Development*; 64: 429–437.

[96] Lloyd RE, Lee J-H, Alberio R. 2006. "Aberrant nucleo-cytoplasmic cross-talk results in donor cell mtDNA persistence in cloned embryos." *Genetics*; 172: 2515–2527.

Bowles EJ, *et al.* 2007. "Contrasting effects of in vitro fertilization and nuclear transfer on the expression of mtDNA replication factors". *Genetics*; 176: 1511–1526.

[97] Hua S. 2008. "Development of bovine-ovine interspecies cloned embryos and mitochondria segregation in blastomeres during preimplantation". *Animal Reproduction Science*; 105(3-4):245-57.

Studies *in vitro* waarbij menselijke cellen, waaruit het mtDNA was weggehaald, werden versmolten met ontkernde aapcellen, suggereren dat tijdens de embryonale ontwikkeling een grens wordt bereikt waaronder het dierlijke mtDNA niet meer in stand kan worden gehouden. Deze grens is lager naar mate de evolutionaire afstand tussen soorten groter is. Bij chimpansees en gorilla's bijvoorbeeld wordt transcriptie en replicatie van het dierlijke mtDNA gesteund door het menselijke nDNA, maar dit gebeurt niet bij de orang-oetan en andere diersoorten die een grotere evolutionaire afstand tot de mens hebben.[98]

De stadia van de embryonale ontwikkeling waarin transcriptie plaatsvindt blijken per diersoort te verschillen: in het tweecellig stadium bij de muis,[99] omstreeks het viercellig celstadium bij de mens[100] en dichtbij het achtcellig stadium bij koeien.[101] In konijnen vindt transcriptie geleidelijk plaats tijdens de embryonale celdeling.[102] Het begin van transcriptie is relevant voor de keuze van dierensoorten die geschikt zijn voor het maken van mens-dier cybriden. Vanaf het moment van transcriptie wordt begonnen met de verwijdering van de eicelproducten en dat leidt tot accumulatie van menselijke producten. Eicelproducten kunnen maximaal nog één of twee dagen in de cybride blijven, terwijl enkele eiceleiwitten snel na de innesteling gedegradeerd worden.[103] Het lijkt thans evident dat cybriden meer menselijke biologische stoffen bevatten naarmate de embryonale ontwikkeling vordert.

[98] Kenyon L, Moraes CT. 1997. "Expanding the functional human mitochondrial DNA database by the establishment of primate xenomitochondrial cybrids". *Proceedings of the National Academy of Sciences USA;* 94:9131-9135.
[99] Ma J, *et al*. 2001. "Regulation of zygotic gene activation in the preimplantation mouse embryo: global activation and repression of gene expression". *Biology and Reproduction;* 64:1713–1721.
[100] Braude P, Bolton V, Moore S. 1988. "Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development". *Nature;* 332:459–461.
[101] Camous S, Kopecny V, Flechon JE. 1986. "Autoradiographic detection of the earliest stage of [3H]-uridine incorporation into the cow embryo". *Biology of the Cell;* 58(3):195–200.
[102] Pacheco-Trigon S, *et al*. 2002. "Molecular characterization of genomic activities at the onset of zygotic transcription in mammals". *Biology of Reproduction;* 67:1907–1918.
[103] Avilion AA, *et al*. 2003. "Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function". *Genes Development;* 17:126–140.

Op de 13 eiwitten die gecodeerd worden door het dierlijk mtDNA na, bevat elke cybride na 14 dagen alleen menselijke producten.[104]

2.4.1.3. Levensvatbaarheid van cybriden

Gegeven het feit dat de mitochondriële functies van de eicel niet gesteund worden door het nDNA, vooral bij soorten die in de evolutie ver uit elkaar liggen,[105] is het te verwachten dat het merendeel van interspecies-embryo's niet lang in leven kunnen worden gehouden.

Onderzoek met mens-konijn en mens-koe iSCNT wijst er op dat het proces van herprogrammering van het donor DNA (methylatie/demethylatie) soort-specifiek is. Dit betekent dat het cytoplasma van dierlijke eicellen niet het vermogen blijkt te hebben om repetitieve sequences van nDNA uit een andere soort te demethyleren.[106] Herprogrammeren van het donor DNA is dan essentieel voor de ontwikkeling van de via iSCNT verkregen cybride. Ook als de eerste embryonale celdelingen door de maternale RNA transcripten en eiwitten worden geleid, is activatie van het embryonale DNA nodig voor een correcte voortgang van de embryonale ontwikkeling.

Resultaten van verschillende onderzoeksgroepen over het vermogen van het cytoplasma van een eicel om het nDNA van een andere diersoort te herprogrammeren lopen uiteen. Koe-eicellen blijken het nDNA (nuclei) van

[104] St John J, Lovell-Badge R. 2007. "Human–animal cytoplasmic hybrid embryos, mitochondria, and an energetic debate". *Nature Cell Biology;* 9(9):988-992.
[105] Zuckerman SH, *et al*. 1986. "Mitochondrial Protein Synthesis in Interspecific Somatic Cell Hybrids". *Somatic Cellular Molecular Genetics;* 12:449–458; Kenyon L, Moraes CT. 1997. "Expanding the functional human mitochondrial DNA database by the establishment of primate xenomitochondrial cybrids". *Proceedings of the National Academy of Sciences USA;* 94:9131–9135; Barrientos A, Kenyon l, Moraes CT. 1998. "Human Xenomitochondrial Cybrids. Cellular models of mitochondrial complex I deficiency". *Journal of Biological Chemistry;* 273:14210–14217; Moraes C, Kenyon L, Hao H. 1999. "Mechanisms of Human Mitochondrial DNA Maintenance: The Determining Role of Primary Sequence and Length over Function". *Molecular Biology of the Cell;* 10:3345–3356; Barrientos A, *et al.* 2000. "Cytochrome c Oxidase Assembly in Primates Is Sensitive to Small Evolutionary Variations in Amino Acid Sequence". *Molecular Biology and Evolution;* 17:1508–1519; McKenzie M, Trounce I. 2000. "Expression of *Rattus norvegicus* mtDNA in *Mus musculus* Cells Results in Multiple Respiratory Chain Defects". *Journal of Biological Chemistry;* 275:31514–31519; McKenzie M, *et al.* 2003. "Functional Respiratory Chain Analyses in Murid Xenomitochondrial Cybrids Expose Coevolutionary Constraints of Cytochrome *b* and Nuclear Subunits of Complex III" *Molecular Biology and Evolution;* 20:1117–1124.
[106] Chung Y, *et al*. 2009. "Reprogramming of Human Somatic Cells Using Human and Animal Oocytes". *Cloning Stem Cells;* 11: 213–223.

genetisch gerelateerde soorten zoals buffel [107] [108], yak, takin [109] en schaap [110], en ook van soorten met minder genetische overeenkomst zoals rat, varken[111], aap[112], kip[113], walvis[114] en mens[115] [116] te kunnen repliceren.[117] Koe-eicel cytoplasma kan kat nDNA herprogrammeren tot het achtcellig stadium. De daling van het mtDNA vanaf dit stadium duidt erop dat de embryonale ontwikkeling wordt gestopt. De groep van Wilmut die het gebruik van diereicellen voorstelde als alternatieve bron voor het verkrijgen van ES, heeft in een latere studie gerapporteerd dat dierlijke eicellen niet geschikt blijken te zijn voor het herprogrammeren van menselijke nuclei, vanwege de verschillen in de menselijke en dierlijke eiwitten die noodzakelijk zijn bij dit proces.[118]

In feite geldt dat bij de meeste pogingen om zoogdieren te klonen met behulp van eicellen van een andere diersoort een beperkte embryonale

[107] Kitiyanant Y, *et al.* 2001. 'Somatic cell cloning in Buffalo (*Bubalus bubalis*): effects of interspecies cytoplasmic recipients and activation procedures". *Cloning Stem Cells;* 3:97–104.
[108] Srirattana K,*et al*. 2011. "Constant transmission of mitochondrial DNA in intergeneric cloned embryos reconstructed from swamp buffalo fibroblasts and bovine ooplasm". *Animal Science Journal*; 82(2):236-43.
[109] Li Y, *et al.* 2006. "Cloned endangered species takin (*Budorcas taxicolor*) by inter-species nuclear transfer and comparison of the blastocyst development with yak (*Bos grunniens*) and bovine". *Molecular Reproduction and Development;* 73:189–195.
[110] Hua S, *et al.* 2008. "Development of bovine-ovine interspecies cloned embryos and mitochondria segregation in blastomeres during preimplantation". *Animal Reproduction Science*; 105(3-4):245-57.
[111] Dominko T, *et al.* 1999. "Bovine Oocyte Cytoplasm Supports Development of Embryos Produced by Nuclear Transfer of Somatic Cell Nuclei from Various Mammalian Species". *Biological Reproduction;* 60:1496–1502
[112] Simerly C, *et al*. 2004. "Embryogenesis and blastocyst development after somatic cell nuclear transfer in nonhuman primates: overcoming defects caused by meiotic spindle extraction". *Developmental Biology*; 276:237–252.
[113] Kim TM, *et al.* 2004. "An interclass nuclear transfer between fowl and mammal: *in vitro* development of chicken-to-cattle interclass embryos and the detection of chicken genetic complements". *Fertility & Sterility*; 82:957–959.
[114] Ikumi S,*et al*. 2004. "Interspecies somatic cell nuclear transfer for *in vitro* production of Antarctic minke whale (*Balaenoptera bonaerensis*) embryos". *Cloning Stem Cells*; 6: 284–293.
[115] Chang KH,*et al.* 2003. "Blastocyste formation, karyotype, and mitochondrial DNA of interspecies embryos derived from nuclear transfer of human cord fibroblasts into enucleated bovine oocytes". *Fertility & Sterility*; 80:1380–1387.
[116] Hosseini SM,*et al*.2012. "Enucleated ovine oocyte supports human somatic cells reprogramming back to the embryonic stage". *Cellular Reprogramming*;14(2):155-63.
[117] Zhao ZJ, *et al*. 2007. "Interspecies Nuclear Transfer of Tibetan Antelope Using Caprine Oocyte as Recipient". *Molecular Reproduction and Development;* 74:412–419.
[118] Wilmut I. 2007. "Embryonic steps to cure inherited ills". *The Scotsman* (5 January 2007), 32.

ontwikkeling wordt doorgemaakt tot aan de blastocyste fase.[119] [120] [121] [122] [123] Dit impliceert dat de entiteiten die uit de iSCNT inter-species ontstaan geen vermogen hebben om een volledige embryonale ontwikkeling door te maken en dus niet als levensvatbare embryo's kunnen worden beschouwd. Toch is de groei tot het blastocyste stadium voldoende om ES te verkrijgen. Het blijft echter discutabel of deze ES bruikbaar zijn.

De groep van Chen claimt erin te zijn geslaagd om menselijke ES te verkrijgen door iSCNT van menselijk DNA in konijneicellen. Dit onderzoek is nog niet geaccepteerd door de wetenschappelijke gemeenschap[124] omdat het niet reproduceerbaar blijkt te zijn, ondanks de herhaalde pogingen van een aantal onderzoeksgroepen.[125] [126] [127]

De verschillen in de embryonale genexpressie tussen de verschillende diersoorten geven genoeg aanleiding om te kunnen veronderstellen dat cybriden defecten in genexpressie zullen hebben die onverenigbaar zijn met het leven.[128] [129] [130] Dit wordt bevestigd door de overeenkomst tussen de

[119] Dominko T, *et al.* 1999. "Bovine Oocyte Cytoplasm Supports Development of Embryos Produced by Nuclear Transfer of Somatic Cell Nuclei from Various Mammalian Species". *Biology of Reproduction;* 60:1496–1502.
[120] Li Y, *et al*. 2006. "Cloned Endangered Species Takin (*Budorcas taxicolor*) by Inter-Species Nuclear Transfer and Comparison of the Blastocyste Development with Yak (*Bos grunniens*) and Bovine". *Molecular Reproduction and Development;* 73:189–195.
[121] Ikumi S, *et al*. 2004. "Interspecies Somatic Cell Nuclear Transfer for *In Vitro* Production of Antarctic Minke Whale (*Balaenoptera bonaerensis*) Embryos". *Cloning Stem Cells;* 6:284–293.
[122] Murakami M, *et al*. 2005. "Development of Interspecies Cloned Embryos in Yak and Dog". *Cloning Stem Cells;* 7:77–81.
[123] Zhao ZJ, *et al*. 2006. "Rabbit Oocyte Cytoplasm Supports Development of Nuclear Transfer Embryos Derived from the Somatic Cells of the Camel and Tibetan Antelope". *Journal of Reproduction and Development;* 52:449–459.
[124] Dennis C. 2006. "Cloning: Mining the secrets of the egg". *Nature;* 439:652–655.
[125] Jingjuan, J, et al. 2005. "Experimental cloning of embryos through human–rabbit interspecies nuclear transfer". *Zoological Research*; 26:416–421.
[126] News Service. 2006. "Stem cell tensions increase". *New Scientist;* 2535:6.
[127] Vogel G. 2006. "Stem cells: ethical oocytes, available for a price". *Science;* 313:155
[128] Beaujean N, *et al*. 2004a. "Non-conservation of mammalian preimplantation methylation dynamics". *Current Biology;* 14:R266–267.
[129] Beaujean N, *et al*. 2004b. "The effect of interspecific oocytes on demethylation of sperm DNA". *Proceedings of the National Academy of Sciences USA;* 101:7636–7640.
[130] Chen T, *et al*. 2006. "Interspecies Nuclear Transfer Reveals that Demethylation of Specific Repetitive Sequences Is Determined by Recipient Ooplasm but Not by Donor Intrinsic Property in Cloned Embryos". *Molecular Reproduction and Development;* 73:313–317.

genetische defecten die zijn gevonden in gekloonde dieren en die van interspecies-hybriden.[131] [132]

Uit de wetenschappelijke gegevens kan worden geconcludeerd dat iSCNT embryo's vooralsnog niet levensvatbaar zijn, aangezien zijn niet het vermogen hebben om de embryonale ontwikkeling voort te zetten. Voorts is de ontwikkeling tot het blastocyste stadium (het moment in de ontwikkeling van waaraf stamcellen kunnen worden verkregen) niet noodzakelijkerwijze verbonden met een complete herprogrammering van het DNA, zelfs niet in het geval van SCNT binnen een soort.[133]

2.4.2. Veiligheid

Zoals met alle nieuwe ontwikkelingen in de biotechnologie is het van belang de veiligheidskwesties in kaart te brengen die verband houden met cybriden.

2.4.2.1. Risico's verbonden aan kerntransplantatie

Celkerntransplantatie staat nog in de kinderschoenen. De gebruikte methoden zijn nog verre van volmaakt. Het succespercentage is bijvoorbeeld zeer laag te noemen (1 van 277 pogingen in het geval van Dolly). Veel van de gekloonde dieren blijken niet gezond te zijn. Ze lijden onder andere aan defecten van het afweersysteem, vruchtbaarheidsproblemen, overgewicht, ademshalings- en bloedcirculatieproblemen, nier- en hersenafwijkingen, diabetes, vergrote tongen, vervormde gezichten en poten, vroegtijdig sterven door longontsteking, leveraandoening en kanker. Een mogelijke verklaring voor die problemen schuilt in het feit dat het DNA afkomstig uit cellen van volwassen individuen bijna altijd gespecialiseerd is en relatief veel delingen heeft ondergaan, met alle risico's van dien, zoals het optreden van mutaties en het hebben van kortere telomeren (uiteinden van chromosomen).

[131] Vrana PB, *et al*. 2000. "Genetic and epigenetic incompatibilities underlie hybrid dysgenesis in *Peromyscus*". *Nature Genetics;* 25:120–124.
[132] Zechner U, *et al*. 2004. "Divergent genetic and epigenetic postzygotic isolation mechanisms in *Mus* and *Peromyscus*". *Journal of Evolutionary Biology;* 17:453–460.
[133] Boiani M, *et al*. 2005. "Variable Reprogramming of the Pluripotent Stem Cell Marker Oct4 in Mouse Clones: Distinct Developmental Potentials in Different Culture Environments". *Stem Cells;* 23:1089–1104.

Bij de toepassing van celkerntransplantatie waarbij eicel en lichaamscel niet dezelfde oorsprong hebben, zullen de mogelijke risico's op mutaties kleiner zijn naarmate de cellen waaruit de kernen zijn verkregen minder gespecialiseerd zijn en minder delingen hebben doorgemaakt. Daarnaast blijft de verschillende herkomst van het mtDNA problemen opleveren voor de energiehuishouding in de cybride. Het is moeilijk te voorspellen of veranderingen in de eicel en de totale depletie van het mtDNA van de donorcellen tijdens de procedure mogelijk zijn[134] [135]

2.4.2.2. Kruisinfecties: Overdracht van virussen van dieren naar de mens

Het onderzoek op het terrein van xenotransplantatie (transplantatie van weefsel of organen van één diersoort naar een andere) heeft het potentiële risico van het verspreiden van ziekten van dier naar mens aangetoond. De meeste bekende vormen van kruisinfectie zijn die met endogene varkensretrovirussen: virale genomen die aanwezig zijn in de varkenschromosomen kunnen tijdens de kweek menselijke cellen infecteren.

In de context van mens-dier cybriden, vormen de mitochondriën en het cytoplasma van de dierlijke eicel een potentiële bron van virale infecties voor de mens.

Studies suggereren dat het mtDNA geen endogene retrovirale genomen bezit. Toch is het theoretisch mogelijk dat die genomen wel aanwezig zijn. Om die mogelijkheid uit te sluiten moet het complete mtDNA van eicellen van de diersoorten die als receptor worden gebruikt – zoals koeien en konijnen - gesequenced worden. Als er geen endogene retrovirale sequences worden gevonden in het mtDNA kan het risico op kruisinfecties vrijwel worden uitgesloten.[136]

[134] Dinnyés A,*et al*. 2002. "Somatic Cell Nuclear Transfer: Recent Progress and Challenges". *Cloning Stem cells*; 4:81-90.
[135] Kelly RD, St John JC. 2010. "Role of mitochondrial DNA replication during differentiation of reprogrammed stem cells." *International Journal of Developmental Biology*; 54(11-12):1659-70. Review
[136] Gregg K, et al. 2011. "Risk assessment of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) transmission via somatic cell nuclear transfer (SCNT) embryo production using oocytes from commercial abattoirs". *Animal Reproduction Science*; 125(1-4):148-57.

Ook het nDNA van koeien en konijnen bevat endogene retrovirale genomen.[137] Hierdoor is het niet uitgesloten dat het cytoplasma van koeien- of konijneicellen RNA virale transcripten of endogene retrovirussen bezit die gecodeerd worden door het nucleaire genoom. Het is dan mogelijk dat deze virussen zich kunnen re-integreren in de overgebrachte menselijke kern. Hoewel dat scenario mogelijk is, achten wetenschappers de kans dat dit voorkomt heel laag. Om na te gaan of er sprake is van een reëel risico, is het vereist expressieprofielen van endogene retrovirussen op te sporen om erachter komen of de retrovirussen replicatiecompetent of integendeel replicatie defectief zijn.

Deze risico's moeten in kaart worden gebracht alvorens ES cellijnen verkregen uit iSCNT embryo´s voor therapeutische doeleinden worden gebruikt.

In de huidige onderzoeksfase wordt het gevaar van epidemieën als gevolg van kruisinfecties heel laag geacht. Het risico op retrovirale kruisinfecties voor laboratoriummedewerkers of voor een breed publiek is naar schatting niet groter dan het risico verbonden aan normale regulaire celkweken (of contact met dierlijke weefsels in andere omstandigheden). In laboratoria worden honderden mens-murine cellijnen en hybridoma gekweekt voor experimenten waarbij sprake is van retrovirussen die in staat zijn menselijke celkweken te infecteren.

2.5. Wetenschappelijk belang van cybriden: Waarvoor wordt onderzoek naar menselijke stamcellen gekweekt uit cybriden gedaan?

Eén van de belangrijkste redenen om SNCT toe te passen is de behoefte om ES te kweken die genetisch identiek zijn aan de patiënt voor wie ze zijn bestemd. Op die manier lijkt het mogelijk afweerreacties te voorkomen. SCNT heeft nog geen bruikbare resultaten opgeleverd met menselijke eicellen. Vanwege de beperkte beschikbaarheid aan vrouwelijke eicellen en de belasting van de hormoonbehandeling die de vrouw bij stimulatie van de

[137] Griffiths DJ, *et al*. 2002. "Novel endogenous retrovirus in rabbits previously reported as human retrovirus"*. Journal of Virology*; 76:7094-7102.

eierstokken moet ondergaan, is er een groeiende interesse in het gebruik van eicellen uit dieren die in het algemeen gemakkelijk zijn te verkrijgen.

Wetenschappers beweren dat deze techniek een hulp zal zijn voor het testen van de pluripotentie van ES *in vivo.* Cybriden kunnen ook fungeren als *in vivo* modelsystemen voor het verhelderen van nog onbekende aspecten van stamceldifferentiatie en regulatie (met betrekking tot therapeutisch kloneren) en voor het testen van nieuwe geneesmiddelen. Cybriden zullen wellicht gebruikt kunnen worden als hulpmiddel voor het kweken van menselijke organen of weefsels (de zogeheten "*humanised organs*") en in de verre toekomst als een mogelijk alternatief voor xenotransplantatie.

In de literatuur wordt gesuggereerd dat cybriden kunnen helpen bij het onderzoek naar de mechanismen die betrokken zijn bij het herprogrammeren van DNA tot een pluripotent embryonaal stadium.[138] Deze kennis kan worden gebruikt voor het kweken van stamcellen uit somatische cellen hetgeen het mogelijk maakt het gebruik van menselijke eicellen en embryo's te beperken.

Hiernaast wordt verwacht dat cybriden kunnen worden gebruikt als instrument voor de studie van mitochondriële ziekten en de relatie tussen nDNA en mtDNA. Kennis van de relatie tussen kern en mitochondriën is van belang om de techniek van kerntransplantatie of SCNT te verbeteren. Naast het produceren van stamcellen die genetisch identiek zijn aan de patiënt hopen wetenschappers deze techniek ten slotte te kunnen gebruiken om soorten die dreigen uit te sterven te behouden.[139]

Er wordt verwacht dat het onderzoek naar stamcellen verkregen uit cybriden meer evenwicht kan scheppen in het debat over de relatieve merites van verder onderzoek naar ES en AS.[140]

Het doen ontstaan van hybriden met het doel nieuwe individuen voort te brengen is vandaag de dag bij wet verboden in Nederland.[141] Desondanks is

[138] Okita K *et al.* 2007. "Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells*". Nature;* 448:101-106.
[139] Loi P, *et al*. 2007. "Cloning of endangered mammalian species: any progress?" *Trends in Biotechnology;* 25:195-200.
[140] Solter D. 2003. "New paths to human ES cells?" *Nature Biotechnology;* 21(10):1154-1155.

het van belang om over deze mogelijkheid te discussiëren, omdat dat onderzoek zou kunnen leiden tot overschrijding van de grenzen tussen mens en dieren. Voor cybridenonderzoek lijkt dat niet het geval te hoeven zijn.

In theorie kunnen mens-dier interspecies entiteiten - chimeren - worden gemaakt door kiemcellen uit mensen en dieren die evolutionair dicht bij de mens liggen - zoals apen - te vermengen of door dierlijke stamcellen of embryo's en menselijke stamcellen of embryo's in het eerste ontwikkelingstadium te brengen. Een essentiële vraag naar het belang van het onderzoek met chimeren voor het bestuderen en behandelen van ziekten betreft de haalbaarheid van *in vitro* modellen voor ziekten.[142] [143] De extra complicaties die worden veroorzaakt door de onvoorzienbare verstoring van genexpressie zoals die optreedt bij SCNT binnen de soort, maken het opstellen van een goed toepasbaar model bij het gebruik van chimeren extra moeilijk. Verder rijst de vraag of de complicaties niet erger zullen worden door het gebruik van eicellen uit soorten die evolutionair ver uit elkaar liggen. Onderzoek met cybriden lijkt deze problemen van het gebruik van chimeren te kunnen omzeilen.

2.6. Alternatieven voor het gebruik van cybriden

Er zijn verscheidende alternatieve onderzoeksopties voor het onderzoek met mens-dier cybriden. Deze alternatieven zouden embryosparend zijn en, zoals in het geval van cybriden, "vrouwvriendelijk" zijn omdat er geen menselijke eicellen vereist zijn.

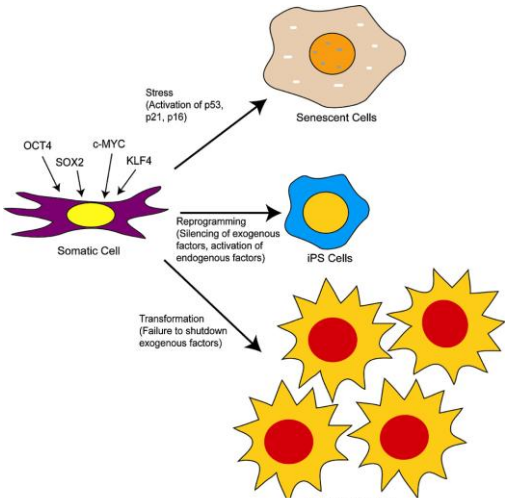
1.De eerste optie is het gebruik van alternatieve bronnen van stamcellen zoals AS uit het volwassen lichaam of uit navelstrengbloed.

Diermodellen en preklinische settingen met volwassen stamcellen zijn met succes ontwikkeld met het oog op de mogelijke behandeling van hartziekten, type 1 diabetes, ruggenmergletsel, beroerte, de ziekte van Parkinson en de

[141] Wet, houdende regels inzake handelingen met geslachtscellen en embryo's (Embryowet).Staatsblad 2002; 338.
[142] Wilmut I. 2004. "The moral imperative for human cloning". *New Scientist;* 181(2435):16–17.
[143] Eggan K. 2007. "Dolly's Legacy: Human Nuclear Transplantation and Better Medicines for Our Children". *Cloning Stem Cells;* 9:21–25.

ziekte van Huntington. In de medische praktijk zijn stamcellen uit beenmerg of navelstrengbloed met succes gebruikt voor de behandeling van leukemie en andere bloedaandoeningen, vooral bij kinderen.[144] [145] Het aantal stamcellen dat verkregen wordt uit navelstrengbloed is vooralsnog relatief laag waardoor therapeutische toepassingen op volwassenen onmogelijk zijn zolang geen effectieve methoden worden gevonden voor het kweken en vermeerderen van deze cellen *in vitro*.[146]

2. Een tweede optie is directe herprogrammering van somatische cellen tot pluripotente cellen zonder dat als tussenstap een embryo hoeft te ontstaan.



Ab.5. Herprogrammering van somatische cellen tot pluripotente cells (iPSC). Bron: Gourronc F A, Klingelhutz AJ. 2012

Het basis principe van deze techniek is het feit dat het genoom in alle cellen van een organisme gelijk is. Het essentiële verschil tussen de verschillende celtypen ligt in de delen van het genoom die op een bepaald moment actief of juist inactief zijn in de cel. Het specifieke patroon waardoor genen aan en uit worden gezet staat bekend als de epigenetisch status van de cel. Het omkeren of "herprogrammeren" van de epigenetische status van somatische cellen van een volwassen organisme zou de gespecialiseerde cellen tot een 'maagdelijke' of 'embryonale' toestand brengen. Het resultaat zijn de zogeheten '*induced pluripotent stem cells*' (iPSCs) die dezelfde kenmerken hebben als ES, maar die niet het vermogen hebben zich tot een volwassen individu te ontwikkelen.[147]

[144] Knutsen AP, Wall DA. 2000. "Umbilical cord blood transplantation in severe T-cell immunodeficiency disorders: two-year experience". *Journal of Clinical Immunology*; 20(6):466-476.
[145] Yesilipek MA, *et al*. 2009. "Unrelated cord blood transplantation in children with severe congenital neutropenia". *Pediatric Transplantation;* 13(6):777-781
[146] Zie het programma Translationeel Adult Stamcelonderzoek van ZONmw, bijvoorbeeld het RITS onderzoek.
[147] Gourronc FA, Klingelhutz AJ.2012 "Therapeutic opportunities: Telomere maintenance in inducible pluripotent stem cells." *Mutation Research*; 730:98–105.

Dit alternatief zou veel voordelen hebben boven het gebruik van ES. Aangezien geen menselijk embryo tot stand wordt gebracht zouden de morele en juridische belemmeringen die aan uit embryo's gewonnen stamcellen kunnen kleven niet van toepassing zijn. [148] Net als bij SCNT zou op die manier weefseltype-identiek transplantatiemateriaal voor autologe celtherapie kunnen worden verkregen, zodat afstoting wordt voorkomen. Bovendien zijn voor directe herprogrammering geen eicellen nodig wat de behoefte aan menselijke eicellen en daarmee de druk op de vermarkting van het vrouwelijk lichaam minder maakt.

Twee onafhankelijke teams van onderzoekers – van de universiteiten van Kyoto (Japan) en van Wisconsin-Madison in de Verenigde Staten – zijn erin geslaagd muis fibroblasten (gespecialiseerde huidcellen) te herprogrammeren tot cellen met dezelfde kenmerkende eigenschappen als ES cellen. De iPSC's werden verkregen door de extra kopieën van vier transcriptiefactoren eigen aan ES cellen - *Oct4, Sox2, Klf4 en cMyc* – toe te voegen aan de fibroblasten door middel van retrovirale vectoren. De huidcellen die in plaats van de embryonale cellen werden gebruikt, bleken tot elk type cel te kunnen uitgroeien.[149]

Ook als het herprogrammeren van somatische cellen in iPSC's succes boekt, dan staat deze techniek nog in de kinderschoenen en vergt nog veel onderzoek. Het herprogrammeringproces is nog inefficiënt (1 op 10.000 cellen). Daarenboven is het nog niet bekend of resultaten verkregen met muiscellen toegepast kunnen worden op menselijke cellen. Andere transcriptiefactoren kunnen erbij een rol spelen. Toepassing op menselijke cellen kan veiligheidsrisico´s met zich brengen vanwege het gebruik van retrovirale vectoren en de mogelijkheid van abnormale expressie van de

[148] De Wert GM. 2004. "Stamcellen, ethiek en politiek". *Mediator*; 15(6): 6-8.
Trounson A. 2002. "The genesis of embryonic stem cells. Does parthenogenesis offer a more promising means of developing immune-matched ED cells?" *Nature Biotechnology*; 20(3):237-238.
[149] Okita K, *et al.* 2007. "Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells*". Nature;* 448: 101-106; Wernig M, *et al.* 2007. "In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state". *Nature*; 448: 318-324; Maherali N, *et al.* 2007. "Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodelling and widespread tissue contribution". *Stem Cell;* 1(1):55-70.

ingebrachte genen. Het *cMyc-gen* bezit onder andere oncogene eigenschappen en kan dus kanker veroorzaken. Een onderzoeksgroep van de universiteit van Canada heeft virusvrij pluripotente stamcellen verkregen met embryonale kenmerken door het herprogrammeren van muis respectievelijk menselijke cellen. Het is nog niet bekend of de verkregen cellen effectief zijn.[150] [151] Bovendien is het tot nu toe nog niet gelukt om die cellen te laten uitgroeien tot de gewenste menselijke cel. Op dit moment is het nog altijd efficiënter de tussenstap te maken via de ES.

Een onderzoekslijn binnen deze optie van iPSC's richt zich op de directe herprogrammering door middel van het inbrengen van de kern van een somatische cel in een menselijke ES cel[152] [153] of door die kern te laten fuseren met pluripotente ES cellen.[154] De resultaten die tot nu toe zijn verkregen lijken erop te wijzen dat ES tot herprogrammering van somatische cellen in staat zijn. De discussie over de aanvaardbaarheid van het gebruik van ES lijkt bij deze route voorlopig niet te kunnen worden omzeild. In Nederland is het gebruik van restembryo's voor het maken van embryonale stamcellijnen overigens wel toegestaan.

3. Een derde ontwikkeling voor het verkrijgen van ES is parthenogenese. Bij parthenogenese wordt een niet-bevruchte eicel chemisch geprikkeld, waardoor er een embryoachtige entiteit ontstaat. Deze uniparentele embryo's, ook wel parthenoten genoemd, zijn altijd vrouwelijk. Uit onderzoek bij muizen en apen is inmiddels aangetoond dat hieruit cellijnen kunnen worden ontwikkeld.[155] Pogingen om uit humane parthenoten ES te verkrijgen waren echter niet succesvol. Parthenoten zijn niet-levensvatbaar, omdat zij de extra-embryonale weefsels niet aanmaken die nodig zijn voor verdere

[150] Hayden EC, Baker M. 2009. "Virus-free pluripotency for human cells". *Nature;* 19: 458.
[151] Okita K, *et al*.2010. "Generation of mouse-induced pluripotent stem cells with plasmid vectors." *Nature Protocols*; 5(3):418-28
[152] Tada M, *et al*. 2001. "Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells". *Current Biology*; 11(19):1553-1558.
[153] Do JT, Scholer HR. 2004. "Nuclei of embryonic stem cells reprogram somatic cells". *Stem Cells*; 22(6):941-949.
[154] Takahashi K, Yamanaka S. 2006. "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors". *Cell*; 126:663-676.
[155] Lee ST, *et al*. 2008. "Establishment of autologous embryonic stem cells derived from preantral follicle culture and oocyte parthenogenesis". *Fertility & Sterility;* 90(5):1910-1920.

innesteling en groei. Daarom is geopperd dat parthenoten mogelijk geen menselijke embryo's zijn[156]. Volgens een andere benadering moeten parthenoten echter worden beschouwd als niet-levensvatbare embryo's met een nader te bepalen morele status.[157] Deze techniek lost het probleem van de schaarste aan menselijke eicellen niet op, maar de eicellen die overblijven na een IVF behandelingen zouden een mogelijke bron voor het tot stand brengen van parthenoten kunnen zijn.[158]

4. Een ontwikkeling op het gebied van stamcelonderzoek die eicelsparend zou kunnen zijn, is het gebruik van bevruchte eicellen met een aantal extra chromosomensets dat hen niet levensvatbaar doet zijn, waardoor zij niet geschikt zijn voor implantatie bij IVF behandelingen. Bij deze ontwikkeling geldt eveneens dat het de vraag is of de bevruchte eicellen vallen onder de definitie embryo; soms wordt een triploid nog wel geboren.

Door middel van deze variatie op de SCNT zijn muisembryo's gekweekt waaruit ES cellijnen werden geïsoleerd. Tot nu toe is deze techniek één keer gelukt en het is nog niet bekend of de resultaten reproduceerbaar zijn. Onderzoek heeft aangetoond dat bevruchte muiseicellen gebruikt kunnen worden voor SCNT als het proces van mitose geblokkeerd wordt (het moment waarbij de chromosomenparen zich verdubbelen en paarsgewijs uit elkaar gaan). Op dat moment zijn de chromosomen nog niet omringd door het nucleaire membraan en zijn herprogrammerings- factoren los te vinden in het cytoplasma. Door het vervangen van de nucleaire chromosomen door het donor DNA zou een kloonembryo ontstaan. Er is nog niets bekend over de mogelijkheid om deze techniek toe te passen op bevruchte menselijke

[156] Hurlbut W. Altered Nuclear Transfer as a Morally Acceptable Means for the Procurement of Human Embryonic Stem Cells. Natl Cathol Bioeth Q. 2005 Spring;5(1):145-51.
Jochemsen H, *et al.* "Human stem cells. Source of hope and of controversy. A study of human stem cell research and the patenting of related inventions". Ede, Jerusalem: Lindeboom Institute and Business Ethics Center of Jerusalem, 2004.
[157] De Wert GM, Mummery C. 2003. "Human embryonic stem cells: research, ethics and policy". *Human Reproduction*; 18(4):672-682.
[158] Lee HJ, Teixeria J. 2009. "Parthenogenesis in human oocytes that were collected from resected ovariam tissue and amtured in vitro". *Stem Cells Development*; 18(6):941-946.

eicellen.[159] De vraag blijft voorts wat de morele status is van de ES die via deze techniek tot stand worden gebracht.[160] [161]

5. Met het oog op mogelijkheden die minder belastend zijn voor vrouwen, wordt ook onderzoek gedaan naar het rijpen van eicellen die zich in een vroeg stadium van ontwikkeling bevinden (primordiale follikels) buiten het lichaam van de vrouw (*in vitro maturatie*, afgekort als IVM). Omdat de eicellen nog niet rijp hoeven te zijn, zou bij het verkrijgen van eicellen afgezien kunnen worden van hormoonstimulatie. De eicelpunctie zou ook minder belastend zijn voor de vrouw. Primordiale follikels zouden dan bijvoorbeeld gewonnen kunnen worden uit operatief verwijderde eierstokken. De ontwikkelingscapaciteit van IVM-embryo's is laag. Dit neemt niet weg dat IVM embryo´s als embryo´s kunnen worden beschouwd omdat na IVM al enkele kinderen zijn geboren.

2.7. Conclusies

1. Het onderzoek met cybriden lijkt op dit moment vooral voordelen te hebben voor het bestuderen van intracellulaire processen en replicatieprocessen. Het onderzoek biedt ook belangrijke uitdagingen om *in vitro* cellulaire processen te onderzoeken. Het onderzoek is ook relevant als instrument voor de studie van mitochondriële ziekten en de relatie tussen nucleair en mtDNA. Kennis van de relatie tussen kern en mitochondriën is van belang om de techniek van kerntransplantatie of SCNT te verbeteren.

2. De uiteindelijke doelstelling, namelijk het creëren van lichaamsidentieke stamcellen die therapeutisch kunnen worden toegepast, is nog lang niet bereikt. Onderzoek met iSCNT in dieren toont aan dat het cytoplasma van eicellen niet het vermogen heeft om het nDNA van een andere soort te repliceren. De replicatie van het nDNA is noodzakelijk voor de ontwikkeling van de iSCNT entiteit.

[159] Egli D, *et al*. 2007. "Developmental reprogramming after chromosome transfer into mitotic mouse zygotes*". Nature*; 447(7145):679-785.
[160] Egli D, et al. 2009. "Reprogramming after chromosome transfer into mouse blastomeres". *Current Biology*; 19:1403–1409.
[161] Riaz A*, et al* . 2011. "Mouse cloning and somatic cell reprogramming using electrofused blastomeres". Cell Research; 21(5):770-778.

3. Het mtDNA uit de eicel en het mtDNA uit de donorcel blijken onregelmatig verdeeld te worden in de verschillende cellen van de iSCNT entiteit. De verhouding tussen beide mtDNA's verandert ook in de loop van de embryonale ontwikkeling.

4. De beperkingen in de replicatie van het nucleaire en mtDNA wijzen erop dat de entiteiten die uit de iSCNT ontstaan vooralsnog niet het vermogen hebben om een volledige embryonale ontwikkeling door te maken en dus niet als levensvatbare embryo's beschouwd kunnen worden. Indien de ontwikkeling van iSCNT in de toekomst eventueel een hogere vlucht neemt, dient bepaald te worden wat de morele status van deze niet-levensvatbare embryonale entiteit zou moeten zijn.

5. Hoewel wetenschappers het risico van infecties van één soort op een andere soort laag achten, moeten alle mogelijke risico's in kaart worden gebracht, alvorens ES cellijnen die worden verkregen uit iSCNT embryo´s voor therapeutische doeleinden kunnen worden gebruikt.

3. Levensbeschouwelijke aspecten

3.1. Inleiding

Normatieve argumenten die worden gebruikt bij opvattingen over onderzoek met cybriden en over andere combinaties van dierlijk en menselijk materiaal, zoals chimeren, wortelen vaak in één of andere levensbeschouwing.

"Levensbeschouwing" is een breed concept dat wijst op een samenhangend geheel van opvattingen aangaande de wereld van levende wezens en zichzelf, waaruit morele richtlijnen worden afgeleid. Een levensbeschouwing helpt een balans te maken tussen autonomie aan de ene kant en heteronomie aan de andere; keuze en controle aan de ene kant en het eigen lot aanvaarden aan de andere; en ten slotte tussen de wens tot vooruitgang en de afwijzing van technologie.

Een levensbeschouwing probeert een antwoord te formuleren op vragen die verder gaan dan de onmiddellijke ervaring en beleving van gebeurtenissen. Antwoorden op vragen als: Wat is menselijk leven? Waar begint het? Waarom eindigt het? Hoe en in welke mate is het beschermwaardig? Wat is de rol en de positie van de mens in de natuur? Hebben dieren een karakter? En een eigen integriteit? Moeten mensen dieren als levende wezens respecteren? En planten? Etc. Levensbeschouwelijke vragen overlappen met filosofische, maar de antwoorden hebben uiteindelijk een overtuigings- en geloofskarakter. Een levensovertuiging kan overlappen met een religie, maar dat is niet noodzakelijk.

In dit hoofdstuk wordt getracht een overzicht te bieden van de levensbeschouwelijke en filosofische normatieve argumenten betreffende cybridenonderzoek. Begonnen wordt met de meest uitgewerkte theorievorming, namelijk die betreffende de morele status van het menselijke embryo. De gevolgen van die theorievorming voor cybriden worden kort besproken als overbrugging naar meer algemene beschouwingen over de relatie mens-natuur en de relatie tussen mens en dier. Besloten wordt met theorievorming over de morele status van dieren, al dan niet in relatie met de

mens. De consequenties van de verschillende theorieën voor het cybridenonderzoek worden ten slotte kort belicht.

3.2. Morele status van het embryo

In de Nederlandse discussie over de toelaatbaarheid van experimenten met menselijke embryo's staat de morele status van het embryo centraal. Het bereiken van een morele status van volledige beschermwaardigheid betekent dat het embryo dezelfde rechten krijgt als die aan een (pasgeboren) mens worden toegekend. Instrumenteel gebruik van menselijke embryo's in onderzoek dat niet ten goede van het embryo komt, is dan nauwelijks meer mogelijk. Onderzoek met embryo's die niet de morele status van volledige beschermwaardigheid hebben bereikt is wel maar onder bepaalde voorwaarden toegestaan.

De meningen over de vraag op welk moment een bepaalde morele status zou moeten worden toegekend aan het menselijke embryo lopen uiteen. Globaal kunnen drie verschillende visies worden onderscheiden die in de discussie omtrent embryo- en stamcellenonderzoek samenkomen.[162]

3.2.1 Absolute beschermwaardigheid

Aan één kant van het spectrum bevindt zich de opvatting dat elk embryo vanaf het moment van de bevruchting als een 'persoon' moet worden beschouwd (het conceptionalisme), of minstens als een 'persoon in wording' en als zodanig absoluut beschermwaardig is (de harde variant van het potentialiteitsargument).

Voor voorstanders van het conceptionalisme heeft het embryo de morele status van een persoon, omdat het beginnend menselijk leven is. Het criterium voor de beschermwaardigheid wordt niet afgeleid uit de biologische fase waarin het embryo zich bevindt, maar uit de bestemming. Het embryo heeft een bestemming, het wordt een mens. Hieraan ontleent het zijn status. Het is de bestemming die het embryo maakt tot wat het zijn status geeft.

[162] Polkinghorne JC. 2004. "The person, the soul, and genetic engineering". *Journal of Medical Ethics*; 30:593–597.

Een biologisch argument voor deze stelling is dat op het moment van de bevruchting een nieuw menselijk organisme ontstaat met eigen, onherhaalbare genetische informatie. Een tweede argument voor deze visie is de continuïteit van de ontwikkeling van de bevruchte eicel tot een volwassen mens. Nergens is een punt aanwijsbaar in de ontwikkeling waarvan gezegd kan worden dat er een overgang plaats vindt van een aantal cellen naar een menselijk embryo.[163]

De harde versie van het zogenaamde potentialiteitsargument luidt dat het embryo, hoewel zelf nog geen (volledig) persoon, toch als een potentiële persoon behandeld moet worden. Wat menselijke embryo's tot potentiële personen maakt, is volgens deze visie dat zij het vermogen (essentiële doelgerichtheid) hebben om tot een menselijke persoon met een volledige morele status uit te groeien.[164] Daarmee bedoelt men méér dan alleen de aanwezigheid van externe factoren die de embryonale ontwikkeling mogelijk maken, zoals de juiste omgeving of het kweekmedium in het geval van IVF. Met potentialiteit wordt een actieve gerichtheid bedoeld. Potentialiteit wordt dan dus niet gezien als loutere mogelijkheid ('passieve potentialiteit'), maar als de vervulling van een intrinsieke bestemming ('actieve potentialiteit')[165].

Binnen deze visies verschillen de meningen over het effect van (genetische) afwijkingen op de potentialiteit die wordt toegekend aan het embryo. Voor sommigen doet dat effect er niet toe wanneer sommige genen niet goed functioneren. Zolang het embryo het genoom heeft van een mens is er sprake van beginnend menselijk leven en is het embryo beschermwaardig. Dat sommige embryo's de juiste genen missen om zich verder te kunnen

[163] Voorafgaand aan de wetenschappelijke benadering (eind 17e eeuw) ging men uit van het moment waarop de ziel intrad in het lichaam. In de middeleeuwen was dat ongeveer 3 weken na de geboorte. Tot die tijd was infanticide niet ongebruikelijk. Pas in 1869 ontstond de RK opvatting van het christelijke geloof waarbinnen de samensmelting van semen en ovum als moment gold. In de Grieks orthodoxe kerk is het moment van binnentreden van de ziel 21 dagen, in de Joodse traditie 40 (jongens) en 80 (meisjes), bij de Islam 120, bij protestanten: de geboorte. De intrede van de ziel functioneerde als omslagpunt op een vergelijkbare wijze als het huidige criterium van morele status.
[164] Reichlin M. 1997. "The Argument from Potential: A Reappraisal". *Bioethics;* 11*:* 1-23.
[165] Eijk WJ. 1997. "Criteria voor de status van het menselijke embryo". In: Eijk WJ. Lekens JPM, Garret P. *Het embryo: iets of iemand?* Oegstgeest: Colomba.

ontwikkelen impliceert niet dat de embryo's niet menselijk zijn.[166] Genetische afwijkingen worden vergeleken met de afwezigheid van de juiste omstandigheden voor de embryonale ontwikkeling. Anderen zien in de genetische defecten een teken dat het embryo niet het intrinsieke vermogen heeft om zich tot een volledig menszijn te ontwikkelen en dus geen (volledige) beschermwaardigheid geniet.

Sommige voorstanders van de absolute beschermwaardigheid van het embryo vanaf de bevruchting baseren hun visie op het argument van het voordeel van de twijfel en niet op biologische of filosofische gegevens. Hun redenering luidt "men moet geen wezens doden van wie de ontologische status onduidelijk is". Immers: "Bereid zijn om te doden wat een mens kan worden, is hetzelfde als bereid zijn om een mens te doden". Deze stelling werd als eerste door Tertullianus naar voren gebracht.[167]

De opvatting van 'volledige beschermwaardigheid' laat uiteraard geen ruimte voor het gebruik of creëren (doen ontstaan) van embryo's anders dan met het doel die te laten uitgroeien tot een mens. Iedere vorm van menselijk leven, hoe pril ook, heeft een intrinsieke waarde, dat daarin en uit dien hoofde beschermwaardig is. Dit betekent dat het menselijke embryo, op straffe van een schending van de menselijke waardigheid, nooit louter en alleen als middel, als «ding» voor een bepaald doel mag worden gebruikt. Voor deze opvatting van de volledige beschermwaardigheid, evenals voor alle overige opvattingen, maakt het geen verschil op welke manier het embryo is ontstaan. Embryo's die zijn ontstaan via IVF zijn even beschermwaardig als embryo's die zijn ontstaan door natuurlijke bevruchting. De waarde van het embryo berust op wat het kan worden of (in potentie) al is.

3.2.2. Geen beschermwaardigheid

Aan de andere kant van het spectrum staat de opvatting dat het embryo niet meer is dan een ongedifferentieerd klompje cellen. In deze visie wordt een

[166] Een voorbeeld zijn embryo's die een mutatie hebben in het gen cdx2 dat direct na het blastocyste-stadium noodzakelijk is voor de placentavorming. Zonder de juiste expressie van dat gen kunnen embryo's zich in de baarmoeder niet innestelen en zich dus niet verder ontwikkelen.

[167] Tertullianus, Apologeticus adversus gentes pro christianis, c. IX (PL 1,371-372)

morele status aan het embryo toegekend die uitsluitend afhankelijk is van de beslissing van bestaande personen. Aan de basis van deze opvatting staat het idee dat embryo's geen rechten hebben wanneer ze in de toekomst niet als personen zullen bestaan. Het embryo heeft op zichzelf geen belangen of recht om beschermd te worden, maar geniet pas volledige beschermwaardigheid nadat het is geboren. Schade aan een embryo is alleen een zinvol begrip in de zin dat de toekomstige persoon die uit het embryo geboren zal worden, schade ondervindt, zoals bijvoorbeeld een handicap als gevolg van genetische manipulatie of blootstelling aan chemische stoffen. Deze visie impliceert dat een embryo dat niet tot een mens zal uitgroeien een geringe of geen morele status geniet. Ook als het embryo het vermogen heeft zich tot een mens te ontwikkelen, is dit niet van belang bij de bepaling van de status van het embryo. Het vernietigen van embryo's is dus in principe moreel neutraal.

Een versie binnen deze opvatting legt de nadruk op het onderscheid tussen biologisch leven en biografisch leven.[168] Biologisch leven verwijst naar het lichamelijke, biologische bestaan, terwijl biografisch leven het leven is dat iemand bewust leidt en waarover die mens zelf een oordeel kan vormen. Het biologische leven ontleent zijn betekenis geheel en al aan het biografische leven. Wanneer (nog) geen sprake is van bewustzijn wordt aan het biologisch leven geen waarde (en daarmee beschermwaardigheid) toegekend. Dit betreft dus in elk geval het vroege menselijke embryo voordat sprake is van een zekere ontwikkeling van het centrale zenuwstelsel. Deze visie reikt terug naar het filosofische verschil in betekenis tussen de Griekse woorden 'Bios' en 'Zoos', die verwezen naar het moreel bewust geleefde leven en het animale leven[169].

Sommigen menen dat wanneer het zenuwstelsel bepaalde ervaringen van de omgeving toelaat, het embryo zich tot een "psychische persoonlijkheid" heeft ontwikkeld, die het stadium van persoon benadert. Op grond hiervan wordt

[168] Jacobs FCLM. 1991. "Medisch zinloos handelen en zinloos medisch handelen". In: Berghmans, RLP, Wert, GMWR de, Meer C van der. *De dood in beheer*. Baarn: Ambo:59-81, 77.
[169] Zie bijvoorbeeld: Aristoteles, Ethica Nicomacheia, 1180 a17.

aan het embryo vanaf de zevende week niet alleen morele status, maar ook het begin van het persoon-zijn in moreel significante zin toegeschreven.[170]

Anderen zien een manifeste rationele activiteit en capaciteit tot sociale communicatie als een vereiste om van een persoon te kunnen spreken. Omdat deze functies waarschijnlijk pas rond het eerste jaar na de geboorte aanwezig zijn, zijn ongeborenen en pasgeborenen geen volledige menselijke personen met de bijbehorende morele status. Voordat zij personen zijn, zijn zij hooguit in biologisch opzicht menselijke wezens.[171]

3.2.3. Toenemende/ Relatieve beschermwaardigheid

Tussen de twee extreme opvattingen bevindt zich een middenpositie die beweert dat het embryo vanwege de menselijke oorsprong (natuur) en de mogelijkheid uit te groeien tot een menselijke persoon vanaf zijn ontstaan een zekere mate van beschermwaardigheid heeft. Deze beschermwaardigheid neemt toe naarmate het embryo zich ontwikkelt totdat een fase is bereikt waarop het embryo als volledig beschermwaardig wordt beschouwd.[172] [173] Tot aan dat moment is de morele waarde van het embryo niet absoluut, maar relatief. Dat betekent dat de beschermwaardigheid van het embryo kan worden afgewogen tegen andere waarden en belangen, zoals de genezing van patiënten of de vooruitgang van de wetenschap ten gunste van toekomstige patiënten. Wel moeten er een aantal strikte voorwaarden worden gehanteerd, onder andere dat embryo's niet voor triviale doelen mogen worden gebruikt of tot stand gebracht.

Het moment waarop het embryo volledig beschermwaardig is en het criterium waarmee dat wordt beoordeeld variëren. De meeste vaststellingen hebben als hoofdbestanddeel een biologisch element. Volgens sommigen is

[170] Tauer CA. 1985."Personhood and Human Embryo and Fetuses". *Journal of Medicine and Philosophy;* 10:253-266.
[171] Engelhardt H. 1983. "Viability and the use of the fetus." In: "*Abortion and the status of the fetus*". Ed. Bondeson WB, Engelhardt H. Dordrecht: D. Reidel, (*Phil Med*; 13:184-191); Engelhardt H. 1996. *The Foundations of Bioethics.* 2nd Edition. New York: Oxford University Press.
[172] Warnock M. 1984. "Report of the committee of inquiry into human fertilisation and embryology". London: Department of Health & Social security.
[173] De Wert GM. 1987. "In vitro fertilisatie en experimenten met menselijke embryo's. Ethisch-filosofische beschouwingen". *Algemeen Nederlands Tijdschrift voor Wijsbegeerte*; 79:210-225.

de beschermwaardigheid volledig bij een ontwikkelingsduur van circa 14 dagen. Het voornaamste argument voor het 14 dagen criterium is het feit dat tussen de 50% en 65% van alle embryo's verloren gaat, nog voordat de innesteling plaatsvindt (eerste week). Een tweede argument is dat de cellen in de eerste week na de bevruchting nog *totipotent* zijn, d.w.z. nog geheel aan elkaar gelijk. Een derde argument voor deze positie is dat het embryo tot ongeveer twee weken na de bevruchting zich kan splitsen in twee (of meer) embryo's. Ook kunnen twee embryo's fuseren tot één waardoor geen sprake is van een gefixeerde (onomkeerbare) individualiteit.[174]

Utilisten zoals Helga Kushe en Peter Singer baseren de morele status van een organisme op zijn vermogen om pijn te voelen.[175] Op basis hiervan vinden zij dat het embryo beschermwaardigheid moet krijgen op het moment dat er sprake is van gewaarwording. Ze stellen de 28ste dag voor als het moment waarop het embryo een "sentient being" wordt en dus absoluut beschermwaardig is.

Weer anderen wijzen het begin van de hersenactiviteit rond de zesde week aan als het begin van het persoon-zijn van het embryo (foetus).[176]

Een variant op deze opvattingen ("toenemende beschermwaardigheid") kent aan het embryo geen intrinsieke, onafhankelijke, waarde toe, maar een symbolische. In deze benadering heeft het menselijke embryo de waarde die de samenleving eraan wil toekennen. Het is dan niet ter wille van het vroege embryo zelf dat het moet worden ontzien, maar ter wille van de gemeenschap waarbinnen het betekenis heeft als beginnende vorm van menselijk leven.[177] [178] Een embryo in de baarmoeder van een vrouw die dolgraag een kind wil, heeft een heel andere waarde dan een embryo dat

[174] Ford NM. 2002. *The prenatal person: ethics from conception to birth.* Oxford: Blackwell Publishing.
[175] Singer P, Kuhse H. 1994. "Ethics and the limits of tolerance". *Journal of Medicine and Philosophy;* 19:129–145.
[176] Baruch B. 1975. *Abortion and the Sanctity of Human Life: A Philosophical View*. Cambridge, MA: M.I.T. Press.
[177] Den Hartogh GA. 1993. *Kun je een zygote lief hebben? Over de waarde van het leven en de grenzen van de morele gemeenschap.* Inaugurele rede Universiteit van Amsterdam. Utrecht. Stichting Socrates.
[178] Sandel MJ. 2004. "Embryo ethics – the moral logic of stem cell research". *New England Journal of Medicine*; 351(3):207-209.

uitsluitend voor onderzoekdoeleinden op een laboratorium tot stand is gebracht. In het eerste geval zal het embryo maximaal worden beschermd. In het tweede geval zal het embryo ook waardevol zijn. Maar zijn waarde zal afhankelijk zijn van de onderzoek- en doeleinden waarvoor het tot stand is gebracht, zoals onderzoek op het gebied van de reproductieve geneeskunde, de behandeling van onvruchtbaarheid en kennis over en behandeling van ziekten.

3.2.4. De morele status van cybriden

De bovengenoemde beschouwingen over de morele status van het embryo, liggen ten grondslag aan de meningsverschillen in debatten over het creëren van inter-species embryo's (cybriden). Die meningsverschillen spitsen zich toe op de vraag of een cybride een menselijke of dierlijke natuur heeft.

a) Voor de opvatting die morele status alleen symbolisch toekent aan entiteiten met belangen en/of behoeften, is het niet van belang of aan cybriden een menselijke of dierlijke natuur wordt toegeschreven. Als cybriden geen pijn kunnen voelen, of geen belangen of behoeften hebben, genieten ze geen morele status en hoeven dus niet te worden beschermd.

b) Voor voorstanders van de opvatting die aan het menselijke embryo een absolute beschermwaardigheid toekent vanaf het moment van ontstaan, is het van betekenis of cybriden als menselijke of dierlijke embryo's worden gekwalificeerd. Als biologische en filosofische gegevens aantonen dat cybriden de menselijke natuur hebben, is het creëren en vernietigen van deze entiteiten ethisch niet aanvaarbaar.

c) In de visie dat de morele status van het embryo afhankelijk is van zijn vermogen om moreel relevante kenmerken te ontwikkelen, wordt de beschermwaardigheid van cybriden bepaald op basis van de potentie tot een mens uit te groeien. Binnen deze visie kan een onderscheid gemaakt worden tussen degenen die intrinsieke vermogens als ethisch relevant beschouwen en hen die het vermogen van cybriden laten afhangen van de aanwezigheid van de geschikte fysieke factoren.

d) Voor de positie die een pre-embryonaal stadium onderscheidt, is cybridenonderzoek ethisch aanvaarbaar tot aan het moment waarop de kenmerken zich manifesteren die als moreel relevant beschouwd worden (bijvoorbeeld 14e dag, wanneer de innesteling is voltooid en de structuurvorming begint).

3.3. Relatie mens-natuur

Het westerse denken is sterk beïnvloed door de joods-christelijke cultuur en religie en door de antieke filosofie. In beide tradities speelt de gedachte van een natuurlijke (scheppings)orde een gewichtige rol. Die orde bepaalt de waarde van de dingen zoals zij zijn. De vraag is dan in hoeverre het is geoorloofd om die orde te wijzigen. Voor het antwoord op die vraag is belangrijk in welke mate men de mens centraal stelt. Sterk antropocentrisme stelt de mens in normatief opzicht centraal, zwak antropocentrisme erkent de leidende rol van de mens met een zeker behoud van respect voor de natuurlijke orde. Ontkenning van het antropocentrisme leidt tot kritische beschouwing van de menselijke mogelijkheden om in de natuur in te grijpen.

3.3.1.De mens als rentmeester (beheerder) van de natuur

Deze opvatting is gebaseerd op een zwak antropocentrisme dat een bepaalde normativiteit in de natuur erkent. Er is een (scheppings)orde, waarin de waarde van de dingen vastliggen. De mens heeft de taak deze (scheppings)orde te bewaren en binnen bepaalde grenzen te ontwikkelen. Die grenzen liggen besloten in de verantwoordelijkheid die de mens, aangesteld als rentmeester, moet afleggen (tegenover de Schepper of de gemeenschap) over het beheer ervan. In de praktische invulling van deze grenzen zijn twee verschillende opvattingen te onderscheiden.

Er is een lijn van de christelijke traditie die de natuur beschouwt als in wezen goed, omdat het Gods schepping is. Deze lijn wordt vooral door de Rooms-Katholieke kerk vertegenwoordigd. Elk schepsel weerspiegelt de oneindige wijsheid en goedheid van God. De orde en harmonie van de wereld volgen uit de verscheidenheid van wezens in hun onderlinge verhouding en afhankelijkheid. De mens moet de eigen goedheid van de natuur respecteren

om een ongeordend gebruik van de dingen te vermijden. De mens heeft voorts het vermogen de inherente ordening en verhouding tussen de dingen te ontdekken als natuurwetten.[179] Wetenschap en techniek vormen de vertolking van het meesterschap van de mens over de schepping.[180] Technologisch ingrijpen is alleen goed als deze de ordening van de natuur respecteert. Veranderingen in de basisstructuren gaan echter in tegen de normatieve ordening van de schepping. De centrale vraag bij elke nieuwe technologische ontwikkeling is derhalve: heeft deze te maken met het verbeteren van de natuur of zijn we de natuur eenzijdig aan het wijzigen?

De ordening binnen de natuur en de samenleving speelt ook een belangrijke rol binnen stromingen van de Joodse traditie. Alles heeft volgens sommige stromingen zijn plek en hoort daar te blijven. Vermenging van bijvoorbeeld verschillende typen stoffen in een textiel of het verbouwen van twee of meer verschillende gewassen op een akker is tegen deze ordening en wordt beschouwd als ethisch fout. Normatieve vragen over het ingrijpen in de natuur en over de biotechnologie krijgen in de bredere Joodse traditie uiteenlopende antwoorden vanuit de torah, de halacha en de talmoed. Het belang van menselijke leven en het menselijk voortbestaan weegt daarbij wel zwaar. Het maken van mensen uit stof wordt bijvoorbeeld in sommige, meer mystieke stromingen als mogelijkheid door rabbijnse geleerden geaccepteerd (Golem traditie[181]). Het Jodendom heeft in het algemeen een antropocentrische, liberale houding tegenover ingrijpen in de schepping. De basisopvatting is dat de wereld onvolmaakt is geschapen en daardoor is de mens Gods partner in het vervolmaken van de schepping naar een Messiaanse perfectie.

Een enigszins vergelijkbare lijn wordt vertegenwoordigd door het protestantisme. Volgens deze lijn kan de natuur nooit de norm zijn voor menselijk handelen. De natuur is niet heilig, maar gebroken. Ingrijpen is

[179] *Catechismus van de Katholieke kerk*. 2008. n. 340-341. Uitgeverij Kok.
[180] *Idem.*
[181] Idel M. 1990. *Golem: Jewish magical and mystical traditions on the artificial anthropoid.* SUNY, New York; Sherwin BL. 1995. "The Golem, Zevi Ashkenazi, and reproductive biology". *Judaism*; 44(3):314-322.

toegestaan en tot op zekere hoogte zelfs een opdracht. De natuur heeft wel een intrinsieke waarde die onafhankelijk is van zijn nut voor mens en die gerespecteerd dient te worden. Daarom moet elk ingrijpen in de natuur op een zorgvuldige en verantwoorde manier genormeerd gebeuren. In de protestantse kerken stelt men bijvoorbeeld dat de natuur de leidraad voor het menselijke gedrag is, geen keurslijf. Deze visie gaat ervan uit dat in de natuur een bepaalde 'normativiteit', of bedoeling, is besloten die de Schepper heeft aangebracht. Dat is geen absolute normativiteit, want de huidige natuur is niet langer de oorspronkelijke schepping. Tegelijkertijd is er kwaad in de natuur, zoals honger. Het is de opdracht van de mens daar wat tegen te doen. Als de mens in staat is de natuur zo te behandelen dat dit het kwaad tegengaat, dan moet dit gebeuren. De mens heeft als beheerder van de schepping, de taak het kwaad in de natuur uit de wereld te helpen. Biotechnologie speelt dan een positieve rol bij het streven naar het verbeteren van de natuur. Ingrijpen in natuurlijke processen mag, zolang het gaat om het bestrijden van ziekten en kwalen. Dit moet wel plaatsvinden in een dialoog met de mogelijkheden die de natuur in zich bergt en die de natuurlijke levensprocessen respecteert en ondersteunt. Maar dat betekent niet dat 'onnatuurlijk' ook ongeoorloofd is. Bij alle handelingen moet men zich afvragen of het goed en/of noodzakelijk is voor de gezondheid en welbevinden van de natuurlijke wezens.

De Islamitische traditie volgt deze denklijn grotendeels. Deze traditie ziet de natuur als een norm voor biotechnologie maar niet als de enige norm. Ingrijpen in de natuur door middel van biotechnologie mag zolang het voldoet aan een (essentiële) noodzaak (zoals het voeden van een volk en medicijnproductie; het leven veraangenamen; voorzien in dagelijkse behoefte). De mens is onderdeel van de natuur en mag wetenschappelijke creativiteit gebruiken, maar het kosmologische evenwicht moet in stand blijven. De natuur heeft iets, los van de belangen van de mens, wat waarde heeft. Men moet proberen de zelfstandigheid van de natuur zoveel mogelijk te respecteren. In de praktijk vertaalt dit zich door de techniek te gebruiken in overeenstemming met de natuur door bijvoorbeeld gebruik te maken van

zelfregulering van plant en dier, vanuit een erkenning van hun intrinsieke waarde. De pretentie om de natuur te verbeteren of kapot te maken wordt door veel stromingen als ongeoorloofd beschouwd.

3.3.2. De mens als heerser over de natuur

Een andere opvatting over zorg dragen herkent geen moreel relevante normativiteit in de natuur. De natuur wordt gezien als een stelsel van processen en objecten die door de mens naar eigen inzicht gedirigeerd of gemanipuleerd kunnen worden. Onderdeel van deze sterk antropocentrische opvatting is de veronderstelling dat de natuur een werkelijkheid is die onverschillig staat ten opzichte van de mens. Het menselijke subject kan als een rationeel wezen vrijelijk over de natuur, inclusief de menselijke natuur, beschikken. Dat betekent dat de mens altijd in de natuur kan ingrijpen om deze aan te passen aan zijn eigen noden. De enige grens die gesteld wordt, is die van het technisch onmogelijke en maatschappelijk onhaalbare. Men hoort rekening te houden met de consequenties van de handelingen op de natuur en de samenleving.

In deze visie ligt de aanname besloten dat de mens de natuur niet zal vernietigen vanwege de noodzakelijke behoefte aan een leefomgeving. De vraag of de mens alles wat technisch mogelijk is mag doen of zich moet beperken tot de noodzakelijke verbeteringen van de natuur, blijft binnen deze visie verder onbeantwoord.

3.3.3. De mens als onderdeel van eco-systemen

De derde opvatting over zorg dragen berust op niet-antropocentrische, ecologische opvattingen. Daarin wordt de mens gezien als onderdeel van een geheel van systemen die een bepaald evenwicht nastreven. Voor nieuwe technologieën en systemen voor beheersing geldt dan als uitgangspunt dat de harmonie van de biotische gemeenschap wordt bewaard. Die harmonie betreft de integriteit, stabiliteit en schoonheid van alle levende wezens.[182] Het streven naar harmonie laat zich ecologisch vertalen in een nieuwe ethiek, door Leopold de "land ethiek" genoemd, waarin alle levende wezen, maar ook

[182] Leopold A. 1949. *A Sand County Almanac*. Oxford University Press, New York.

bodem en water tot onderdeel van één gemeenschap worden, "het land". Uit deze ethiek kunnen echter moeilijk normen worden afgeleid voor de toepassing van nieuwe technologie. De ecologische filosofie kenmerkt zich door de nadruk op conservatie en evenwicht tussen bestaande leden van de biotische gemeenschap. De zogenaamde "diepe ecologie", uitgewerkt en voorgesteld door de Noorse filosoof Arne Naess[183], gaat een stap verder. De westerse mens heeft tot nu toe ethische systemen ontwikkeld die zijn suprematie over andere levende wezens bevestigt. Die suprematie heeft geen werkelijke ondergrond en vormt een risico voor de natuur door de utilistische denkwijze over het gebruik van andere levende wezens. Diepe ecologen kennen daarom aan alle levende wezens gelijke rechten op leven toe die de basis zou moeten zijn voor de ecologie als wetenschap. De aanhangers van de diepe ecologie wijzen vooral op de nadelige gevolgen van de menselijke suprematie voor de bio- en ecosfeer (klimaatverandering, verlies aan soorten, uitputting van natuurlijke hulpbronnen). Het fundament van hun normatieve visie ligt daarbij in de gedachte dat het geheel van de eco- en biosfeer richtinggevend hoort te zijn voor het menselijk handelen. Dit normatieve uitgangspunt laat zich vertalen in een waardering van biotechnologie wanneer daarmee een positieve of negatieve bijdrage aan het in stand houden van de eco- en biosfeer wordt geleverd. De morele status van de leden van de biotische gemeenschap is daarmee nog niet helder, evenmin als de waardering van de mogelijkheid om nieuwe leden in de gemeenschap te creëren.

3.4. Relatie mens/dier

De westerse intellectuele tradities hebben er altijd sterk naar geneigd de verhouding mens-dier te denken in termen van tegengestelden binnen een gemeenschappelijk (dierlijk) geheel. Onze omgang met dieren, het gebruik van dieren om onze noden te voldoen of dieren als gezelschap te gebruiken, steunt, behalve op religieuze overwegingen zoals de eerdergenoemde, op deze interpretatielijn. De mensenrechten stoelen juist op de constatering dat

[183] Næss A. 1989. *Ecology, Community and Lifestyle: Outline of an Ecosophy*. CUP, New York.

de mens in tegenstelling tot dieren en dingen, niet onderworpen kan worden aan overheersing door anderen.

3.4.1. Ontologisch verschil tussen mens en dier

Volgens de toonaangevende westerse filosofische tradities bestaat er een scherp onderscheid tussen de zijnswijze van mensen en dieren.[184] De mens is verheven boven het dier, en kan op generlei wijze daaraan worden gelijkgesteld. De scheiding tussen mens en dier is niet biologisch maar ontologisch, omdat het dier geen rationele of geestelijke ziel heeft zoals de mens.

Antieke en middeleeuwse denkers zagen in de menselijke geest een wezenlijk - essentieel, qua wezen, qua *essentia* - onderscheid met dieren. Dat onderscheid berust niet op enig zintuiglijk waarneembaar kenmerk of vermogen maar op het geestelijke karakter van de menselijke ziel. Door zijn geestelijke dimensie heeft de mens een intrinsieke waarde die hem boven alle levende en niet levende wezens stelt.

In de moderne tijd wordt benadrukt dat de mens als redelijke subject anders dan de dieren gekenmerkt wordt door zelfbewustzijn, vrije wil, moreel besef, sociaal leven, cultuur en het vermogen tot verbale communicatie.[185] In de late negentiende eeuw en in de twintigste eeuw wordt het onderscheid tussen mens en dier opnieuw geproblematiseerd, waarbij het verschil in gebondenheid aan een omgeving als basis voor het onderscheid wordt gedefinieerd. Het dier is centrisch in zijn leefwijze en leefmilieu, de mens excentrisch.[186]

Geïmpliceerd in deze visies is dat het menszijn of de aanwezigheid van menselijke kenmerken als taal, moreel besef, rationaliteit en symbolische cultuur alles-of-niets aangelegenheden zijn. Ze zijn er wel bij de mens en ontbreken bij dieren zonder dat er overgangen zijn.

---

[184] Krimsky S. 1982. *Genetic alchemy: The social history of the recombinant DNA controversy.* Cambridge: MIT Press.
[185] Kant, I. *Grundlegung zur Metaphysik der Sitten.* (Hamburg: Felix Meiner Verlag 1965), oorspronkelijk 1785.
[186] Corbey RHA. 1988. *De mens een dier? Scheler, Plessner en de crisis van het traditionele mensbeeld.* Nijmegen: KUN.

3.4.2. Continuïteit tussen mens en dier

Volgens de evolutionaire en andere continuïteitsvisies zijn de verschillen tussen mens en dier niet essentieel maar gradueel. Mens en dier zijn evolutionair verbonden. De evolutie van dier naar de huidige mensvorm, vertoont geleidelijkheid en tussenvormen. Als gevolg kan het verschil tussen mens en dier teruggebracht worden tot verschillen in biologische eigenschappen. Deze eigenschappen staan bij het vermengen van plant- en diersoorten steeds ter discussie.

3.4.3. Vermenging DNA van mens, dier of tussen soorten

Het creëren van nieuwe planten of dierensoorten is niet iets nieuws voor de mens. Melkvee, bijvoorbeeld, komt in de biologische natuur niet voor, maar is een product van door de mens uitgevonden en toegepaste fokmethoden.

Recombinant DNA-technieken hebben het bij elkaar brengen van het gewenste genetische materiaal vereenvoudigd en effectiever gemaakt. Hiermee is het ook mogelijk DNA van soorten die (evolutionair) ver van elkaar liggen bij elkaar te brengen. Met betrekking tot de vermenging van (genetisch materiaal) van soorten bestaan binnen de evolutionaire gedachtegang verschillende visies.

Wanneer het belang van verschillen tussen mensen en dieren wordt benadrukt en deze opvatting op het DNA wordt toegepast, is vermengen toegestaan zolang het fundamentele onderscheid tussen diersoorten - en vooral tussen mens en dier - niet ter discussie wordt gesteld.

Een lijn binnen deze visie heeft echter geen principieel bezwaar tegen het vermengen van DNA en het overbrengen van genetisch materiaal van de ene soort in de andere wanneer dat een voor de mens nuttig doel dient. Een voorbeeld is het inbrengen van het menselijk insuline-gen in het genoom van bacteriën om humane insuline te produceren. Maar deze handelwijze mag niet tot gevolg hebben dat een natuurlijk evenwicht wordt ontwricht. Daarom

zijn er wel bezwaren tegen het inbrengen van niet-menselijk DNA in het menselijke genoom.[187]

Een tweede lijn binnen deze visie is meer terughoudend en meent dat het op orde houden van stammen en rassen een essentieel gegeven is. Kruising van soorten, gesteld dat dit zou kunnen, wordt afgekeurd. Voor sommigen binnen deze denklijn is het vermengen van DNA toegestaan als er werkelijk geen alternatieven zijn en er een goede reden is, zoals een medische behandeling. Een fundamenteel probleem bij de vermenging van DNA is dan wel dat deze niet direct tot de productie van een geneesmiddel leidt. De vermenging is slechts van belang voor het onderzoek dat tot een betere behandeling kan leiden. De vraag is in hoeverre de genetische informatie die daaruit wordt verkregen werkelijk gebruikt kan worden voor de behandeling van menselijke ziekten. Zolang die vraag niet is beantwoord, is het moeilijk de aanvaardbaarheid van de vermenging van DNA te bepalen.[188]

Voor aanhangers van een evolutionaire visie van de soorten is vermenging van DNA niet in zichzelf ethisch problematisch. Zij baseren hun argumentatie op het feit dat het vermengen van het DNA dat afkomstig is uit twee (of meer) verschillende soorten al in de oude tijden werd gedaan in de landbouw door het kruisen van gewassen. Bij dieren komt dit in de natuur voor zoals in het geval van de muilezel en het muildier die ontstaan uit de kruising tussen een paard en een ezel.

Maar, bij de moderne technieken is meer aan de hand. Door middel van recombinant DNA technieken kunnen combinaties van genen uit verschillende soorten worden gemaakt die in de normale natuurlijke omstandigheden nooit tot stand zullen komen.

De meeste aanhangers van een evolutionaire visie stellen daarom een aantal voorwaarden aan de vermenging: er moet een haalbaar doel voor mensen mee worden bereikt, zoals genezing, er mogen geen risico's voor de

[187] Wils JP, *et al*. 2006. "Levensbeschouwing en biotechnologie Een analyse van normatieve argumenten*".* Rapport in opdracht van de Commissie Genetische Modificatie (COGEM). Den Haag: Schuttelaar & partners.
[188] *Idem*

menselijke soort mee zijn verbonden en natuurlijke eigenschappen moeten worden behouden. Sommigen gaan verder en stellen dat de mens geen soort hoeft te zijn die als onveranderlijk of als laatste stadium van de evolutie wordt gezien. Zij streven een vorm van transhumanisme na.

3.5. De morele status van dieren

Vanaf oudsher heeft de mens planten en dieren gebruikt om zijn noden te vervullen. De mens moet bijvoorbeeld planten of dieren eten om in leven te blijven. Manipuleren met dieren heeft de mens altijd gedaan. Een voorbeeld is de eerder genoemde liger or tigon die een kruising is tussen leeuw en tijger. In de laatste tijd gelden als voorbeelden: het gekloonde schaap Dolly, de muis met een mensenoor, of de kruising tussen schapen en geiten. De begrenzing van het gebruik van dieren wordt sterk bepaald door de morele status die de mens aan dieren toekent.

Door de eeuwen heen kende de morele status die de mens aan het dier toeschreef twee denklijnen: dieren werden gezien als voorwerpen of dingen die de mens naar believen kon gebruiken, of dieren werden gezien als morele subjecten die een zeker respect verdienen. Deze twee perspectieven werden sterk beïnvloed door culturele en religieuze opvattingen.

In de laatste eeuw zijn deze opvattingen uitgekristalliseerd in een aantal filosofische theorieën die de morele status van dieren baseren op verschillende aspecten: (a) geen morele status als ondergeschikte wezens (antropocentrisme); (b) morele status gebaseerd op het vermogen van het dier om ervaringen van pijn en plezier te hebben (pathocentrisme) [189]; (c) intrinsieke waarde van het dier als "subject" van leven.[190] [191].

3.5.1. Antropocentrisme

Het antropocentrisme ondersteunt een instrumenteel gebruik van dieren. Deze theorie gaat ervan uit dat er een absoluut verschil is tussen de mens en

[189] Singer P. 1985. *In Defence of Animals.* N.Y: Blackwell. Singer P. *Animal Liberation,* 2nd edit.1995. London: Pimplico.
Suzuki D. Knudson P. 1987. *Genethics, the ethics of engineering life.* Toronto: Stoddart. Publishing Co.
[190] Regan T. 1983. *The Case for Animal Rights.* London: Routledge & Kean Paul.
[191] Norton B. 1986. *Why preserve natural Variety*? Princeton: Princeton University Press.

het dier. Dat verschil is gelegen in het vermogen van de mens om vrije handelingen te verrichten, waardoor zij een doel in zichzelf zijn. Levende wezens die dit vermogen missen, hebben slechts instrumentele waarde als nutsgoederen voor de mens. Over die laatste heeft de mens daarom beschikkingsrecht, wat inhoudt dat hij ze als zuiver middel tot een door hem gekozen doel mag gebruiken. In deze visie houdt men geen rekening met het dierenwelzijn tenzij het nuttig is voor de mens om goed voor dieren te zorgen.[192]

Sterke antropocentristen benadrukken dat dieren geen morele waarde hebben in vergelijking met de mens en als nutsgoederen voor de mensen fungeren. Gematigde antropocentristen benadrukken dat het beschikkingsrecht van de mens op dieren beperkt is. De mens dient moet het welzijn van dieren behartigen en dieren niet onnodig doen lijden.

3.5.2. Pathocentrisme

Het pathocentrisme baseert zijn ideeën op de (utilistische) filosofie van Bentham. Voor Bentham wordt de morele status van een wezen bepaald door zijn vermogen om pijn te lijden en plezier te beleven. De centrale vraag over de morele status van een entiteit is dus niet of die rationeel kan denken of kan praten, maar of die kan lijden. De conclusie is dan duidelijk. Aangezien dieren kunnen lijden verdienen zij morele consideratie. Dat houdt in dat zij altijd met respect moeten worden behandeld.[193]

Een belangrijke vertegenwoordiger van deze visie is tegenwoordig de ethicus Peter Singer[194]. Volgens Singer zijn alle handelingen die een 'sentient' wezen doen lijden, ethisch onaanvaardbaar. Men hoort het welzijn van het dier altijd te respecteren en te bevorderen.

Het pathocentrisme kent twee verschillende praktische strekkingen. Harde of radicale pathocentristen gaan ervan uit dat dieren even veel waardering dienen te krijgen als mensen. Harde pathocentristen ontkennen niet dat de

[192] De Boer IJM. 1994. "Toepassing van klonen in de melkveefokkerij. Ethische aspecten". In: *Ethiek uit het veld*, Wageningen: Koninklijk Genootschap voor Landbouwwetenschap, pp.50-51.
[193] Bentham J. 1789. *Introduction to the Principles of Morals and Legislation*. ECLA library.
[194] Singer P. 1995. *Animal Liberation,* 2nd edit. London: Pimplico.

mens zich aan de top van de evolutie bevindt maar zij zijn van mening dat men daaruit niet kan concluderen dat mensen in ethisch opzicht relevanter zijn dan dieren. Menselijke kenmerken zoals intellectuele vermogens zijn niet belangrijker dan andere kenmerken, zoals snel rennen of kunnen vliegen, bij het toekennen van een morele status aan een entiteit. Daarom zijn harde pathocentristen tegen elke vorm van gebruik van dieren die de gezondheid en het welzijn van het dier schaadt.

Meer gematigde pathocentristen zullen het gebruik van dieren toestaan als er zwaarwichtige redenen daarvoor zijn. Echter onder de voorwaarde dat het welzijn van het dier niet wordt aangetast.

Het welzijn van het dier blijft niet beperkt tot het niet onnodig kwellen van dieren, maar impliceert ook de zorg voor de gezondheid van het dier. Gezondheid van een dier is overigens lastig te definiëren. Vaak wordt gezondheid gelijk gesteld met het normale functioneren van het dier. Wat normaal functioneren als criterium inhoudt is echter eveneens moeilijk te bepalen. Volgens Rollin wordt de gezondheid van het dier bijvoorbeeld teveel beschreven vanuit het produceren van dieren.[195]

Dieren-welzijn kan op andere wijze worden gedefinieerd als de evenwichtige en harmonieuze relatie tussen dier en omgeving. Deze harmonie houdt het stimuleren van positieve ervaringen in en het vermijden van negatieve. Volgens Stafleu en Brom hebben dieren het bewustzijnvermogen om onaangename sensaties als pijn en lijden te kwalificeren.[196] [197] Volgens hen geven de homologieën tussen de zenuwstelsels van mens en dier genoeg aanleiding om te denken dat dieren de subjectieve beleving met mensen gemeen hebben. Dit wordt benadrukt door de vergelijkbare reacties van dieren met die van de mens in sommige situaties.

[195] Rollin B. 1998. *The Unheeded Cry. Animal Consciousness Animal Pain and Science*. Oxford: Oxford University Press.
[196] Brom FWA. 1997. *Onherstelbaar Verbeterd: Biotechnologie bij dieren als moreel probleem.* Assen: Van Gorcum & Comp. B.V.
[197] Stafleu FR, Grommers F, Vorstenbosch JMG. 1999. "Animal welffare : A hierarchy of concepts". *Proceedings of the European Society for Agricultural and Food Ethics: preprints,* Wageningen.

3.5.3.Intrinsieke waarde van het dier als "subject" van leven.

Een derde theorie pleit ervoor dat dieren een intrinsieke morele waarde hebben als levende wezens in zichzelf. Tom Regan is de meest belangrijke en genuanceerde verdediger van het argument dat dieren een intrinsieke waarde hebben die hen tot subject van rechten maakt, los van wat ze voor mensen kunnen betekenen.[198] Hij koppelt daaraan de stelling dat dieren niet als middel door andere wezens mogen worden gebruikt. Dat betekent dat het in de relatie van de mens en het dier niet zo zeer gaat om het niet aantasten van het welbevinden van het dier, maar veeleer dat we niet zo maar over dieren kunnen beschikken om aan onze behoeften te voldoen. De belangen van het dier zijn niet meer automatisch ondergeschikt aan de belangen van de mens.

Het begrip intrinsieke waarde is niet eenvoudig te omschrijven. Sommige auteurs baseren de intrinsieke waarde van het dier op zijn vermogen om te lijden en te genieten, het vermogen tot zekere bewustzijnstoestanden of hun hoge graad aan organische complexiteit (Bentham; Singer)[199]. Volgens deze opvatting is het statuut van beschermingswaardigheid hoger bij meer ontwikkelde dieren met een centraal zenuwstelsel. Bij lagere dieren dient de beschermwaardigheid afgewogen te worden tegen andere waarden.

Voor andere auteurs is de intrinsieke waarde gebaseerd op het hebben van een 'goed van zichzelf', dat wil zeggen, onafhankelijk van menselijke doelen (Regan, Taylor).[200] [201] Dieren zijn teleologisch (doelzoekend) van aard. Daarom hebben zij een 'goed van zichzelf'. Het niet kunnen realiseren van hun eigen doelen, schaadt hen. Gecombineerd met de erkenning dat dieren gevoelens hebben, was dat de basis van het morele 'nee, tenzij'-principe: geen ingrepen of behandelingen waar dieren onder lijden, tenzij daar een goede reden voor is.

[198] Regan T. 1983. *The Case for Animal Rights.* London: Routledge & Kegan Paul.
[199] Bentham J. 1789. *Introduction to the Principles of Morals and Legislation*. ECLA library; Singer P.1995. *Animal Liberation,* 2nd edit., London: Pimplico.
[200] Regan T. 1983. *The Case for Animal Rights* London: Routledge & Kegan Paul.
[201] Taylor PW. 1986. *Respect for nature: A theory of environmental ethics.* Princeton: Princeton University Press.

Sommige auteurs prefereren de term "integriteit van het dier" om de morele status van dieren weer te geven. Integriteit wordt omschreven als een vorm van heelheid of onaangetastheid die als ideaal wordt voorgesteld. De integriteit van het dier wordt geschonden door bijvoorbeeld het uiterlijk van het dier te veranderen, door het couperen van staarten of het genetische modificeren van dieren. Een tweede betekenis van integriteit is het vermogen om soortspecifiek te functioneren, bijvoorbeeld door basale behoeften (eten, drinken) onafhankelijk van de mens te bevredigen. Bij gedomesticeerde dieren kan dit begrip alleen in afgeleide zin gelden. Door het modificeren van dieren worden hun eigenschappen doelbewust en gericht gewijzigd ten nutte van de mens. Hierbij gaat het om andere zaken dan die bij de aantasting van gezondheid en welzijn een rol spelen.

3.6. Toepassingen op cybriden

Aan de hand van de bovengenoemde consideraties kunnen we twee soorten overwegingen onderscheiden betreffende het maken van cybriden: (a) overwegingen betreffende de toelaatbaarheid van het ingrijpen in de natuurlijke orde; (b) overwegingen betreffende de morele houding tegenover de nieuwe entiteiten die technologisch tot stand komen.

3.6.1. Ingrijpen in de natuurlijke ordening

De centrale vraag die moet worden beantwoord is of cybriden de orde in de natuur en de verhouding tussen mens en dier aantasten. Uitgaande van het bestaan van een verschil tussen de mens en de andere levende wezens - ook als dit verschil niet door iedereen als even scherp of fundamenteel wordt geacht -, zal het creëren van cybriden gezien worden als het schaden dan wel wijzigen van de natuurlijke orde en de hiërarchie tussen soorten, maar mogelijk ook als een bedreiging voor de uitzonderlijke status van de mens in de wereld.

Als cybriden als compleet nieuwe organismen worden gekwalificeerd zou cybridenonderzoek vergelijkbaar zijn met 'spelen voor God' en door gelovigen op zijn minst gezien kunnen worden als verandering of aantasting van de natuurlijke orde door het creëren van nieuwe levensvormen.

Voor aanhangers van een visie waar de mens bepaalt wat gedaan mag worden en de natuur geen grenzen stelt, is cybridenonderzoek geaccepteerd mits er geen risico's zijn voor de mens en het welzijn van het dier.

Voor verdedigers van de opvatting dat de mens de taak heeft de goedheid in de natuur te respecteren teneinde een ongeordend gebruik van de dingen te vermijden, zal de discussie rondom cybridenonderzoek zich richten op de grenzen van het toelaatbare, zoals tot nu toe ook het geval is bij genetische modificatie.

Voor aanhangers van een ecologische of ecosofische benadering is het probleem vooral of de harmonie, de integriteit en de stabiliteit van de biosfeer gevaar loopt door de introductie van cybriden.

Cybridenonderzoek raakt - als cybriden niet als gerelateerd aan de menselijke soort gezien worden - daarin aan het thema van het duurzaamheiddebat: Wat voor waarde hebben niet-menselijke levende wezens? In hoeverre zijn we bereid rekening te houden met hun belangen? Hoeveel ruimte geven wij aan de dieren om zich naar hun aard te kunnen ontwikkelen? Zijn we duurzaam bezig als we het soortenevenwicht verstoren?

3.6.2. Morele houding tegenover cybriden

Het respect dat we schuldig zijn aan cybriden wordt sterk beïnvloed door de vraag naar hun natuur en door onze opvattingen over de moreel relevante kenmerken. Als cybriden als menselijke embryo's worden gekwalificeerd, zou de juiste morele houding tegenover hen vergelijkbaar zijn met het respect dat we aan het vroege embryo verschuldigd zijn.

In het geval dat cybriden als dierlijk worden gekwalificeerd, horen wij de intrinsieke waarde van het dierlijke embryo te erkennen. Vanuit een gematigd antropocentrisme en een gematigd pathocentrisme zal rekening gehouden worden met een verschil in morele status tussen mens en dier. Voor andere opvattingen zal dat relatief zijn ten opzichte van het doel dat met cybriden wordt nagestreefd.

Gesteld dat cybriden noch menselijk, noch dierlijk zijn, dan hoeven zij daarmee nog niet te worden beschouwd als een klompje cellen of als voorwerpen (of dingen) waarmee men kan doen wat hij wil. Wij zijn moreel verantwoordelijk voor het creëren van deze nieuwe entiteiten en hun introductie in de natuurlijke orde of de eco- en biosfeer. Dat betekent dat de verhouding tussen mens en dier grondig ter discussie moet worden gesteld. Een visie die aan dieren en mensen gelijkelijk of in onderscheid rechten toekent is daarvoor niet voldoende. Cybriden kunnen immers op verschillende manieren worden samengesteld, waardoor hun levensvatbaarheid niet zonder meer vaststaat. Zijn cybriden wel levensvatbaar, dan zijn zij levende entiteiten die geen morele status hebben op grond van een natuurlijke of andere zijnswijze. Levensbeschouwelijke visies zijn derhalve moeilijk toepasbaar op cybriden en aanhangers van verschillende stromingen zullen wellicht geneigd zijn om de status dogmatisch te proclameren vanuit hun eigen denkpositie. Het debat over de grenzen van toelaatbaarheid van het maken van cybriden wordt daarmee bemoeilijkt.

Filosofisch blijft het van belang om in te zien dat de technologie mensen in staat stelt tot een instrumenteel gebruik van levende wezens waarbij levende entiteiten tot stand komen die de huidige horizon van de grenzen tussen mens en dier overschrijden. Met die overschrijding laadt de mens de verantwoordelijkheid op zich om die entiteiten een betekenisvolle plaats te geven in de wereld van levende entiteiten.

4. Ethische aspecten van cybridenonderzoek

4.1. Inleiding

Het gebruik van cybriden voor het creëren van menselijke stamcellen kan een ethisch aanvaardbare oplossing bieden voor het verkrijgen van stamcellen voor autologe celtherapie, waarbij zowel het probleem van het kloneren (SCNT) van menselijke embryo's als de problemen rond de menselijke eiceldonatie (donoreicellen) worden vermeden. Het alternatief roept zelf ook morele en wetenschappelijke vragen op. Er zijn nog veel wetenschappelijke aspecten onduidelijk, vooral met betrekking tot de veiligheid van het gebruik van de verkregen stamcellen. Er is verder nog te weinig bekend over de technische, politieke en sociale implicaties van dit onderzoek om op voorhand de voordelen, risico's en ethische gevolgen ervan op korte en lange termijn te kunnen evalueren. Daarenboven komen in het ethische debat over het onderzoek met cybriden dezelfde argumenten en morele visies naar voren die ook een rol spelen in discussies over embryo-onderzoek, over het vermengen van cellulair en lichamelijk materiaal van menselijke en dierlijke afkomst, over het gebruik van dieren voor medisch wetenschappelijk onderzoek en over de morele grenzen van dat onderzoek. De fundamentele vraag onder deze discussies betreft de indeling van de cybriden bij ofwel menselijke embryo's ofwel dierlijke embryo's.

In brede zin kunnen de argumenten die in het ethische betoog worden aangevoerd over het tot stand brengen van cybriden, in vier categorieën worden ondergebracht:

- Argumenten aangaande de menselijke waardigheid
- Argumenten aangaande de waarde en integriteit van het dier
- Argumenten aangaande de potentiële schending van de natuur
- Argumenten die gecentreerd zijn op de waarde en noodzaak van dit onderzoek

4.2. Menselijke waardigheid

Een cruciaal argument dat wordt gebruikt in discussies over de morele (on)toelaatbaarheid van cybriden is dat vermenging van menselijk en dierlijk materiaal een aanslag is op de menselijke waardigheid die ons begrip van mens-zijn op losse schroeven kan zetten.[202] [203] [204]

De mens wordt in deze visie gezien als drager van een intrinsieke waarde waardoor hij een unieke status geniet binnen de wereld (antropocentrisme). De mens is het enige wezen dat persoon is en daaraan een intrinsieke waarde ontleent. Die waarde wordt wel geformuleerd als 'een doel in zichzelf'.[205] Deze vorm van intrinsieke waarde wordt uitgedrukt in termen van menselijke waardigheid, maar die waardigheid wordt op verschillende wijzen begrepen.

Enerzijds baseert men de unieke status van de mens op de aanwezigheid van bepaalde eigenschappen en ervaringsmogelijkheden, zoals het vermogen om rationeel te denken, vrij te kiezen en zichzelf aan zedelijke wetgeving te onderwerpen, of het vermogen ervaringen als positief of negatief te waarderen. Over de eigenschappen die zich aan de grondslag van het respect voor de menselijke waardigheid bevinden, bestaat nog geen eensgezindheid. Die kenmerken of eigenschappen zijn in onze culturele traditie ook meerdere malen opnieuw gedefinieerd. Bijvoorbeeld, er zijn tijden geweest waarin pasgeborenen, kinderen, vrouwen, slaven of mensen uit vreemde landen niet als dragers van de intrinsieke waarde werden beschouwd. De vraag dient daarom steeds weer te worden gesteld: welke kenmerken zijn doorslaggevend om te spreken van een intrinsiek menselijke waardigheid.

Anderzijds wordt menselijke waardigheid gezien als inherent aan het menszijn. De menselijke waardigheid wordt dan niet afgeleid uit het bezit van

[202] Karpowicz P*,et al*. 2005. "Developing human-nonhuman chimeras in human stem cell research: ethical issues and boundaries". *Kennedy Institute of Ethics Journal*; 15(2):107-134
[203] Seyfer T. 2004. "The ethics of chimeras and hybrids: dignity and original solitude". *Journal of Medical Ethics*; 29(8):1-4.
[204] Bobber M. 2006. "Ethical questions concerning research on human embryos, embryonic stem cells and chimeras". *Biotechnology Journal*; 1: 1352-1369.
[205] Resnik DB. 2003. "Patents on human-Animal chimeras and threats to human dignity". *American Journal of Bioethics;* 3(3):35-36.

sommige eigenschappen of kenmerken. De mens heeft een intrinsieke waarde omdat hij bij de soort *homo sapiens* behoort. De menselijke waardigheid verwijst dan naar de plaats van de mens in de wereld. Die plaats is uniek ten opzichte van andere wezens. Alleen aan de mens komt daarom deze waardigheid toe. Het verschil tussen de mens en de rest van de dieren berust dan niet op biologische verschillen maar op een ontologisch verschil dat moreel significant is.[206]

Het vermengen van menselijk en dierlijk erfelijk materiaal (DNA) zou het onderscheid (de fundamentele kloof) tussen mens en dier kunnen doen verdwijnen, waardoor de mens zijn unieke status in de wereld kwijtraakt. Daarmee komt ook een belangrijke hoeksteen van ons morele en juridische systeem op losse schroeven te staan. Wanneer wij eenmaal een wezen als menselijk kwalificeren kennen wij dat wezen automatisch rechten en verantwoordelijkheden toe die hij niet had toen we hem als dier of als levenloos wezen beschouwden.[207] Het overschrijden van deze grens zou morele verwarring veroorzaken en de hogere morele status die is toegewezen aan de mens teniet kunnen doen. Het alternatief lijkt om geen menselijke waardigheid toe te kennen aan een interspecies entiteit.

De speciale waardigheid die de mens toekomt wordt doorgaans uitgedrukt in het principe dat de mens nooit als middel gebruikt mag worden om een doel te bereiken (Kant). Op de vraag of dit principe ook toegepast kan worden op het lichaam bestaan ruwweg twee antwoorden. Het eerste antwoord stelt dat het menselijke lichaam buiten de persoon als zodanig valt en daarom niet in de waardigheid deelt die aan de persoon toekomt. Volgens het tweede antwoord is het lichaam een essentieel onderdeel van de persoon dat deelneemt aan de menselijke waardigheid. De eerste visie heeft de overhand gekregen sinds het begin van de moderne tijd, maar de visie waarbij de persoon zijn lichaam is (en het niet alleen maar heeft), blijft op één of andere manier nog aanwezig in alle culturen.

[206] De unieke plaats kan worden aangereikt door een religieus argument, zoals het imago dei of de scheppingsorde, maar is ook door filosofen verdedigd in antropologische zin. In 'Die Stellung des Menschen im Kosmos' stelt de Duitse filosoof/ethicus Max Scheler dat de mens als enig wezens zich bewust is van de wereld. Dieren hebben slechts een omgevingsbewustzijn.
[207] Johnston J. 2003. "Chimeras and human dignity". *American Journal of Bioethics*; 3 (3):6-8.

De menselijke waardigheid bevindt zich ook aan de basis van de discussie over het gebruik van menselijke eicellen ten behoeve van wetenschappelijk onderzoek. Naast de vraag naar de ethische aanvaardbaarheid van de risico's waaraan vrouwen worden blootgesteld door de hormoonstimulatie, is de vrees uitgesproken dat vrouwen in een positie terechtkomen waarin ze gedegradeerd worden tot bron van eicellen en aangetast worden in hun lichamelijke integriteit.

De schaarste aan eicellen heeft in sommige landen, o.a. de Verenigde Staten, geleid tot het verkopen van rijpe eicellen tegen aanzienlijke bedragen. In Nederland en in de meeste Westerse landen wordt commercialisering beschouwd als een aantasting van de waardigheid van het vrouwelijke lichaam (en zijn potentialiteit in verband met voortplanting als zingevend gebeuren) en wordt commercialisering als een niet moreel aanvaardbare optie gezien.

De terughoudendheid in verband met de instrumentalisering van het lichaam of van onderdelen ervan heeft geleid tot het zoeken van "vrouwvriendelijke alternatieven" waarbij geen beroep hoeft te worden gedaan op eiceldonoren. Dat hoeft niet beperkt te blijven tot het gebruik van iSCNT embryo's, er kan op dit moment ook worden gedacht aan donatie van IVF-eicellen waarvan de bevruchting is mislukt, het gebruik van eicellen die vrijkomen bij een gynaecologische ingreep en vervolgens door de vrouw worden afgestaan, of van eicellen die verkregen worden uit ES.[208] [209]

4.3. Schending van de orde in natuur/ grenzen tussen soorten

Een argument dat tegen het tot stand brengen van cybriden wordt gebruikt luidt dat het vermengen van menselijk en dierlijk materiaal onze begrippen van "soort" en "natuur" (menselijke natuur, dierlijke natuur) door elkaar zou schudden. Is natuur iets dat biologisch wordt bepaald, bijvoorbeeld door het bezit van bepaalde genen, cellen of organen, of door het behoren tot een

[208] Solter D. 2003. "New paths to human ES cells?" *Nature Biotechnology*; 21(10): 1154-1155.
[209] Testa G, Harris J. 2004. "Genetics. Ethical aspects of ES cell derived gametes". *Science;* 2, 305(5691):1719.

concrete soort? Welk begrip van soort moeten wij dan hanteren? Wat zijn de grenzen tussen soorten? Zijn soorten van elkaar gescheiden door vaste abrupte grenzen die niet verbroken kunnen worden?

Er zijn verschillende benaderingen voor het bepalen van de grenzen tussen soorten, inclusief de mens. Alle benaderingen stuiten op de vraag op welk moment een mens kan ophouden met menszijn en een dier met dierzijn.[210] Julian Savulescu heeft deze onzekerheid uitgedrukt met de vraag "waarom hebben sommige genetische structuren, zoals het bezit van 46 chromosomen, een morele waarde?"[211] Wijzend op de incidentie van het syndroom van Turner, gekarakteriseerd door een (gedeeltelijk) ontbrekend X chromosoom, concludeert hij dat er geen morele waarde gekoppeld kan zijn aan een bepaald aantal chromosomen.

Een fundamentele vraag bij iSCNT is de betekenis en de aanvaardbaarheid van het overschrijden van de grenzen tussen soorten. In de beantwoording van deze vraag kunnen drie verschillende visies worden onderscheiden. Voor sommige auteurs hebben grenzen tussen soorten geen morele of wetenschappelijke relevantie.[212] Anderen zien die grenzen als morele indicatoren van grenzen die we nooit mogen schenden.[213] Voor een derde groep is het ethisch aanvaardbaar de grenzen tussen soorten te overschrijden, ook al hebben die grenzen een zekere morele relevantie. De voorwaarde is dan dat dit op een ethisch verantwoordelijke manier gebeurt.[214]

De wetenschappelijke en biologische vragen rond het mens/dier verschil en het soortbegrip moeten worden verhelderd eer we de fundamentele ethische

[210] Robert JS. 2006. "The science and ethics of making part-human animals in stem cell biology". *FASEB Journal*; 20(7):838-845;
Robert JS, Baylis F. 2003. "Crossing species boundaries". *American Journal of Bioethics*; 3(3): 1-13.
[211] Savulescu J. 2003. "Human-animal transgenesis and chimeras might be an expression of our humanity". *American Journal of Bioethics*; 3(3):22.
[212] Siegel AW. 2003. "The moral insignificance of crossing species boundaries". *American Journal of Bioethics;* 3(3):33-34
[213] Streiffer R. 2003. "In defence of the moral relevance of species boundaries". *American Journal of Bioethics;* 3(3):37-38.
[214] Karpowicz P, Cohen CB, van der Kooy D. 2000. "It is ethical to transplant human stem cells into nonhuman embryos". *Nature Medicine;*10(4):331-335.

kwesties die cybridenonderzoek doet ontstaan kunnen beantwoorden, namelijk: welke zijn onze ethische (sociale en juridische) verplichtingen ten opzichte van deze nieuwe inter-species entiteiten? Wat is de betekenis van menselijke en dierlijke kenmerken bij het bepalen van onze morele plichten tegenover cybriden en andere vormen van mens-dier combinaties?[215] Is het ethisch aanvaarbaar mensen met dierlijke kenmerken (die wellicht niet meer als "*homo sapiens*" herkenbaar zullen zijn) tot stand te brengen? En uiteindelijk nogmaals de hoofdvraag: mogen wij de grenzen tussen soorten wel of niet overschrijden?

4.4. Het onnatuurlijkheidsargument.

Alles wat door gerichte genetische modificatie tot stand komt, is volgens het onnatuurlijkheidsargument onnatuurlijk. Toch stuit niet elke vorm van genetische modificatie op principieel bezwaar en is niet door de wet verboden. Zo wordt het overbrengen van genetisch materiaal van de ene soort in de andere niet per definitie als ethisch problematisch beschouwd. Het inbrengen van het menselijk insuline-gen in het genoom van bacteriën om zo humane insuline te kunnen produceren, is bijvoorbeeld wereldwijd geaccepteerd. Het creëren van cybriden wordt echter beschouwd als een onnatuurlijke techniek die wel ethisch problematisch is.

De grenzen tussen de onnatuurlijkheid of natuurlijkheid van een bepaalde techniek zijn niet altijd makkelijk te trekken. Belangrijk is de overweging dat het creëren van cybriden een vermenging van genetisch materiaal afkomstig van verschillende soorten vereist die op een natuurlijke manier niet mogelijk is. Die vermenging gaat verder dan genetische modificatie. De grenzen liggen bij het respect van de ordening in de natuur en de natuurlijke grenzen tussen soorten. Een fundamentele vraag bij genetische modificatie is of we de natuur reconstrueren of beïnvloeden. Zolang ingrepen geen essentiële eigenschappen van de mens en andere organismen wijzigen, wordt genetische modificatie niet als onnatuurlijk gezien. Bijvoorbeeld een bacterie

[215] Franklin S. 2003. "Drawing the line at not-fully-human: what we already know". *American Journal of Bioethics;* 3(3):W25-W27.

die humane insuline produceert blijft een bacterie; een koe die een eiwit produceert waarmee mensen kunnen worden behandeld, blijft een koe. Maar wanneer ingrepen significante veranderingen aanbrengen in aspecten die eigen zijn aan een soort - zoals het inbrengen van eigenschappen van de ene soort bij een andere - dan worden de natuurlijke grenzen tussen soorten overschreden. Dat kan leiden tot ontwrichting van het natuurlijk evenwicht tussen soorten. Het creëren van mens-dier cybriden zou volgens deze argumentatie de orde in de natuur verstoren. De mogelijke gevolgen van deze verstoring op de menselijke identiteit en waardigheid zijn daarbij, zowel op cultureel als op natuurlijk niveau, onmogelijk te voorspellen.

Een tweede overweging die naar voren wordt gebracht om cybriden als onnatuurlijk te beschouwen is de vaststelling dat elk wezen een eigen doel heeft: "een geaardheid, een functie, en een activiteitenpatroon dat intrinsiek is aan zijn wezen", los van de belangen van de mens. De doelgerichtheid van elk wezen stelt grenzen aan de menselijke handelingen. De mens hoort de ordening in de natuur en het natuurlijke doel van elk wezen te respecteren.

In het geval van cybridenonderzoek is het zeker moeilijk aan te geven waarom de cybride tegen het natuurlijke doel van elk wezen of soort is. Als uit de vermenging van genetisch materiaal van mens en dier een levend wezen of levende stamcellen zouden ontstaan, op basis waarvan kunnen we dan zeggen dat het gevolgde proces onnatuurlijk is? Of moeten wij juist vaststellen dat de natuur dat wezen toelaat wanneer het een eigen zijnswijze kan ontwikkelen? Als technologisch ingrijpen de natuur in staat stelt om de grenzen tussen soorten te laten overschrijden, is dat dan ipso facto onnatuurlijk? Moeten we alles wat op een natuurlijke manier niet mogelijk is daarmee als ethisch onaanvaardbaar of problematisch zien?

Argumenten met betrekking tot de schending van de natuurlijke orde laten aan duidelijkheid veel te wensen over. Wel hebben die argumenten een publiek belang dat mede kan worden ingegeven door angst voor het onbekende. Vanwege de onduidelijkheden kan het onnatuurlijkheidargument op positieve wijze worden samengevat als volgend uit een morele eis dat elke vorm van leven eerbied verdient en onaantastbaar is.

4.5. Morele intuïties van afkeer: de Yuk factor

Het tot stand brengen van cybriden zou moreel onaanvaardbaar kunnen zijn vanwege de emotionele afkeer die het bij velen oproept. Hiermee komen intuïties tot uiting die het onbehagen verwoorden dat ontstaat door het gebruik van technologieën die een bedreiging lijken voor algemeen aanvaarde waarden. Dat onbehagen wordt als voldoende reden gezien om cybridenonderzoek af te wijzen.[216] Leon Kass, voormalig voorzitter van de Presidents' Commission in de USA (2001-2005), ziet in deze morele afkeer tegelijk een waarborg van menselijk respect.

> *"Indeed, in this age (..) in which our given human nature no longer commands respect, (...) repugnance may be the only voice left that speaks up to defend the central core of our humanity".*[217]

Ook als het moeilijk is om uit te leggen waarom sommige praktijken onbehagen oproepen, kan de morele afkeer worden gezien als een emotionele uiting van een diepgewortelde kennis en wijsheid die wij niet onder woorden kunnen brengen.

> *"In crucial cases, however, repugnance is the emotional expression of deep wisdom, beyond reason's powerfully to articulate it".* [218]

De vraag rijst hoe we afkeer als uiting van een diepe morele kennis kunnen scheiden van die reacties die slechts een sociale en historische emotionele houding vertolken. Elke samenleving heeft sociale taboes die een rol spelen bij het beschermen en in standhouden van de door die groep gehanteerde waarden.[219] Vanuit deze sociale benadering zijn taboes niet universeel en aan historische veranderingen onderworpen. Taboes kunnen mettertijd verdwijnen.

---

[216] De Witt N. 2002. "Scientists divided over proposal to create human-mouse embryos". *Nature;* 420:255.
[217] Kass L. 1997. "*The wisdom of repugnance". New Republic;* 2:17-26.
Kass LR, Wilson JQ. 1998. *The Ethics of Human Cloning*. Washington DC: AEI Press.
[218] *Idem.*
[219] Douglas M. 1966. *Purity and Danger. An Analysis of Concepts of Pollution and Taboo*. London: Routledge and Kegan Paul; Douglas M. 1970. *Natural Symbols. Explorations in Cosmology.* London: Tavistock Publications.

De vraag is dan in hoeverre publieke reserve of afkeer of zelfs angst gehonoreerd c.q. gerespecteerd moet worden. Nieuwe ontwikkelingen hebben in eerste instantie altijd veel weerstand opgeroepen, maar werden later geleidelijk aan geaccepteerd. Het ontleden van lijken werd destijds met argwaan bekeken als de doorbreking van een taboe. Dezelfde soort reacties werd opgewekt door de harttransplantatie eind jaren zestig in het Zuid-Afrikaanse Groote Schuur ziekenhuis. Thans zijn deze technieken maatschappelijk en ethisch aanvaard.

Het emotionele onbehagen bij cybridenonderzoek doet de vraag ontstaan hoe ver we mogen gaan in het onderzoek naar het leven als verschijnsel. Klaarblijkelijk gaat het niet alleen om het overschrijden van grenzen tussen soorten of de natuurlijke orde. Het gaat ook om een overschrijding van morele waarden en opvattingen die sociale gevolgen kunnen hebben.

4.6. De waarde en integriteit van het dier

Vanuit de dierethiek zijn bezwaren tegen het tot stand brengen van cybriden ingebracht.

Een dierethische discussie over cybridenonderzoek handelt over de vraag of en in welke mate schade mag worden berokkend aan de belangen van het dier, alsmede over de vraag in hoeverre de mogelijke schade aanvaardbaar is. De meest voor de hand liggende morele vraag betreffende het gebruik van dieren voor wetenschappelijk onderzoek, is de vraag naar het welbevinden van het dier, in de strikte zin van het woord. Zijn er zichtbare indicaties van gebrek aan welbevinden?

In die strikte zin zijn die morele vragen niet op cybridenonderzoek toe te passen. Eicellen worden geoogst bij de slacht van het dier voor de vleesproductie die publiekelijk – met uitzondering van sommige groepen- als ethisch onproblematisch of ten minste ethisch neutraal wordt gezien. Toch zijn er een paar vraagtekens erbij te plaatsen.

De eerste vraag heeft betrekking op het aantal beschikbare (of te gebruiken) eicellen op het moment van slachting. In het geval van koeien zullen op het moment van slachting niet meer dan twee à drie rijpe eicellen in de eileiders aanwezig zijn. Onrijpe eicellen die kleiner zijn dan 3-6 mm kunnen in een laboratorium moeilijk tot rijping worden gebracht. Het creëren van cybriden vereist voorlopig een groot aantal eicellen, onder andere omdat de SNCT-techniek () zich nog in de kinderschoenen bevindt en het slaagpercentage laag is.

Om de techniek met enige doeltreffendheid te verrichten zullen aan het dier hormonen toegediend moeten worden om de eicelproductie te vergroten. Hormoontherapie kan het welbevinden van het dier wel beïnvloeden. Hormonen kunnen negatieve effecten veroorzaken zoals moeheid, pijn, etc. en kunnen, wanneer men erkent dat dieren gevoelens hebben, dan eveneens de gemoedstoestand van het dier beïnvloeden.

Een tweede vraag met betrekking tot het welbevinden van dieren is die naar de levenscondities van de dieren die gebruikt worden voor eiceldonatie. Het onderzoek naar xenotransplantatie heeft duidelijk gemaakt dat zorg daarvoor wel nodig is.

Het belang om te voorkomen dat dieren pijn lijden en dat aan hun behoeften en voorkeuren wordt voldaan, levert geen specifiek ethische vragen op voor cybridenonderzoek. De morele plicht om geen kwellingen aan dieren toe te brengen en hun kwaliteit van leven te respecteren, zijn algemene principes die toegepast kunnen worden op alle gebieden van gebruik van dieren voor wetenschappelijke experimenten. In het geval van cybriden is er echter geen sprake van dierlijke entiteiten die in staat zijn gevoelens te ondergaan. Cybriden zijn op dit moment niet levensvatbaar en een beperking van de kweekduur tot 14 dagen laat geen ontwikkeling van die eigenschappen toe.

In het geval van cybridenonderzoek is er wel de meer fundamentele vraag naar de intrinsieke waarde en/ of integriteit van het dier. Met dit begrip wil men aangeven dat er een waarde in het bestaan van dieren is die verder reikt dan het nut dat dieren hebben voor de mens.

Op basis van de argumentatie van de intrinsieke waarde van het dier kan cybridenonderzoek als schending van de zijnswijze en daardoor als een schending van de integriteit of intrinsieke waarde van het dier worden opgevat. Onafhankelijk van de effecten van de techniek op het welbevinden van het dier zou cybridenonderzoek het dier reduceren. De vraag is hoe de notie intrinsieke waarde van het dier in relatie met morele waarde staat. Zeggen dat dieren een intrinsieke waarde hebben, vertelt nog niets over hoe we dieren op een morele relevante manier zullen waarderen. Een uitleg waarom we morele verplichtingen hebben jegens levende wezens met een intrinsieke waarde vereist in het verband van cybriden dan ook een nadere verklaring. Gaat het om zaken als het vermogen om te lijden en te genieten, of hun vermogen tot zekere bewustzijnstoestanden of om biologische zaken, zoals de graad aan organische complexiteit? In hoeverre kunnen dergelijke criteria dan op cybriden worden toegepast? Het lijkt alsof ook hier de levensvatbaarheid de doorslag geeft. Wanneer cybriden niet levensvatbaar zijn, lijkt er geen sprake te zijn van een intrinsieke dierlijke waarde. Wanneer bepaalde cybriden wel kunnen uitgroeien tot een eigenstandige entiteit, dan rijst de vraag of deze daarmee ook een intrinsieke waarde hebben als inter-species entiteit. Dan zou die waarde kunnen leiden tot morele waardering en tot mogelijke bezwaren.

4.7. Waarde en noodzaak van cybridenonderzoek met het oog op klinische toepassing

De eerste set van morele overwegingen bij het waarderen van het onderzoek betreft de vrijheid van onderzoek. De vrijheid van onderzoek wordt in het algemeen als een moreel goed beschouwd omdat vermeerdering van wetenschappelijke kennis als intrinsiek waardevol wordt gezien en omdat dat onderzoek tot moreel waardevolle technologieën (bijvoorbeeld medische) kan leiden. Vrijheid van onderzoek is niet ongebreideld. Wáár de grenzen geplaatst horen te worden, verschilt afhankelijk van het morele perspectief dat wordt gehanteerd. Een ethisch (en wetenschappelijk) verantwoord onderzoek veronderstelt een controle op het proces van het onderzoek zelf,

op de methodologie die gevolgd wordt en beschouwing van alle mogelijke gevolgen en risico's van het onderzoek. De vraag is tot hoe ver de samenleving bereid is bezwaren opzij te zetten voor dergelijk onderzoek.

De potentiële risico's voor personen die op een directe of indirecte manier betrokken zullen zijn bij cybridenonderzoek moeten nog in ogenschouw worden genomen. Op de eerste plaats kunnen nadelige effecten van therapieën bij toekomstige patiënten aan het licht komen. Deze effecten kunnen niet beperkt worden tot fysieke gevolgen. De psychische risico's zoals schending van de persoonlijke waardigheid door het ontvangen van cellen met dierlijk materiaal verdient ook aandacht.

Er kunnen bij toepassing ook onvoorziene gevolgen op lange termijn optreden. Het is bekend dat SCNT te kampen heeft met technische problemen. Het genetische programma van cellen die via SCNT zijn verkregen laat defecte controlemechanismen zien, onder andere aantasting van de genetische blauwdruk.[220] Andere problemen worden veroorzaakt door verschillen tussen het mtDNA en nDNA (zie hoofdstuk 1). Deze afwijkingen kunnen de verkregen stamcellen ongeschikt maken voor therapeutische doeleinden. Dierexperimenten hebben tot nu toe geen duidelijke resultaten opgeleverd.[221]

Een duidelijk voorbeeld van een risico voor derden is het gevaar van het verspreiden van dierlijke virussen die zich aan het menselijke DNA kunnen aanpassen. Dat risico wordt klein geacht omdat virussen zich meestal in de kern bevinden.[222]

De risico's voor de volksgezondheid moeten geëvalueerd worden alsmede de voorwaarden waaronder deze risico's aanvaardbaar zijn. Voorstanders van de verder ontwikkeling zijn het er over eens dat men die risico's tot een

[220] Jaenisch RJ. 2004. "Human cloning, the science and ethics of nuclear transplantation". *New England Journal of Medicine;* 351(27):2787-2791.
[221] Barrientos A, Kenyon L, Moraes CT. 1998. "Human xenomitochondrial cybrids. Cellular models of mitochondrial complex I deficiency". *Journal of Biological Chemistry*; 273:14210-14217; Barrientos A, *et al.* 2000. "Cytochrome coxidase assembly in primates is sensitive to small evolutionary variations in amino acid sequence". *Molecular Biology and Evolution*; 17:1508-1519.
[222] De Wert G, Mummery C. 2003. "Human embryonic stem cells: research, ethics and policy". *Human Reproduction*; 18(4):672-682.

aanvaardbaar niveau zal kunnen beperken, maar dat de technologische problemen complex van aard zijn.

Andere sociale risico's zijn de financiële lasten van het onderzoek en de aantasting van het beeld van de wetenschap en daarmee van het sociale respect en steun. Als cybridenonderzoek geen sociale steun verkrijgt en desalniettemin verricht wordt, kunnen de gevolgen voor het wetenschappelijke onderzoek in termen van economische subsidie en aanvaarding van toekomstige therapieën ernstig zijn.

De voordelen van cybridenonderzoek voor de menselijke gezondheid zijn eveneens van belang voor de ethische beschouwing. Gezien de onbekende risico's voor de betrokken personen en hun sociale omgeving, dienen de veronderstelde voordelen voor de menselijke gezondheid groot genoeg te zijn om de eventuele risico's te compenseren. De volgende vragen zijn van belang. Wat is het doel van het onderzoek? Hoe zal het onderzoek het menselijke leven of welbevinden verbeteren? Hoe belangrijk is het onderzoek voor de wetenschappelijke kennis en klinische toepassingen? Op welke manier zal de wetenschappelijke vooruitgang worden belemmerd als cybridenonderzoek verboden wordt? Wordt het probleem van het ontstaan van afweerreacties opgelost met het gebruik van cybriden? Ook als het er uiteindelijk om gaat zieke mensen in de toekomst beter te kunnen helpen, is het moeilijk het nut en de toepassingsmogelijkheden in kaart te brengen. Als nieuwe inzichten door ander wetenschappelijk onderzoek van minder ingrijpende aard verkregen kunnen worden, bijvoorbeeld met behulp van geïnduceerde pluripotenten stamcellen (iPSC's), terwijl wel een zelfde eindresultaat haalbaar blijft, zou cybridenonderzoek onnodig zijn. Toch vinden sommige auteurs dat ook in dat geval onderzoek met cybriden nodig blijft. Volgens Guido Pennings is de kans groot dat één techniek met één soort cellen niet alle problemen zal kunnen oplossen.[223] In het huidige stadium van stamcelonderzoek kan niemand met honderd procent zekerheid zeggen welke methodes in welke gevallen zullen aanslaan. Met de kennis uit

[223] Pennings G, Van Steirteghem A. 2004. "The subsidiarity principle in the context of embryonic stem cell research." *Human Reproduction*; 19(5):1060-1064.

verschillende onderzoekslijnen kunnen we de techniek van het verkrijgen van stamcellen verfijnen. Voor bepaalde genetische aandoeningen bijvoorbeeld moeten waarschijnlijk andere oplossingen worden gezocht en dat is alleen mogelijk indien we over de nodige fundamenteel-wetenschappelijke kennis beschikken.[224]

Ook in het geval dat cybridenonderzoek een groot voordeel oplevert voor zuiver wetenschappelijke kennis en vooruitgang, vormt de voorspelde kans op succes een mogelijk ethisch discutabel argument indien aan het onderzoek uiteindelijk geen praktische toepassing kan worden verbonden.

4.8. Conclusie: Morele argumenten voor en tegen cybridenonderzoek

Er zijn tal van morele argumenten voor en tegen cybridenonderzoek. Hieronder geven we een overzicht van de belangrijke punten zowel uit de hoek van voorstanders als tegenstanders.

Argumenten voor cybridenonderzoek

- Dit onderzoek kan grote voordelen voor de mens opleveren: meer inzicht in de embryonale ontwikkeling; mogelijkheid tot het preklinisch testen van farmaceutische producten; beter onderzoek naar pathologieën en mogelijke therapieën; beter onderzoek naar ontwikkelingsprocessen t.b.v. IVF; het kunnen verkrijgen van autologe stamcellen voor therapeutisch gebruik.
- Het onderzoek is beperkt tot het tot stand brengen van cybriden die na 14 dagen zullen worden vernietigd.
- Het onderzoek vermijdt de ethische problemen verbonden aan het gebruik van menselijke embryo's en eicellen.[225]

[224] Scott CT, Reijo Pera RA. 2008. "The road to pluripotence: the research response to the embryonic stem cell debate Human Molecular Genetics". *Human Molecular Genetics;* 15;17(R1): R3-9.
[225] Zwanziger LL. 2003. "Crossing Perspectival Chasms about Species". *American Journal of Bioethics*, 3(3):9-10.

- Cybriden ontstaan niet uit de versmelting van een mannelijke en een vrouwelijke geslachtcel, noch hebben zij het vermogen uit te groeien tot een individu. Zij kunnen niet als menselijke embryo's gekwalificeerd worden. Daarom kunnen cybriden gezien worden als een bruikbaar en aanvaardbaar alternatief voor het gebruik van menselijke embryo's voor onderzoek.
- Omdat cybriden zich niet tot een volledig individu zullen ontwikkelen is er geen sprake van schaden van dierenrechten of mensrechten.
- Als onderzoek met menselijke embryo's die jonger zijn dan 14 dagen als ethisch aanvaarbaar wordt beschouwd is er geen reden om cybriden die per definitie niet honderd procent menselijk zijn te verbieden.

Argumenten tegen cybridenonderzoek

- Het creëren van cybriden vervlakt het essentiële verschil tussen mens en dier.
- De vermenging van menselijk en dierlijke DNA is tegen menselijke en dierlijke waardigheid
- Het doen ontstaan van cybriden is tegen een natuurlijke ordening die aanwezig is in het heelal.
- De veronderstelling (belief) dat er vaste grenzen bestaan tussen diersoorten is een onderdeel van de conventionele morele opvatting. Het overschrijden van deze grenzen brengt morele verwarring en bedreigt de betekenis van mens-zijn.
- Cybridenonderzoek is tegen de morele intuïties (yuk factor.)
- Cybridenonderzoek is nog niet veilig. Experimenten hebben aangetoond dat er een risico bestaat op veranderingen in de genetische structuren en de energiehuishouding. Er bestaat een risico op kruisinfecties, ook al wordt de bijbehorende kans bijzonder klein geacht.

- Er is tot nu toe geen bewijs dat de cellen de noodzakelijke eigenschappen hebben voor therapeutische toepassing.

5. Juridische aspecten van cybridenonderzoek

De wet van 20 juni 2002 houdende regels inzake handelingen met geslachtscellen en embryo's (Embryowet[226]), bevat voor het onderwerp van dit advies relevante bepalingen ten aanzien van het doen ontstaan van embryo's voor andere doeleinden dan zwangerschap, kloneren, en de toetsing van onderzoeksprotocollen.

Andere wetten bevatten aspecten die ook van belang zijn bij cybridenonderzoek, zoals de Wet op bijzondere medische verrichtingen (WBMV), de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren (GWWD) en de Wet op de dierproeven die het gebruik van dierlijk materiaal voor therapeutische doelen en de toepassing van biotechnologie op dieren reguleren. (NB op 1 januari 2013 treedt nieuwe wetgeving in werking).

Op al de genoemde aspecten wordt hieronder kort ingegaan, teneinde zicht te krijgen op de verwevenheid van het cybridenonderzoek met de bestaande wetgeving.

5.1.Embryowet

5.1.1.Onderzoek met embryo's

De Embryowet stelt grenzen aan handelingen met geslachtscellen en embryo's. De wet formuleert regels voor de ter beschikkingstelling van deze cellen en van embryo's. Ook geeft de wet aan welke vormen van onderzoek verboden zijn. De wet trad in werking op 1 september 2002 en is laatstelijk geëvalueerd in 2006.

Het is ingevolge artikel 24, onderdeel a, verboden "een embryo speciaal tot stand te brengen en speciaal tot stand gebrachte embryo's te gebruiken voor wetenschappelijk onderzoek en andere doeleinden dan het tot stand brengen van een zwangerschap.

Tevens wordt het ontoelaatbaar geacht een levend embryo buiten het menselijk lichaam dat zich langer dan veertien dagen heeft ontwikkeld, te

[226] Wet, houdende regels inzake handelingen met geslachtscellen en embryo's (Embryowet). Staatsblad 2002 338.

gebruiken voor onderzoek en is dus ook zulk gebruik verboden. Voorts is de kruising van menselijke en dierlijke geslachtscellen, ook wel het maken van hybriden genoemd, verboden op grond van artikel 25, onderdeel a.

De wet definieert een embryo als 'een cel of samenhangend geheel van cellen met het vermogen uit te groeien tot een mens' art.1, onderdeel c. De wet heeft dus niet alleen betrekking op een embryo dat is ontstaan uit de versmelting van menselijke geslachtcellen. Embryo's die zijn ontstaan door middel van andere methoden, zoals celkerntransplantatie, vallen ook onder de wettelijke definitie van een embryo.

Centraal in de definitie staat echter het vermogen uit te groeien tot een mens.

In het kader van de embryowet is de toelaatbaarheid van cybridenonderzoek afhankelijk van het vermogen van cybriden om uit te groeien tot een mens. In het antwoord van *Staatssecretaris van Volksgezondheid, Welzijn en Sport,* dr. J. Bussemaker, op de vragen van het Kamerlid *Ouwehand (Partij voor de Dieren)* over het kruisen van mens en dier, is aangenomen dat een cybride niet levensvatbaar zal zijn en dus als zodanig niet onder de definitie van 'embryo' in de Embryowet valt.[227]

Het criterium dat hier wordt gehanteerd is het vermogen van cybriden om zich tot een mens te ontwikkelen. In hoofdstuk 3 van dit advies is ingegaan op de diverse ethische posities die kunnen worden ingenomen in de discussie over de morele status van cybriden. Daarbij is besproken dat volgens de huidige stand van de wetenschap cybriden vooralsnog niet kunnen uitgroeien tot een mens en derhalve is de Embryowet niet van toepassing.

Duidelijk is in ieder geval dat wanneer cybriden de juiste biologische en genetische constitutie missen om als menselijke embryo's te worden beschouwd, de Embryowet niet kan worden toegepast op cybridenonderzoek.

[227] Antwoorden op Kamervragen van Ouwehand over kruisen mens en dier. Aanhangsel Handelingen II 2006/2007, nr. 1077.

Het Rapport Evaluatie van de Embryowet van januari 2006[228] stelt dat de limitatieve opsomming van onderzoeksdoelen ertoe kan leiden, dat bepaalde veelbelovende onderzoeksrichtingen onmogelijk worden. Het gaat hier om onderzoek dat op termijn zou kunnen bijdragen aan meer inzicht in belangrijke gezondheidsproblemen en betere behandelingen bijvoorbeeld door middel van nieuwe vormen van celtherapie die patiëntspecifiek zijn. Cybridenonderzoek zou bij deze categorie horen. Zoals hiervoor is aangegeven, is nadien (nogmaals) gesteld is dat de cybride niet onder Embryowet valt, hetgeen betekent dat onderzoek naar en met cybriden in het geheel niet door die wet wordt beperkt.

De laatste vraag die rijst bij cybridenonderzoek is of de entiteiten die zijn ontstaan door het inbrengen van menselijk nDNA in een ontkernde niet-menselijke eicel vallen onder het verbod van het creëren van chimeren en het implanteren daarvan in een mens of een dier. Aangezien cybriden geen cellen of weefsels bevatten die te onderscheiden zijn als behorend tot twee of meer (dierlijke of menselijke) soorten, kunnen zij niet als chimeren worden beschouwd.

5.1.2. Embryo's ter beschikking stellen

De embryowet regelt de ter beschikkingstelling van geslachtcellen en van embryo's die uit de geslachtcellen zijn ontstaan. In het geval van interspecies mens-dier embryo's (cybriden) rijzen er vragen met betrekking tot de zeggenschap over de cybride. Aangezien het dier waaruit de eicel afkomstig is geen rechtspositie geniet zou de persoon die het DNA doneert een absolute zeggenschap kunnen hebben. De positie van het dier komt in de Embryowet uiteraard niet naar voren.

5.1.3. Centrale toetsing van embryo-onderzoek

De centrale commissie als bedoeld in artikel 14, eerste lid, van de WMO (de CCMO) heeft in gevolge de Embryowet (zie art. 3, art. 10, art. 16 en art. 19) ook tot taak protocollen te beoordelen voor wetenschappelijk onderzoek dat op het terrein van de embryowet ligt. Dat geldt zowel voor onderzoek met

[228] Rapport Evaluatie van de Embryowet. Den Haag: ZonMw, januari 2006.

embryo's die niet zullen worden teruggeplaatst (preklinisch embryo-onderzoek) als voor onderzoek met embryo's waarbij dat wel gebeurt (klinisch embryo-onderzoek). Het onderzoeksprotocol moet een volledige beschrijving van het voorgenomen onderzoek bevatten.

Omdat een cybride niet kan worden beschouwd als embryo in de zin van de Embryowet is, is de verplichting tot centrale beoordeling door de CCMO bij pre-klinisch (laboratorium) onderzoek niet op cybriden van toepassing. Overigens is wel de WMO van toepassing wanneer men onderzoek wil uitvoeren waarbij men cybriden of de na verdere kweek daarvan uiteindelijk verkregen (stam)cellen zou willen implanteren in menselijke proefpersonen. *Wanneer cybriden of de daaruit afgeleide (stam)cellen als dierlijk worden gezien, zouden dergelijke implantaties op dit moment verboden zijn ingevolge artikel 6a van de WBMV.*

5.2. Regelgeving op het gebied van dieren

In bepaalde gevallen kan op handelingen waarbij gebruik gemaakt wordt van of onderzoek gedaan wordt met dieren of daarvan afkomstig materiaal, ook dierenregelgeving van toepassing zijn. Het gaat in Nederland op dit moment met name om de twee hierna behandelde wetten, die mede moeten worden gezien als de nationale vertaling van de in paragraaf 5.3.3 genoemde richtlijnen op het gebied van dieren.

5.2.1 Wet op de dierproeven (Wod)

Het tot stand brengen van cybriden ten behoeve van wetenschappelijk onderzoek zal in bepaalde gevallen, zoals wanneer daarbij eicellen worden gebruikt die worden verkregen uit levende zoogdieren, moeten worden beschouwd een dierproef in de zin van de Wod te zijn. Het uitvoeren van een dierproef is ingevolge artikel 2 van die wet in ieder geval vergunningplichtig. Daarnaast is het verboden een dierproef te verrichten indien niet daarover tevoren een positief advies is uitgebracht door een bevoegde (op grond van artikel 18a van de wet erkende) dierexperimentencommissie, dan wel een positief oordeel door de Centrale commissie dierproeven.

De Wod stelt als materiële zorgvuldigheidsvoorwaarden onder meer het vereiste van subsidiariteit (het doel mag niet langs andere weg te bereiken zijn) en het proportionaliteitsbeginsel (het belang moet opwegen tegen het ongerief dat aan het dier wordt berokkend). Deze voorwaarden gelden - ook als het cybridenonderzoek betreft - zowel in de experimentele fase waarbij dierlijke eicellen worden gebruikt als bij de eventuele toekomstige klinische toepassing.

5.2.2. Gezondheids- en welzijnswet voor dieren (GWWD)

Volgens artikel 66, derde lid, van de GWWD[229] is een vergunning vereist voor biotechnologische handelingen bij dieren (die kan worden verleend door de minister onder wiens portefeuille het terrein van de landbouw valt). Een vergunning wordt slechts verleend "indien de handelingen geen onaanvaardbare gevolgen hebben voor de gezondheid of het welzijn van dieren en tegen de handelingen geen ethische bezwaren bestaan."

Een voor het tot stand brengen van een cybride gebruikte ontkernde dierlijk eicel is geen dier in de zin van de GWWD. Wordt er daarnaast van uit gegaan dat een cybride niet alleen niet een menselijk embryo in de zin van de Embryowet is, maar evenmin kan worden gezien als een dier in de zin van de GWWD, dan is de vraag of er sprake is van een op grond van die GWWD vergunningplichtige handeling niet aan de orde. In dat geval is de GWWD niet van belang voor het antwoord op de vraag onder welke voorwaarden welke handelingen leidend tot of gebruikmakend van cybriden zijn toegestaan.

5.3. Europese dimensie

5.3.1 Convention on Human Rights and Biomedicine Verdrag inzake Mensenrechten en Biogeneeskunde

Het Verdrag inzake de Rechten van de Mens en de Biogeneeskunde van de Raad van Europa uit 1997 (RVE97a) verbiedt het creëren van menselijke

[229] Wet van 24 september 1992, houdende de vaststelling van de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren (Staatsblad 1992, 585)

embryo's voor onderzoeksdoeleinden (artikel 18). [230] Het gebruik voor onderzoek van embryo's die zijn overgebleven van IVF procedures is onder voorwaarden toegestaan. Bij deze voorwaarden staat vermeld dat waar de wet embryo-onderzoek toestaat er ook voor een passende bescherming van het embryo moet worden gezorgd.

Het verdrag is door drieëndertig deelnemende landen ondertekend waaronder Nederland. In de beleidsbrief 'Ethiek' van de Staatssecretaris van Volksgezondheid, Welzijn en Sport aan de Tweede Kamer stelde het toenmalige kabinet zich positief op tegenover het bevorderen van ratificatie. (Kamerstukken II, 2006/07, 30 800 XVI, nr. 183, p. 19).

5.3.2. Protocol inzake het kloneren van mensen

In 1998 besloot de Raad van Europa een protocol op te stellen dat een verbod zou moeten bevatten op het kloneren van mensen[231]. Aanleiding voor dit besluit was het succes, bereikt door Schotse wetenschappers, dat leidde tot het klonen van het schaap Dolly. Artikel 1 van het protocol verbiedt elke interventie om een mens te creëren die genetisch identiek is aan een andere mens, levend of dood.

In de toelichting bij het protocol staat dat het protocol niet bedoeld is om gevolgen te hebben voor het gebruik van kloneringtechnologie bij niet-reproductieve doeleinden. Hieronder kan het gebruik van SCNT-technieken in het onderzoek op menselijke ES vallen.

Er dient evenwel te worden opgemerkt dat het verbod op klonering van mensen beperkt wordt tot de nucleaire genen. Het mtDNA valt buiten de reikwijdte van het protocol.

[230] Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine, Oviedo, 4. IV. 1997.

[231] Additional Protocol to the Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine, on the Prohibition of Cloning Human Beings, Paris, 12.I.1998

5.3.3.Bescherming van dieren

Het additionele protocol van Amsterdam Treaty geeft de wens van de EU lidstaten weer om de bescherming en respect voor het dier als '*sentient beings*' te waarborgen:

> " the Community and the Member States shall pay full regard to the welfare requirements of animals, while respecting the legislative or administrative provisions and customs of the Member States relating in particular to religious rites, cultural traditions and regional heritage."

Het welzijn van het dier is beschermd door de verschillende *European Conventions on the Protection of Animals* en door richtlijnen binnen de Europese regelgeving. In het bijzonder Richtlijn 98/58/EG pleit voor de bescherming van dieren in het kader van farming doeleinden, en verbiedt elke vorm van veebouw of andere handelwijzen die leed veroorzaken of kunnen veroorzaken.[232]

Andere relevante richtlijnen zijn:

- Richtlijn 1999/74/EC die het minimum welfare criterium definieert en maatregelen voorschrijft om dieren te laten groeien in een natuurlijke omgeving.
- Richtlijn 89/556/EEC van 25 September 1989 die de "animal health conditions" binnen de EU landen omschrijft.
- Richtlijn 88/407/EEC van 14 Juni 1988 over de gezondheidseisen in het kader van dierenhandel binnen de Europese staten die het importeren van rundsperma en rundembryo's binnen en buiten de Europese landen reguleert.

De twee laatstgenoemde richtlijnen laten de regulatie van het handel met rundembryo's gecreëerd door middel van SCNT over aan de nationale wetgeving van elk land.

- Richtlijn 86/609/EEC over gebruik van dieren voor onderzoek en andere wetenschappelijke doeleinden biedt het juridische kader voor

[232] http://ec.europa.eu/food/animal/welfare/references/farmspc/jour323_en.pdf.

het experimenteren met dieren. Artikel 2 van de richtlijn verbiedt elk onderzoek op dieren dat pijn, stress en blijvende schade aan het dier toebrengt. Het tot stand brengen van dieren in het laboratorium is hier inbegrepen.

"Article 2 (d) 'experiment' means any use of an animal for experimental or other scientific purposes which may cause it pain, suffering, distress or lasting harm, including any course of action intended, or liable, to result in the birth of an animal in any such condition"

5.3.4. Rechtsbescherming van biotechnologische uitvindingen; Europees Octrooi Verdrag

De octrooiregeling voor biotechnologische uitvindingen is geharmoniseerd voor de EU-landen en die is eveneens geïmplementeerd in het Uitvoeringsreglement bij het Europees Octrooiverdrag (EOV), waarbij ook een groot aantal niet EU-landen partij is.

Het EOV bepaalt dat octrooi wordt verleend voor uitvindingen die aan de volgende vereisten voldoen: nieuwheid, inventiviteit en industriële toepasbaarheid (art. 52 EOV). Biotechnologische uitvindingen zijn in beginsel octrooieerbaar. In artikel 26 tot en met 34 van het Uitvoeringsreglement bij het genoemde verdrag zijn bepalingen opgenomen die betrekking hebben op octrooiaanvragen en octrooien met betrekking tot biotechnologische uitvindingen. Dat zijn uitvindingen die betrekking hebben op een product bestaande uit biologisch materiaal of biologisch materiaal bevatten of een werkwijze waarmee biologisch materiaal wordt geproduceerd, verwerkt of gebruikt.
Uitzonderingen op de algemene regel dat uitvindingen octrooieerbaar zijn die voldoen aan de genoemd vereisten zijn o.a. uitvindingen waarvan de openbaarmaking of toepassing strijdig zou zijn met de openbare orde of goede zeden (art 53, aanhef en sub a, EOV), met dien verstande dat niet als strijdig in deze zin zal worden beschouwd het enkele feit dat de toepassing

van de uitvinding in bepaalde of alle Verdragsluitende staten door een wettelijke of reglementaire bepaling is verboden.
De volgende biotechnologische uitvindingen worden expliciet als niet octrooieerbaar beschouwd (artikel 28 Uitvoeringsreglement EOV):

- Werkwijzen voor het kloneren van mensen;
- Werkwijzen voor het veranderen van de genetische identiteit van menselijke kiemcellen;
- Gebruik van menselijke embryo's voor industriële of commerciële doeleinden;
- Werkwijzen voor het wijzigen van de genetische identiteit van dieren, die onnodig lijden toebrengen aan deze dieren zonder aanzienlijk medisch nut voor mens of dier, alsmede de dieren die uit dergelijke werkwijzen zijn verkregen.

Deze uitzonderingen zijn voortgevloeid uit de Europese richtlijn 98/44/EG van 6 juli 1998 betreffende de rechtsbescherming van biotechnologische uitvindingen, die is geïmplementeerd in het Uitvoeringsreglement bij het Europees Octrooi Verdrag. Voor werkwijzen voor het kloneren van dieren kan wel een octrooi worden verleend als de techniek concrete en aanzienlijke medische voordelen voor mens of dier heeft.

Bij het kloneren van mensen ontstaat de vraag of therapeutisch kloneren ook onder het verbod op octrooieerbaarheid valt. Met het kloneren van menselijke organismen wordt bedoeld: "elke werkwijze, met inbegrip van technieken voor de splitsing van embryo's, die ten doel heeft een mens voort te brengen die in de celkernen dezelfde genetische informatie bezit als een ander levend of overleden wezen" (Richtlijn 98/44/EG, overweging 41). Het gaat dus bij deze definitie van kloneren om elke werkwijze gericht op het creëren van genetisch identieke menselijke individuen.

Het menselijke lichaam in de verschillende stadia van zijn ontwikkeling of de ontdekking van één van zijn delen is niet octrooieerbaar (art. 29, eerste lid

Uitvoeringsreglement EOV), want het gaat dan immers om ontdekkingen die in het algemeen al niet octrooieerbaar zijn. Dat geldt ook voor delen van het menselijke lichaam, zoals DNA-sequenties als zodanig. Uitvindingen met betrekking tot geïsoleerde bestanddelen van het menselijk lichaam, zoals gensequenties zijn wel octrooieerbaar (artikel 29, tweede lid Uitvoeringsreglement EOV). Overweging daarbij is dat de biologische bestanddelen bijvoorbeeld worden verkregen als resultaat van een technische werkwijze welke slechts door de mens kan worden uitgevoerd en welke de natuur niet zelf kan volbrengen (Richtlijn 98/44/EG, overweging 21). Artikel 6 eerste lid van deze richtlijn bepaalt verder " Uitvindingen waarvan de commerciële exploitatie strijdig zou zijn met de openbare orde of met de goede zeden, worden van octrooieerbaarheid uitgesloten, waarbij de toepassing niet als strijdig hiermee mag worden beschouwd op grond van het loutere feit dat deze bij een wettelijke of bestuursrechtelijke bepaling wordt verboden."

Richtlijn 98/44/EG is sinds juli 2006 in alle landen van de Europese Unie geïmplementeerd, waaronder ook in Nederland (op 22 november 2004).

In oktober 2008 heeft de Minister van Economische zaken een notitie gezonden aan de Tweede Kamer met een verduidelijking van de ethische aspecten die een rol spelen in het octrooirecht voor biotechnologische uitvindingen[233]. Deze notitie gaat vooral over de wijze waarop in de ethische beleidsruimte is voorzien sinds de communautair op gang gebrachte harmonisatie van octrooirecht voor biotechnologische uitvindingen.
Deze notitie geeft echter geen uitsluitsel over het patenteerbaar zijn van cybriden.
Het Hof van Justitie van de EU heeft in de zaak C-34/10 onder meer bepaald wat in de zin van Richtlijn 98/44/EG onder een menselijk embryo moet worden verstaan. De vraag daarbij was of de uitsluiting van

[233] Ministerie van Economische Zaken. Notie *Dode letter of levende materie? Openbare orde en goede zeden in het octrooirecht voor biotechnologische uitvindingen.* Den Haag, oktober 2008. Kamerstukken II 2008/09, 27 428, nr. 126, met bijlage.

octrooieerbaarheid van een menselijk embryo alle stadia omvat vanaf bevruchting van een menselijke eicel of dat aan andere voorwaarden moet zijn voldaan, bijvoorbeeld dat een bepaald ontwikkelingsstadium bereikt zou moeten zijn.
Het Hof heeft daarbij onder andere aangegeven dat de context en de strekking van de richtlijn beogen elke mogelijkheid van octrooieerbaarheid uit te sluiten waar respect voor de menselijke waardigheid daardoor zou kunnen worden aangetast. Volgens het Hof moet bij de toepassing van de richtlijn het begrip "menselijk embryo" ruim worden opgevat. In octrooirechtelijke zin moet een menselijke eicel direct na bevruchting al beschouwd worden als een menselijk embryo. Een niet bevruchte eicel waarin een volwassen menselijke celkern is getransplanteerd en een niet bevruchte eicel waarvan deling en verdere ontwikkeling zijn gestimuleerd door parthenogenese moeten eveneens als menselijk embryo worden opgevat. Het Hof heeft ook bepaald dat een uitvinding van octrooieerbaarheid wordt uitgesloten als sprake is van voorafgaande vernietiging van een menselijk embryo of als een menselijk embryo wordt gebruikt als uitgangsmateriaal voor een dergelijke uitvinding, zelfs als de conclusies (claims) van de octrooiaanvraag niet verwijzen naar het proces van voorgaande vernietiging of gebruik van menselijke embryo's.

Het voorgaande zou kunnen impliceren dat het resultaat van SCNT met menselijke kern in een ontkernde dierlijke eicel (oftewel een cybride) niet a priori al zou moet worden beschouwd als menselijk embryo in de zin van de Richtlijn 98/44/EG. Of octrooiverlenende instanties en het Hof van Justitie van de EG daarover ook zo denken zal moeten worden afgewacht in concrete gevallen die zich voordoen.

6. Literatuur

Tertullianus.2012. **Apologeticus adversus gentes pro christianis**, c. IX (PL 1,371-372). CLC-Religion. Cambridge

1785

Kant I. 1965. ***Grundlegung zur Metaphysik der Sitten***. Hamburg: Felix Meiner Verlag. (oorspronkelijk uitgave: 1785)

1789

Bentham J. 1789. ***Introduction to the Principles of Morals and Legislation***. ECLA library.

1918

Rohleder HO. 1918. ***Künstliche Zeugung und Anthropogenie***, in Monographien über Zeugung beim Menschen, vol. 6. Leipzig: Georg Thieme.

1949

Leopold A. 1949. ***A Sand County Almanac***. New York: Oxford University Press.

1966

Douglas M. 1966. ***Purity and Danger. An Analysis of Concepts of Pollution and Taboo***. London: Routledge and Kegan Paul.

1970

Douglas M. 1970. ***Natural Symbols. Explorations in Cosmology***. London: Tavistock Publications.

1973

Stern MS. 1973. ***"Chimaeras obtained by aggregation of mouse eggs with rat eggs"***. *Nature*; 243:472-473.

1975

Baruch B. 1975. ***Abortion and the Sanctity of Human Life: A Philosophical View***. Cambridge, MA: M.I.T. Press.

1980

Rossant J, Frels WI. 1980. ***"Interspecific chimeras in mammals: successful live chimeras between mus musculus and mus caroli".*** *Science;* 208:419-421.

1981

Costantini F, Lacy E. 1981. ***"Introduction of a Rabbit -Globin Gene into the Mouse Germ Line".*** *Nature;* 294:92-94.

Harbers K, Jähner D, Jaenisch R. 1981. ***"Microinjection of Cloned Retroviral Genomes into Mouse Zygotes: Integration and Expression in the Animal"***. *Nature;* 293: 540-542.

Wagner TE, et al. 1981. ***"Microinjection of a Rabbit Beta-Globin Gene into Zygotes and Its Subsequent Expression in Adult Mice and Their Offspring"***. *Proceedings National Academy of Sciences USA*; 78,6376-6380.

Wagner EF, Stewart TA, Mintz B. 1981. ***"The Human Beta-Globin Gene and a Functional Viral Thymidine Kinase Gene in Developing Mice".*** *Proceedings National Academy Science USA*; 78, 5016-5020.

1982

Krimsky S. 1982. ***Genetic alchemy: The social history of the recombinant DNA controversy.*** Cambridge: MIT Press.

Palmiter RD, et al. 1982. ***"Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes".*** *Nature;* 300:611-615.

1983

Engelhardt H. 1983. ***"Viability and the use of the fetus."*** In: *"Abortion and the status of the fetus."* Ed. Bondeson WB, Engelhardt H. Dordrecht D. Reidel, (Phil Med; 13:184-191).

Regan T. 1983. ***The Case for Animal Rights.*** London: Routledge & Kegan Paul.

1984

Fehilly CB, et al. 1984. ***"Interspecific chimerism between sheep and goat."*** *Nature;* 307: 634-636.

Warnock M. 1984. ***"Report of the committee of inquiry into human fertilisation and embryology."*** London: Department of Health & Social security.

1985

Singer P. 1985. ***In Defence of Animals***. NewYork: Blackwell.

Tauer CA. 1985. "Personhood and Human Embryo and Fetuses." *Journal of Medicine and Philosophy*; 10:253-266.

1986

Camous S, Kopecny V, Flechon JE. 1986. ***"Autoradiographic detection of the earliest stage of [3H]-uridine incorporation into the cow embryo".*** *Biology of the Cell*; 58(3):195–200.

Norton B. 1986. ***Why preserve natural Variety?*** Princeton: Princeton University Press.

Taylor P. 1986. ***Respect for nature. A theory of environmental ethics***. Princeton: Princeton University Press.

Zuckerman SH, et al. 1986. ***"Mitochondrial Protein Synthesis in Interspecific Somatic Cell Hybrids."*** *Somatic Cellular Molecular Genetics*; 12:449–458.

1987

Suzuki D. Knudson P. 1987. ***Genethics, the ethics of engineering life.*** Toronto: Stoddart Publishing Co.

De Wert GM. 1987. ***"In vitro fertilisatie en experimenten met menselijke embryo's. Ethisch-filosofische beschouwingen."*** *Algemeen Nederlands Tijdschrift voor Wijsbegeerte*; 79:210-225.

1988

Braude P, Bolton V, Moore S. 1988. ***"Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development."*** *Nature*; 332:459–461.

Corbey RHA. 1988. ***De mens een dier? Scheler, Plessner en de crisis van het traditionele mensbeeld.*** Nijmegen: KUN.

Rong R, et al. 1988. ***"A fertile mule and hinny in China"***. *Cytogenetics and Cell Genetics*; 47:134-139.

1989

Koulischer L, Debry JM. 1989. ***"The hamster test. Practical consequences".*** *Acta Urologica Belgica*; 57(1):77-81.

Næss A. 1989. ***Ecology, Community and Lifestyle: Outline of an Ecosophy***. New York: CUP.

1990

Idel M. 1990. ***Golem: Jewish magical and mystical traditions on the artificial anthropoid.*** New York: SUNY.

Williams TJ, et al. 1990. ***"Production of inter-species chimeric calves by aggragation of Bos indicus and Bos Taurus demi-embryos."*** *Reproduction, Fertility and Development*. 2: 85-394.

1991

Jacobs FCLM. 1991. ***"Medisch zinloos handelen en zinloos medisch handelen"***. In: Berghmans RLP, De Wert, GMWR, Meer C van der. De dood in beheer. Baarn: Ambo: 59-81, 77.

1993

Den Hartogh GA. 1993. ***Kun je een zygote lief hebben? Over de waarde van het leven en de grenzen van de morele gemeenschap.*** *Inaugurele rede Universiteit van Amsterdam*. Utrecht: Stichting Socrates.

1994

Singer P, Kuhse H. 1994. ***"Ethics and the limits of tolerance".*** *Journal of Medicine and Philosophy*; 19:129–145.

De Boer IJM. 1994. ***"Toepassing van klonen in de melkveefokkerij. Ethische aspecten".*** In: *Ethiek uit het veld, Wageningen*: Koninklijk Genootschap voor Landbouwwetenschap, pp. 50-51.

1995

Singer P. ***Animal Liberation, 2nd edit.,*** 1995. London: Pimplico.

Sherwin BL. 1995. ***"The Golem, Zevi Ashkenazi, and reproductive biology".*** *Judaism;* 44(3):314-322.

1996

Engelhardt H. 1996. ***The Foundations of Bioethics. 2nd Edition.*** New York: Oxford University Press.

1997

Brom FWA. 1997. ***Onherstelbaar Verbeterd: Biotechnologie bij dieren als moreel probleem***. Assen: Van Gorcum & Comp. B.V.

Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine, Oviedo, 4. IV; 1997. http://ec.europa.eu/food/animal/welfare/references/farmspc/jour323_en.pdf.

Eijk WJ. 1997. ***"Criteria voor de status van het menselijke embryo".*** In: Eijk WJ. Lekens JPM, Garret P. ***Het embryo: iets of iemand?*** Oegstgeest: Colomba.

Kass L. 1997. "***The wisdom of repugnance".*** *New Republic* 2:17-26.

Kenyon L, Moraes CT. 1997. ***"Expanding the functional human mitochondrial DNA database by the establishment of primate xenomitochondrial cybrids".*** *Proceedings National Academy Sciences USA*; 94:9131-9135.

Reichlin M. 1997. ***"The Argument from Potential: A Reappraisal"***. *Bioethics*; 11:1-23.

Wilmut I, et al. 1997. ***"Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells".*** *Nature*; 385:810-813.

1998

Additional Protocol to the Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine, on the Prohibition of Cloning Human Beings, Paris, 12.I.1998 http://conventions.coe.int/Treaty/en/Treaties/html/168.htm

Barrientos A, Kenyon l, Moraes CT. 1998. ***"Human Xenomitochondrial Cybrids. Cellular models of mitochondrial complex I deficiency".*** *Journal of Biological Chemistry*; 273:14210–14217.

Cibelli JB, et al. 1998. ***"Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts".*** *Science*: 280:1256–1258.

Kass LR, Wilson JQ. 1998. ***The Ethics of Human Cloning***. Washington DC: AEI Press.

Rollin B. 1998. ***The Unheeded Cry. Animal Consciousness Animal Pain and Science***. Oxford: Oxford University Press.

Thomson J, et al. 1998. ***"Embryonic stem cells derived from human blastocyst"***. *Science*; 282:1145-1147.

Wakayama T, et al. 1998. ***"Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei".*** *Nature*; 394:369–374.

1999

Baguisi A, et al. 1999. ***"Production of goats by somatic cell nuclear transfer".*** *Nature Biotechnology*; 17:456–461.

Bjornson CRR, et al. 1999. ***"Turning Brain into Blood: a Hematopoietic Fate Adopted by Adult Neural Stem Cells in vivo".*** *Science;* 283: 534-536.

Dominko T, et al. 1999. ***"Bovine Oocyte Cytoplasm Supports Development of Embryos Produced by Nuclear Transfer of Somatic Cell Nuclei from Various Mammalian Species".*** *Biology of Reproduction*; 60:1496–1502.

Lemischka I. 1999. ***"Searching for Stem Cell Regulatory Molecules: Some General Thoughts and Possible Approaches".*** *Annals of the New York Academy of Sciences*; 872:274-288.

Moraes C, Kenyon L, Hao H. 1999. ***"Mechanisms of Human Mitochondrial DNA Maintenance: The Determining Role of Primary Sequence and Length over Function".*** *Molecular Biology of the Cell*; 10: 345–3356.

Ourednik V, et al. 1999. ***"Neural stem cells - a versatile tool for cell replacement and gene therapy in the central nervous system".*** *Clinical Genetics*; 56(4):267-278.

Stafleu FR, Grommers F, Vorstenbosch JMG. 1999. ***"Animal welfare : A hierarchy of concepts".*** *Proceedings of the European Society for Agricultural and Food Ethics*: preprints, Wageningen.

2000

Barrientos A, et al. 2000. ***"Cytochrome c Oxidase Assembly in Primates Is Sensitive to Small Evolutionary Variations in Amino Acid Sequence".*** *Molecular Biology and Evolution*; 17:1508–1519.

Clarke DL, et al. 2000. ***"Generalized potential of adult neural stem cells".*** *Science*; 288:1660-1663

Inoue K, et al. 2000. ***"Generation of mice with mitochondrial dysfunction by introducing mouse mtDNA carrying a deletion into zygotes"***. *Nature Genetics*; 26:176-181.

Karpowicz P, Cohen CB, van der Kooy D. 2000. ***"It is ethical to transplant human stem cells into nonhuman embryos".*** *Nature Medicine*; 10(4):331-335.

Knutsen AP, Wall DA. 2000. ***"Umbilical cord blood transplantation in severe T-cell immunodeficiency disorders: two-year experience".*** *Journal of Clinical Immunology*; 20(6):466-476.

Lanza RP, et al. 2000. ***"Cloning of an Endangered Species (Bos gaurus) Using Interspecies Nuclear Transfer".*** *Cloning*; 2:79–90.

Letshwenyo M, Kedikilwe K. 2000 ***"Goat-sheep hybrid born under natural conditions in Botswana".*** *Veterinary Record;* 146: 732-734.

McKenzie M, Trounce I. 2000. ***"Expression of Rattus norvegicus mtDNA in Mus musculus Cells Results in Multiple Respiratory Chain Defects".*** *Journal of Biological Chemistry*; 275:31514–31519.

Polejaeva IA, et al. 2000. ***"Cloned pigs produced by nuclear transfer form adult somatic cells".*** *Nature;* 407:86–90.

Vrana PB, et al. 2000. ***"Genetic and epigenetic incompatibilities underlie hybrid dysgenesis in Peromyscus".*** *Nature Genetics*; 25:120–124.

2001

Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. 2001. ***"Can stem cells cross lineage boundaries?"*** *Nature Medicine;* 7:393-395.

Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. 2001. ***"The Evolving Concept of a Stem Cell. Entity or Function?"*** *Cell*; 105:829-841.

Burke JM, Arnold ML. 2001. ***"Genetics and the fitness of hybrids".*** *Annual Review of Genetics*. 35:31-52.

Donovan PJ, Gearhart J. 2001***."The end of the beginning for pluripotent stem cells".*** *Nature*; 414:92-97.

Jaenisch R, Wilmut I. 2001. ***"Developmental Biology. Don't Clone Humans!"*** *Science*; 291:2552.

Keefer CL, et al. 2001. ***"Generation of dwarf goat (Capra hircus) clones following nuclear transfer with transfected and nontransfected fetal fibroblasts and in vitro–matured oocytes".*** *Biology of Reproduction*; 64:849–856.

Kitiyanant Y, et al. 2001. ***"Somatic cell cloning in Buffalo (Bubalus bubalis): effects of interspecies cytoplasmic recipients and activation procedures".*** *Cloning Stem Cells*; 3: 97–104.

Ma J, et al. 2001. ***"Regulation of zygotic gene activation in the preimplantation mouse embryo: global activation and repression of gene expression".*** *Biology of Reproduction*; 64 1713–1721.

Tada M, et al. 2001. ***"Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells".*** *Current Biology*; 11(19):1553-1558.

De Wert GM. 2001. ***"Humane embryonale stamcellen als Heilige Graal. Een ethische reflectie".*** *Filosofie en Praktijk*; 22(3):34-56.

Wakayama T, Yanagimachi R. 2001. ***"Mouse cloning with nucleus donor cells of different age and type".*** *Molecular Reproduction and Development*; 58:376–383.

Zuk PA, et al. 2001***. "Mutilineage cells derived from human adipose tissue: a putative source of stem cells for tissue engineering".*** *Tissue Engineering*; 7(2):211–216.

2002

Dinnyés A,et al. 2002. ***"Somatic Cell Nuclear Transfer: Recent Progress and Challenge".*** *Cloning Stem cells*; 4:81-90.

Ford NM. 2002. ***The prenatal person: ethics from conception to birth***. Oxford: Blackwell Publishing

Gezondheidsraad. 2002. (Health Council of the Netherlands) ***Advies 'stamcellen voor weefselherstel'*** 27 juni.

Griffiths DJ, et al. 2002. ***"Novel endogenousretrovirus in rabbits previously reported as human retrovirus"***. *Journal of Virology*; 76:7094-7102.

Jiang Y, et al. 2002. ***"Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow".*** *Nature*; 418:41-49.

Pacheco-Trigon S, et al. 2002***. "Molecular characterization of genomic activities at the onset of zygotic transcription in mammals."*** *Biology of Reproduction*; 67:1907–1918.

Rossiianov K. 2002 ***"Beyond species: Il'ya Ivanov and his experiments on cross-breeding humans and anthropoid apes."*** *Science in Context*. 15:277-316.

Shin T, et al. 2002. ***"A cat cloned by nuclear transplantation."*** *Nature*; 415:859–860.

Steinborn R, et al. 2002. ***"Coexistence of Bos taurus and B. indicus mitochondrial DNA in nuclear transfer-derived somatic cattle clones".*** *Genetics*; 162:823–829.

Trounson A. 2002. ***"The genesis of embryonic stem cells. Does parthenogenesis offer a more promising means of developing immune-matched ED cells?"*** *Nature Biotechnology*; 20(3):237-238.

Wet, houdende regels inzake handelingen met geslachtscellen en embryo's (Embryowet). *Staatsblad.* 2002:338.

De Witt N. 2002. ***"Scientists divided over proposal to create human-mouse embryos".*** *Nature*; 420:255.

2003

Avilion AA, et al. 2003. ***"Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function".*** *Genes & Development*; 17:126–140.

Castle D. 2003. ***"Hopes against hopeful monsters".*** *American Journal of Bioethics*; 3(3):28-30.
Chang KH, et al. 2003. ***"Blastocyste formation, karyotype, and mitochondrial DNA of interspecies embryos derived from nuclear transfer of human cord fibroblasts into enucleated bovine oocytes".*** *Fertility and Sterility*; 80:1380-1387.

Franklin S. 2003. ***"Drawing the line at not-fully-human: what we already know".*** *American Journal of Bioethics*; 3(3):W25-W27.

Johnston J. 2003. ***"Chimeras and human dignity".*** *American Journal of Bioethics*; 3 (3):6-8.

McKenzie M, et al. 2003. ***"Functional Respiratory Chain Analyses in Murid Xenomitochondrial Cybrids Expose Coevolutionary Constraints of Cytochrome b and Nuclear Subunits of Complex III".*** *Molecular Biology and Evolution*; 20:1117–1124.

Resnik DB. 2003. ***"Patents on human-animal chimeras and threats to human dignity".*** American Journal of Bioethics; 3(3):35-36.

Rhind S, et al. 2003. ***"Human cloning: can it be made safe?"*** *Nature Reviews Genetics*; 4:855–864.

Robert JS, Baylis F. 2003. ***"Crossing species boundaries".*** *American Journal of Bioethics*; 3(3):1-13.

Savulescu J. 2003. "***Human-animal transgenesis and chimeras might be an expression of our humanity".*** *American Journal of Bioethics*; 3(3):22.

Siegel AW. 2003. ***"The moral insignificance of crossing species boundaries".*** *American Journal of Bioethics*; 3(3):33-34.

Streiffer R. 2003. "***In defence of the moral relevance of species boundaries".*** *American Journal of Bioethics*, 3(3):37-38.

Solter D. 2003. ***"New paths to human ES cells?"*** *Nature Biotechnology*; 21(10):1154-1155.

Takeda K, et al. 2003. ***"Proliferation of donor mitochondrial DNA in nuclear transfer calves (Bos taurus) derived from cumulus cells".*** *Molecular Reproduction and Development*; 64: 429–437.

De Wert G, Mummery C. 2003. ***"Human embryonic stem cells: research, ethics and policy".*** *Human Reproduction*; 18(4):672-682.

Zwanziger LL. 2003. ***"Crossing Perspectival Chasms about Species".*** *American Journal of Bioethics*, 3(3):9-10.

2004

Amit M, et al. 2004. ***"Feeder Layer- and Serum-Free Culture of Human Embryonic Stem Cells".*** *Biology of Reproduction*; 70:837–845.

Beaujean N, et al. 2004a. "***Non-conservation of mammalian preimplantation methylation dynamics".*** *Current Biology*; 14:R266–267.

Beaujean N, et al. 2004b. ***"The effect of interspecific oocytes on demethylation of sperm DNA".*** *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A*; 101:7636–7640.

Chang KH, et al. 2004. ***"An optimized protocol of a human-to-cattle interspecies somatic cell nuclear transfer".*** *Fertility & Sterility*; 82(4):960-962.

Do JT, Scholer HR. 2004. "***Nuclei of embryonic stem cells reprogram somatic cells".*** *Stem Cells*; 22(6):941-949.

Ethikrat. ***Klonen zu Fortpflanzungszwecken und Klonen zu biomedizinischen Forschungszwecken***. ***Stellungnahme***. Berlin: Nationaler Ethikrat, 2004.

Hwang WS. et al. 2004. ***"Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst".*** *Science;* 303:1669-1674 (teruggetrokken)

Ikumi S,et al. 2004. ***"Interspecies somatic cell nuclear transfer for in vitro production of Antarctic minke whale (Balaenoptera bonaerensis) embryos".*** *Cloning Stem Cells*; 6: 284–293.

Jaenisch R .2004. ***"Human cloning, the science and ethics of nuclear transplantation".*** *New England Journal of Medicine*; 351(27) 2787-2791.

Jaenisch R. 2004. ***"The biology of nuclear cloning and the potential of embryonic stem cells for transplantation therapy".***

The President's Council on Bioethics. Internet: http://www.bioethics.gov/reports/stemcell/appendix_n.html (*geraadpleegd 18-01-05)*

Jochemsen H, et al. ***Human stem cells. Source of hope and of controversy. A study of human stem cell research and the patenting of related inventions***. Ede, Jerusalem: Lindeboom Institute and Business Ethics Center of Jerusalem, 2004.

Kim TM, et al. 2004. ***"An interclass nuclear transfer between fowl and mammal: in vitro development of chicken-to-cattle interclass embryos and the detection of chicken genetic complements".*** *Fertility & Sterility*; 82:957–959.

Levick SE. 2004. ***"Ethics of embryonic stem cells."*** *New England Journal of Medicine*; 351(16):1687-1690.

Polkinghorne JC. 2004. ***"The person, the soul, and genetic engineering".*** *Journal of Medical Ethics*; 30:593–597.

President's Council on Bioethics (PCB). 2004. ***Reproduction and Responsibility: The Regulation of New Biotechnologies***. Washington, D.C.

Sandel MJ. 2004. ***"Embryo ethics – the moral logic of stem cell research".*** *New England Journal of Medicine*; 351(3): 207-209.

Seyfer T. 2004. "***The ethics of chimeras and hybrids: dignity and original solitude".*** *Journal of Medical Ethics*; 29(8):1-4.

Simerly C, et al. 2004. ***"Embryogenesis and blastocyst development after somatic cell nuclear transfer in nonhuman primates: overcoming defects caused by meiotic spindle extraction".*** *Developmental Biology*; 276:237–252.

Pennings G, Van Steirteghem A. 2004. ***"The subsidiarity principle in the context of embryonic stem cell research".*** *Human Reproduction*; 19(5):1060-1064.

Testa G, Harris J. 2004. ***"Genetics. Ethical aspects of ES cell-derived gametes".*** *Science*; 2, 305(5691):1719.

De Wert GM. 2004. ***"Stamcellen, ethiek en politiek".*** *Mediator*; 15(6):6-8.

Wilmut I. 2004. ***"The moral imperative for human cloning".*** *New Scientist*; 181 (2435):16–17.

Zechner U, et al. 2004. ***"Divergent genetic and epigenetic postzygotic isolation mechanisms".*** In: Mus and Peromyscus". *Journal of Evolutionary Biology*; 17:453–460.

2005

Boiani M, et al. 2005. ***"Variable Reprogramming of the Pluripotent Stem Cell Marker Oct4 in Mouse Clones: Distinct Developmental Potentials in Different Culture Environments".*** *Stem Cells*; 23:1089–1104.

Capecchi MR. 2005. ***"Gene targeting in mice: functional analysis of the mammalian genome for the twenty-first century".*** *Nature Review Genetics*; 6:507-512.

Hurlbut W. 2005. *"Altered Nuclear Transfer as a Morally Acceptable Means for the Procurement of Human Embryonic Stem Cells". National Catholic Bioethics Quarterly* 5(1):145-151.

Hwang WS. et al. 2005. ***"Patient specific embryonic stem cells derived from human SNCT blastocysts".*** *Science*; 308:1777-1783 (teruggetrokken)

Jingjuan, J., et al. 2005. "***Experimental cloning of embryos through human–rabbit interspecies nuclear transfer".*** *Zoological Research*; 26:416–421.

Karpowicz P, et al. 2005. ***"Developing human-nonhuman chimeras in human stem cell research: ethical issues and boundaries".*** *Kennedy Institute Ethics Journal*; 15(2): 107-134.

Mandavilli A. 2005. ***"Scientists seek simple remedies to cloning conundrums".*** *Nature Medicine*; 11(5):459.

Murakami M, et al. 2005. **"Development of Interspecies Cloned Embryos in Yak and Dog".** *Cloning Stem Cells*; 7:77–81.

Murray TH. 2005. ***"Will new ways of creating stem cells dodge the objections?"*** *Hastings Center Report*; 35(1):8-9.

O'Doherty A, et al. 2005. "***An aneuploid mouse strain carrying human chromosome 21 with Down Syndrome phenotypes".*** *Science;* 309:2033-2037.

Smith LC, Thundathil J, Filion F. 2005. ***"Role of the mitochondrial genome in preimplantation development and assisted reproductive technologies"***. *Reproduction, Fertility and Development*; 17: 15–22.

2006

Aranguren XL, et al. 2006. ***"In vitro and in vivo arterial differentiation of human multipotent adult progenitor cells".*** *Blood;* 109(6):2634-2642.

Bobber M. 2006. ***"Ethical questions concerning research on human embryos, embryonic stem cells and chimeras".*** *Biotechnology Journal*; 1:1352-1369.

Byrne JA, et al. 2007. "***Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer".*** *Nature*; 450:497-502.

Chen FH, Rousche KT, Tuan RS. 2006. ***"Technology Insight: adult stem cells in cartilage regeneration and tissue engineering".*** *Nature Clinical Practice Rheumatology*; 2(7): 373-382. Review.

Chen T, et al. 2006. ***"Interspecies Nuclear Transfer Reveals that Demethylation of Specific Repetitive Sequences Is Determined by Recipient Ooplasm but Not by Donor Intrinsic Property in Cloned Embryos".*** *Molecular Reproduction and Development*; 73:313–317.

Dennis C. 2006. ***"Cloning: Mining the secrets of the egg".*** *Nature*; 439:652–655.

Li Y, et al. 2006. ***"Cloned endangered species takin (Budorcas taxicolor) by inter-species nuclear transfer and comparison of the blastocyst development with yak (Bos grunniens) and bovine".*** *Molecular Reproduction and Development*; 73:189–195.

Lloyd RE, Lee J-H, Alberio R. 2006. ***"Aberrant nucleo-cytoplasmic cross-talk results in donor cell mtDNA persistence in cloned embryos".*** *Genetics;* 172:2515–2527.

Mummery C, van de Stolpe A, Roelen B. 2006. ***"Stamcellen".*** *Natuurwetenschap en Techniek*. Diemen: Veen Magazines.

News Service. 2006. ***"Stem cell tensions increase".*** *New Scientist;* 2535:6.

Nishimura Y, et al. 2006. ***"Active digestion of sperm mitochondrial DNA in single living sperm revealed by optical tweezers".*** *Proceedings National Academy Sciences USA.* 31; 103(5):1382-1287.

Robert JS. 2006. ***"The science and ethics of making part-human animals in stem cell biology".*** *FASEB Journal*; 20(7):838-845.

Ross JJ, et al. 2006***. "Cytokine-induced differentiation of multipotent adult progenitor cells into functional smooth muscle cells"***. *Journal Clinical Investigation*; 116(12):3139-3149.

Salgado AJ, et al. 2006. ***"Adult stem cells in bone and cartilage tissue engineering".*** *Current Stem Cell Research and Therapy*; 1(3):345-364.

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

Tecirlioglu RT, Guo J, Trounson AO. 2006. ***"Inter-species somatic cell nuclear transfer (iSCNT) and preliminary data for horse-cow/mouse iSCNT".*** *Stem Cell Review*; 2:277–287.

Vogel, G. 2006. ***"Stem cells: ethical oocytes, available for a price".*** *Science*; 313:155.

Wils JP, et al. 2006. ***"Levensbeschouwing en biotechnologie Een analyse van normatieve argumenten".*** Rapport in opdracht van de Commissie Genetische Modificatie (COGEM). Schuttelaar & partners Den Haag. 2006.

Zeder MA, et al. 2006. ***"Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology".*** *Trends in Genetics*; 22:139-155.

Zeng L, et al. 2006. ***"Multipotent adult progenitor cells from swine bone marrow".*** *Stem Cells*; 24(11):2355-2366.

Zhao ZJ, et al. 2006***. "Rabbit Oocyte Cytoplasm Supports Development of Nuclear Transfer Embryos Derived from the Somatic Cells of the Camel and Tibetan Antelope".*** *Journal of Reproduction and Development;* 52:449–459.

2007

Beca JP. 2007. ***"Hybrid embryos as a source of embryonic stem cells".*** *Revista Medica de Chile*; 135(11):1367-1369.

Beyhan Z, et al. 2007. ***"Interspecies nuclear transfer; implications for embryonic stem cell biology",*** *Cell Stem Cell*; 1:502-512.

Bowles EJ, et al. 2007. ***"Contrasting effects of in vitro fertilization and nuclear transfer on the expression of mtDNA replication factors",*** *Genetics*; 176:1511–1526.

Bowles E, Campbell K, St. John J. 2007. ***"Nuclear transfer: Preservation of a nuclear genome at the expense of its associated mtDNA genome(s)".*** *Current Topics in Developmental Biology*; 77:251–290.

Cao L, et al. 2007. ***"The mitochondrial bottleneck occurs without reduction of mtDNA content in female mouse germ cells"***. *Nature Genetics*; 39: 386-390.

Eggan K. 2007. ***"Dolly's Legacy: Human Nuclear Transplantation and Better Medicines for Our Children",*** *Cloning Stem Cells*; 9:21–25.

Egli D, et al. 2007. ***"Developmental reprogramming after chromosome transfer into mitotic mouse zygotes".*** *Nature*; 447(7145):679-785.

Hall VJ, et al. 2007. ***"Developmental competence of human in vitro aged oocytes as host cells for nuclear transfer",*** *Human Reproduction*; 22:52-62.

Henderson M. 2007. ***"Cloning" can beat disease".*** *The [London] Times (5 January 2007)*, 6.

Loi P, et al. 2007. ***"Cloning of endangered mammalian species: any progress?"*** *Trends in Biotechnology*; 25:195-200.

Maherali N, et al. 2007. ***"Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodelling and widespread tissue contribution".*** *Stem Cell*; 1(1):55-70.

Okita K, et al. 2007. ***"Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells",*** *Nature*; 448:101-106.

Pelacho B, et al. 2007. ***"Multipotent adult progenitor cell transplantation increases vascularity and improves left ventricular function after myocardial infarction",*** *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*; 1(1):51-59.

Sanderson K. 2007. ***"Wolf Clones Confirmed***".*Nature News*; Retrieved 4/11/08 at: http://www.nature.com/news/2007/070430/full/news070430-4.html.

Serafini M, et al. 2007. ***"Hematopoietic reconstitution by multipotent adult progenitor cells: precursors to long-term hematopoietic stem cells".*** *Journal of Experimental Medicine*; 204(1):129-139.

St John J, Lovell-Badge R. 2007***. "Human–animal cytoplasmic hybrid embryos, mitochondria, and an energetic debate".*** *Nature Cell Biology*; 9(9):988-992.

Rose D. 2007. ***"Research is now my only hope of a cure".*** *The [London] Times* (5 January 2007), 7.

Yang F, et al. 2007. ***"Rabbit somatic cell cloning: effects of donor cell type, histone acetylation status and chimeric embryo complementation".*** *Reproduction*; 133(1):219-230.

Wernig M, et al. 2007. ***"In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state".*** *Nature*; 448: 318-324.

Wilmut I. 2007***. "Embryonic steps to cure inherited ills".*** *The Scotsman* (5 January 2007), 32.

viWTA dossier. 2007***." Stamceltechnologie, modegril of therapie voor de toekomst?"***

Zhao ZJ, et al. 2007. ***"Interspecies Nuclear Transfer of Tibetan Antelope Using Caprine Oocyte as Recipient".*** *Molecular Reproduction and Development*; 74:412–419.

2008

Baeyens L, Bouwens L. 2008***. "Can beta-cells be derived from exocrine pancreas?"*** *Diabetes Obesity and Metabolism*; 10 (Suppl 4):170-178.

Bahadur G, et al. 2008***. "Admixed human embryos and stem cells: Legislative, ethical and scientific advances".*** *Reproductive Biomedicine Online*; 17:25-32.

Bosze Z,et al. 2008. **"Producing Recombinant Human Milk Proteins in the Milk of Livestock Species."** *Advances in Experimental Medicine and Biology*; 606:357-395.

Catechismus van de Katholieke kerk. 2008. n. 340-341. Kampen: Uitgeverij Kok.

Hua S, et al. 2008. "***Development of bovine-ovine interspecies cloned embryos and mitochondria segregation in blastomeres during preimplantation"***. *Animal Reproduction Science*; 105(3-4):245-257.

Jang G, et al. 2008. ***"A cloned toy poodle produced from somatic cells derived from an aged female dog"***. *Theriogenology*; 69(5):556-563.

Lee ST, et al. 2008***. "Establishment of autologous embryonic stem cells derived from preantral follicle culture and oocyte parthenogenesis".*** *Fertility & Sterility*; 90(5):1910-1920.

Scott CT, Reijo Pera RA. 2008. ***"The road to pluripotence: the research response to the embryonic stem cell debate Human Molecular Genetics".*** *Human Molecular Genetics*; 15;17(R1):R3-9.

Tonti GA, Mannello F. 2008. ***"From bone marrow to therapeutic applications: different behaviour and genetic/epigenetic stability during mesenchymal stem cell expansion in autologous and foetal bovine sera?"*** *International Journal Developmental Biology*; 52(8):1023-1032.

Verfaillie C. 2008***. "The undoing of differentiation by four defined factors: A big step forward towards generating patient specific pluripotent stem cells".*** *Journal of Hepatology*; 49(5):876-878.

Zhang L, et al. 2008. ***"The stem cell niche of human livers: symmetry between development and regeneration".*** *Hepatology*; 48(5):1598-1607.

Zhou Q, et al. 2008***. "In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to B-cells".*** *Nature;* 455:627-663.

2009

Chung Y, et al. 2009. ***"Reprogramming of Human Somatic Cells Using Human and Animal Oocytes".*** *Cloning Stem Cells;* 11:213–223.

Egli D, et al. 2009. ***Reprogramming after chromosome transfer into mouse blastomeres***. *Current Biology*;19:1403–1409.

Hayden EC, Baker M. 2009. ***"Virus-free pluripotency for human cells".*** *Nature*; 19:458.

Lee HJ, Teixeria J. 2009***. "Parthenogenesis in human oocytes that were collected from resected ovariam tissue and amtured in vitro".*** *Stem Cells and Development*; 18(6):941-946.

Yesilipek MA, et al. 2009***. "Unrelated cord blood transplantation in children with severe congenital neutropenia".*** *Pediatric Transplantation*; 13(6):777-781.

2010

Kelly RD, St John JC. 2010. **"Role of mitochondrial DNA replication during differentiation of reprogrammed stem cells."** *International Journal of Developmental Biology*; 54(11-12): 1659-1670. Review

Okita K, *et al*.2010. **"Generation of mouse-induced pluripotent stem cells with plasmid vectors."** *Nature Protocols*; 5(3):418-428.

2011

Gregg K, *et al*. 2011. **"Risk assessment of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) transmission via somatic cell nuclear transfer (SCNT) embryo production using oocytes from commercial abattoirs"**. *Animal Reproduction Science*; 125(1-4):148-157.

Jiang Y, *et al*. 2011. **"Interspecies somatic cell nuclear transfer is dependent on compatible mitochondrial DNA and reprogramming factors"**. *PLoS One*; 27, 6(4):e14805.

Kwon DK, *et al.* 2011. **"Blastocysts derived from adult fibroblasts of a rhesus monkey (Macaca mulatta) using interspecies somatic cell nuclear transfer".** *Zygote*; 19(3):199-204.

Loi P, *et al.* 2011. **"Interspecies somatic cell nuclear transfer: a salvage tool seeking first aid"**. Theriogenology;76(2):217-28. Review.

Riaz A, et al . 2011***. "Mouse cloning and somatic cell reprogramming using electrofused blastomeres".*** *Cell Research*; 21(5):770-778.

Srirattana K,*et al*. 2011. **"Constant transmission of mitochondrial DNA in
intergeneric cloned embryos reconstructed from swamp buffalo fibroblasts and bovine ooplasm".** *Animal Science Journal*; 82(2):236-243.

Wang K, et al. 2011. "**Reprogrammed transcriptome in rhesus-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos".** *PLoS One*;27, 6(7):e22197.

2012

Gourronc FA, Klingelhutz AJ.2012 "**Therapeutic opportunities: Telomere maintenance in inducible pluripotent stem cells**." *Mutation Research*; 730:98–105.

Hosseini SM,*et al*. 2012. **"Enucleated ovine oocyte supports human somatic cells reprogramming back to the embryonic stage"**. *Cellular Reprogramming*;14(2):155-163