

Samenvatting van de algemene milieurisicobeoordelingen behorend bij aanvragen voor een introductie in het milieu vergunning voor overige doeleinden voor medische of veterinaire toepassingen van naakt DNA

In de medische en veterinaire praktijk wordt in toenemende mate gebruik gemaakt van zogenaamd naakt DNA om bepaalde genen in cellen van een mens of dier te brengen. Het doel van de behandeling met naakte DNA moleculen is dat er een (of meerdere) genen in lichaamscellen van een patiënt of proefdier worden gebracht, die daar vervolgens tot expressie komen waarna de gevormde genproducten een directe therapeutische werking hebben. Naakt DNA kan ook worden toegepast als vaccin, tegen tumoren of tegen bepaalde infectie ziekten.

DNA dat wordt geïnjecteerd in het lichaam van mens of dier wordt direct door lichaamscellen opgenomen. Dit DNA wordt 'naakt' toegediend: het is niet omgeven door een virusmantel, zoals dat het geval is bij de medische en veterinaire toepassing van genetisch gemodificeerde virussen. Dit naakte DNA is geen genetisch gemodificeerd organisme (ggo). Maar als het naakte DNA is opgenomen in het erfelijk materiaal van een lichaamscel dan wordt die cel wel als een ggo beschouwd. Bij medische of veterinaire toepassingen van naakt DNA wordt er daarom van uitgegaan dat er ggo's ontstaan in het lichaam van de proefpersoon of van het proefdier. Dergelijke toepassingen zijn vergunningplichtig onder het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer, en de daarbij behorende regeling. De uitkomst van een zogenaamde milieurisicobeoordeling (hierna: MRB) is een van de grondslagen voor zo'n vergunning. Bij nadere beschouwing van de MRB van naakt DNA blijkt dat de beoordeling in een groot aantal gevallen kan worden gedaan zonder rekening te houden met de exacte samenstelling van het DNA. Hieronder gaan wij daar verder op in.

Bij de MRB van medische en veterinaire toepassingen van naakt DNA gaat het, net als bij de MRB van bijvoorbeeld virale therapieën en vaccins, om het vaststellen en beoordelen van risico's voor veiligheid van mens en milieu, anders dan de proefpersoon¹. De gevolgen die de proefpersoon ondervindt van de behandeling zijn de verantwoordelijkheid van de behandelende arts, die daarbij gebonden is aan andere regelgeving op medisch of veterinair terrein. Risico's voor mens en milieu kunnen ontstaan wanneer er ggo's vrijkomen uit de proefpersoon en zich verspreiden in de omgeving van de patiënt.

Voor naakt DNA zou de meest voor de hand liggende verspreidingsweg er als volgt uitzien: het toegediende DNA of cellen die dat DNA dragen komen vrij uit de proefpersoon en worden vervolgens opgenomen in het lichaam van een mens of dier, waar het DNA een ggo kan vormen en waar de cellen als ggo verder blijven bestaan. Deze verspreidingsweg is komt in de praktijk niet voor.

De menselijke of dierlijke cellen die vrijkomen uit de proefpersoon hebben namelijk in het milieu geen enkele kans van overleven. Ook als zij als levende cellen opgenomen zouden worden door een mens of dier, bijvoorbeeld via de mond, is de overlevingskans verwaarloosbaar klein. Als het toegediende naakte DNA uit de proefpersoon als zodanig vrijkomt in het milieu, kan het niet terecht komen in het lichaam van mens of dier op een manier dat er een ggo kan ontstaan. Dat lukt alleen als het DNA gericht, bijvoorbeeld via injectie, in het lichaam wordt gebracht.

De conclusie is dat naakt DNA dat in een proefpersoon wordt ingebracht geen milieurisico vormt als het als zodanig vrij komt uit de proefpersoon, of als er cellen van de proefpersoon vrijkomen die het DNA bevatten. Deze conclusies zijn geldig, onafhankelijk van de samenstelling van het naakte DNA. De redenering berust immers op algemene eigenschappen van DNA en hoe DNA en menselijke of dierlijke cellen zich gedragen in het milieu.

In de redenering hierboven is een aantal speciale gevallen nog niet in beschouwing genomen. Deze worden hieronder behandeld, en leiden tot een verdere verfijning van de MRB.

De algemene MRB gaat op voor opname van naakt DNA in lichaamscellen. Wanneer het DNA opgenomen zou worden in cellen van de kiembaan dan kan er een genetische gemodificeerde kiembaancell (zaadcel, eicel) ontstaan, die na een bevruchting kan uitgroeien tot een genetisch gemodificeerde nakomeling. De algemene MRB is niet van toepassing op deze onbedoelde en ongecontroleerde manier van verspreiding van een ggo, en daarom wordt in de MRB gespecificeerd dat maatregelen moeten worden genomen om de verspreiding te voorkomen, door toediening van het DNA in de geslachtsklieren van de proefpersoon uit te sluiten.

¹ Waar verder wordt gesproken over de 'proefpersoon', wordt degene bedoeld die behandeld is met naakt DNA; het kan gaan om een mens of dier

Daarnaast moet er rekening worden gehouden met de mogelijkheid dat het naakte DNA een interactie aangaat met (het DNA van) andere organismen die zich in of op de proefpersoon bevinden.

Het DNA kan, met name tijdens de toediening, in contact komen met bacteriën die aanwezig zijn op de huid van de proefpersoon. Sommige bacteriën kunnen van nature naakt DNA uit hun omgeving opnemen. Verspreiding van het naakte DNA langs deze weg levert niet per definitie een milieurisico op, maar het risico is afhankelijk van de aard van de erfelijke informatie die op het naakte DNA aanwezig is. Deze algemene MRB is niet geschikt om die risico's te behandelen. Daarom wordt deze verspreidingsweg uitgesloten onder deze MRB. Daartoe worden bacteriën die zich op de toedieningsplaats bevinden, voor de toediening door desinfectie gedood.

Een bijzonder geval waarmee rekening moet worden gehouden in de MRB is de situatie waarin het naakte DNA een gen draagt dat codeert voor resistentie tegen een antibioticum. De kans dat het naakte DNA zich verspreidt naar bacteriën in het milieu is, zoals we hebben gezien, uiterst gering. Maar als het om antibioticum resistentiegenen gaat, dan kan het onwaarschijnlijke geval dat er een overdracht plaatsvindt toch leiden tot ongewenste effecten. Door het grote gebruik van antibiotica is de selectiedruk voor antibioticum resistente bacteriën in het milieu hoog. De algemene MRB beperkt zich daarom tot gevallen waarin het naakte DNA geen antibioticum resistentiegenen draagt. Er worden alleen genen toegestaan die coderen voor resistentie tegen de antibiotica kanamycine en neomycine, maar niet voor resistentie tegen de andere antibiotica. De overweging daarbij is dat het belang van kanamycine en neomycine in de medische en veterinaire praktijk sterk heeft ingeboet.

Een volgende mogelijkheid voor verspreiding van het naakt DNA in het milieu gaat via interactie met het genoom van een virus dat zich bevindt in de cel waarin het DNA terecht komt. Als er overeenkomst is tussen gedeelten van de sequentie van het naakte DNA en van het virusgenoom, kan er uitwisseling (recombinatie) plaatsvinden tussen het naakte DNA en het virusgenoom. Als het gerecombineerde DNA molecuul kan worden ingepakt in de mantel van het virus, kan er daarbij een infectieus virusdeeltje ontstaan. In tegenstelling tot het naakte DNA bestaat er een zeer kleine kans dat zo'n virusdeeltje vrijkomt uit de cel en wordt overgedragen naar een andere mens of een ander dier. Het nieuw gevormde virusdeeltje is dus een ggo, dat afhankelijk van de op het naakte DNA gecodeerde eigenschappen een milieurisico kan veroorzaken. Dit specifieke risico is niet afgedekt in de algemene MRB, en moet in een afzonderlijke MRB worden beoordeeld.

Het naakte DNA kan echter niet recombineren met een virusgenoom als ervoor wordt gezorgd dat het geen virale sequenties bevat. In de algemene MRB wordt daarom gesteld dat deze alleen geldig is voor het geval dat het naakte DNA geen virale sequenties draagt.

De potentiële gevolgen van een recombinatie tussen naakt DNA en een virusgenoom moeten in een specifiek voor zo'n geval opgezette MRB worden beoordeeld. Daaruit kan de conclusie komen dat de aanwezigheid van een bepaald stukje virus DNA geen verspreidingsrisico's oplevert, bijvoorbeeld doordat er redenen zijn om aan te nemen dat de veronderstelde recombinatie gebeurtenis niet op zal treden.

Voor een aantal virale DNA sequenties die vaak in naakt DNA worden toegepast is een dergelijke risicobeoordeling gemaakt. Deze DNA sequenties en de daarbij behorende MRBs zijn in de algemene MRB opgenomen.

U wordt verwezen naar de tekst van de MRB voor toepassingen van naakt DNA bij de mens en de MRB voor toepassingen van naakt DNA bij dieren voor de specifieke overwegingen, en voor de gevallen waarop deze overwegingen van toepassing zijn.

In principe kan er dus een algemeen geldige milieurisicobeoordeling worden opgesteld voor aanvragen voor een IM vergunning voor medische of veterinaire toepassingen van naakt DNA. Omdat er tot nog toe uitsluitend ervaring is opgedaan met de MRB van toediening van naakt DNA door tatoeage of door directe injectie in de huid of in dwarsgestreepte spieren, beperkt de algemene MRB zich tot deze wijzen van toediening. Als er zich in de toekomst andere toedieningswijzen aandienen, dan zal worden nagegaan of de algemene MRB ook voor die gevallen kan worden toegepast.

Deze milieurisicobeoordeling berust mede op de adviezen van de COGEM: CGM/041223-02 van 23 december 2004, "Integratie en verspreiding van naakt DNA", CGM/101026-06 van 26 oktober 2010, "Vereenvoudigde procedure voor deel van klinische gentherapie studies met naakt DNA" en het daarbij behorende rapport CGM2010-06, "Gene therapy with naked DNA: potential steps towards deregulation", CGM/120919-01-19 van 19 september 2012, "Toepassing virale sequenties

bij klinische studies met naakt DNA - ten behoeve van vereenvoudigde vergunningverlening" en CGM/ 120927-01 van 27 september 2012, "Vereenvoudiging procedure voor verlening vergunningen van klinische studies met naakt DNA.