

ANSELMUS COLLOQUIUM

Therapie aan gene zijde

*Technologische en therapeutische
aspecten van genterapie*

26 november 1998
Jaarbeurs, Utrecht

Samenstellers

F Kadir, JG Fokkens en EJ van Hoogdalem

Anselmus,

de eerste apotheker in de Nederlanden wiens naam op schrift gevonden is.

Hij kreeg in 1276 een werkruimte aangeboden van de toenmalige elect

(een niet-gewijde bisschop) van Utrecht. bron: *P van der Wielen. Pharm Weekbl 71: 715-718 (1934)*

De Stichting Organisatie Anselmus Colloquium

stelt zich tot doel het jaarlijks organiseren van een themadag over een farmaceutisch-technologisch onderwerp en dit te belichten vanuit een therapeutische invalshoek.

Het organisatiecomité voor de themadagen bestaat uit:

dr JG Fokkens	Gist-brocades nv
dr W Hespe	v/h Gist-brocades nv
dr EJ van Hoogdalem	Yamanouchi Europe bv
dr F Kadir	Nascholingsbureau POA
dr JJ Tukker	Universiteit Utrecht

Therapie aan gene zijde, Technologische en therapeutische aspecten van gentherapie

samenstellers: F Kadir, JG Fokkens en EJ van Hoogdalem

Houten: Stichting Organisatie Anselmus Colloquium (1998)

Met lit. opg.

ISBN 90-73520-10-X

Niets uit deze uitgave mag worden overgenomen op welke wijze dan ook,

zonder voorafgaande toestemming van de auteursrecht-houder.

oktober 1998

INHOUDSOPGAVE

Van biotechnologie naar gentherapie	7
<i>P de Geus</i>	
Ontwerp en productie van gentherapeutica	13
<i>DJA Crommelin</i>	
Klinische toepassingen van gentherapeutica	23
<i>AJ van der Eb</i>	
Registratie van gentherapeutica	31
<i>HHM Tummers</i>	
Ethische aspecten van gentherapie	37
<i>B Gordijn</i>	

10^E ANSELMUS COLLOQUIUM

Tien jaar Anselmus colloquia! Een gebeurtenis om bij stil te staan.

Op 22 november 1989 werd het eerste Anselmus Colloquium georganiseerd. Het thema was: 'Orale toedieningsvormen met gereguleerde afgifte'. Sindsdien zijn verschillende farmaceutisch-technologische onderwerpen vanuit een therapeutische invalshoek belicht - een zeer gewaardeerde aanvulling op de deskundigheid van de apotheker als geneesmiddelen-deskundige.

Het thema van dit jaar is genterapie, een nu nog slechts theoretisch mogelijke therapievorm, waar veel onderzoek naar wordt verricht en waarover de discussie volop aan de gang is.

Het programma van dit colloquium biedt een blik in de keuken van de moderne biotechnologie waarvan de genterapeutici gebruik kunnen maken en het besteedt aandacht aan de farmacie en klinische toepassingen. Het is duidelijk: genterapie komt eraan en de apotheker zal geconfronteerd worden met vele technische en therapeutische vragen over preparaten voor deze behandelwijze. Ook ethische vragen zullen aan de apotheker vermoedelijk niet voorbij gaan. Door sommigen wordt genterapie gezien als 'de mens die voor God speelt'. Anderen worstelen met de toekomstbeelden waarin eugenese mogelijk is. De ethische vraagstellingen rond genterapie zullen vandaag dan ook ruim aan de orde komen.

Aan het einde van deze korte inleiding wil ik u confronteren met de volgende stelling: voor Anselmus moet genterapie nog een volstrekt abstract begrip geweest zijn. Echter, virussen belagen al eeuwen lang de mensheid en virussen zijn in staat om cellen onbekende, 'nieuwe' eiwitten te laten maken. Dus, Anselmus moet ook regelmatig genetisch gemanipuleerd zijn. 'So, what is new?'

En wie weet wat er bij het vierde lustrum van het Anselmus Colloquium op het programma zal staan? Wellicht een evaluatie van de tweede generatie genterapeutica. Of zal genterapie dan allang weer achterhaald zijn ?

Prof. dr Daan J.A. Crommelin
dagvoorzitter

Dr P de Geus

Pieter de Geus werd geboren 1957. Hij studeerde scheikunde aan de Rijksuniversiteit Utrecht (RUU). Na het doctoraalexamen (1981) startte hij aan de Vakgroep Biochemie (RUU) zijn promotie-onderzoek dat hij in 1986 afsloot met de dissertatie getiteld "Application of recombinant DNA techniques in the study of phospholipases A". Vanaf 1987 is hij in verschillende functies werkzaam geweest op het terrein van moleculair biologisch onderzoek. Zijn interesse-gebieden zijn microbiële eiwit-expressie-systemen, eiwitvouwing, eiwitsecretie, biofarmaceutica en drug-discovery. Sinds 1997 is hij Director Research and Development bij Gist-brocades / Bio-Intermediair, een contract manufacturing bedrijf dat onder cGMP regime biofarmaceutische (bulk)producten maakt voor biotechnologische en farmaceutische bedrijven.

VAN BIOTECHNOLOGIE NAAR GENTHERAPIE

Pieter de Geus

Inleiding

De mensheid heeft reeds eeuwenlang, eerst zonder het echt te weten, en later op basis van Mendel's wetmatigheden, gebruik gemaakt van genetische inzichten. De activiteiten van de mens op het gebied van de verbetering van microbiële stammen voor bijvoorbeeld de kaas (*Lactobacilli*), brood- en wijnbereiding (gisten), en later ook op het gebied van de dier- en plantenrasveredeling voor de agro-industrie zijn hiervan prominente voorbeelden. De wetenschap dat goede en slechte fenotypische eigenschappen van organismen verbonden zijn met genen, die na een kruising tussen twee verschillende donoren in alle mogelijke combinaties weer terugkomen bij de nakomelingen (figuur 1), dus ook in de combinatie van alle goede eigenschappen bij elkaar, stelde de mens in staat om systematisch betere stammen en rassen te ontwikkelen. Opbrengsten en kwaliteit van vele agrarische en daarvan afgeleide producten gingen hierdoor omhoog.

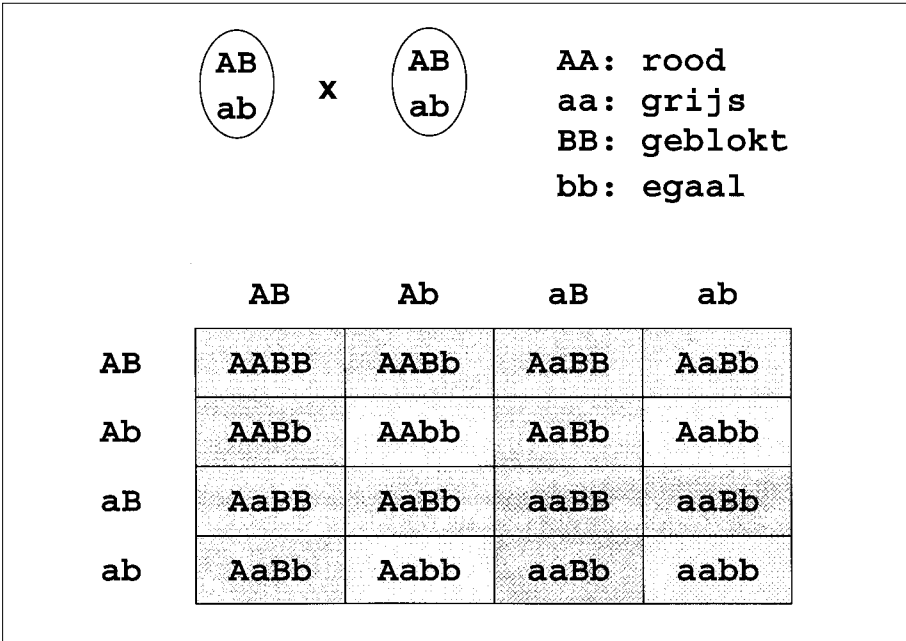


Fig 1. Willekeurige recombinatie van genen.

DNA

Avery en medewerkers ontdekten in 1944 het DNA molecuul als drager van de erfelijke eigenschappen en de feitelijke materie waaruit een gen bestond. De opheldering van de DNA structuur door Watson en Crick volgde in 1953 gevolgd door de ontdekking in 1957 dat een mutatie in het DNA van een cel is gerelateerd aan een verandering in een cellulair eiwit. Deze serie van ontdekkingen was de basis van een moleculaire wetenschap die zich bezig houdt met het functioneren van genen. Het zogenaamde centrale dogma van de moleculaire biologie zegt dat het DNA functioneert doordat het de expressie van eiwitten programmeert. De daaraan ten grondslag liggende genetische code werd begin 70er jaren gebroken. Het DNA is een polymeer bestaande uit 4 bouwstenen, afgekort A, G, C en T welke zijn gerangschikt in eenheden van 3, de tripletten. Elk mogelijk triplet correspondeert met een aminozuur. Een opeenvolgende reeks tripletten correspondeert op die manier met de aminozuurvolgorde in het eiwit dat door dat stuk DNA wordt geprogrammeerd. Aangezien eiwitten zowel de structurele bouwstenen zijn van een cel alsmede de katalysatoren van alle chemische reacties die in een cel plaatsvinden, inclusief het samenstellen van bouwstenen voor nieuwe cellen, bepaalt het DNA zo de vorm en inhoudelijke structuur van elk levend organisme.

Eén van de toepassingen van deze kennis is het verbeteren van organismen door ingrijpen in de DNA structuur en meer in het bijzonder in de volgorde. Met behulp van chemische en fysische methodes (bijvoorbeeld straling) kunnen snel grote aantallen genetische en fenotypische varianten worden gemaakt van microbiële stammen en planten, met gewenste, nieuwe, eigenschappen. Deze varianten kunnen dan met behulp van onder andere de 'klassieke' kruisingsmethodes worden 'toegevoegd' aan reeds bestaande stammen of rassen en zo verdere verbetering bewerkstelligen. Toepassing van deze methodes is onder andere de drijvende kracht achter de nog immer voortschrijdende produktiviteitsverbetering bij de fermentatieve productie van antibiotica, maar ook bij de ontwikkeling van vele nieuwe rassen sierteelt en landbouw.

recombinant DNA

Alle tot nu toe genoemde ontwikkelingen waarin de mens heeft getracht genen van microben, planten en dieren voor zichzelf tot nut te maken en de toepassingen van deze technieken in de landbouw, voedings- en farmaceutische industrie, scharen we onder de noemer "klassieke biotechnologie". Begin jaren 80 dient zich echter een ontdekking aan die voor een wetenschappelijke revolutie heeft gezorgd. Voor het eerst kan een gen nu in vitro worden geïsoleerd uit de grote context van het chromosoom, door dit te knippen met restrictie-enzymen. Bovendien kan een restrictiefragment, ook enzymatisch, worden geligeerd ('geplakt') aan andere restrictie fragmenten (figuur 2) waardoor het mogelijk wordt stukken DNA van verschillende organismes in vitro aan elkaar te verbinden (recombineren) die in de natuur nagenoeg nooit, via bijvoorbeeld kruising, met elkaar in verbinding zouden kunnen komen, simpel vanwege de speciesbarrières die er in de natuur bestaan. In theorie wordt het nu dus mogelijk functionele stukken DNA van een donor-organisme naar het andere, acceptor-organisme, over te brengen, door het donor

DNA te ligen aan het acceptor DNA, waardoor een recombinant DNA (rDNA) ontstaat. Zodoende kunnen eigenschappen van het ene organisme naar het andere worden overgebracht over de soortbarrières heen.

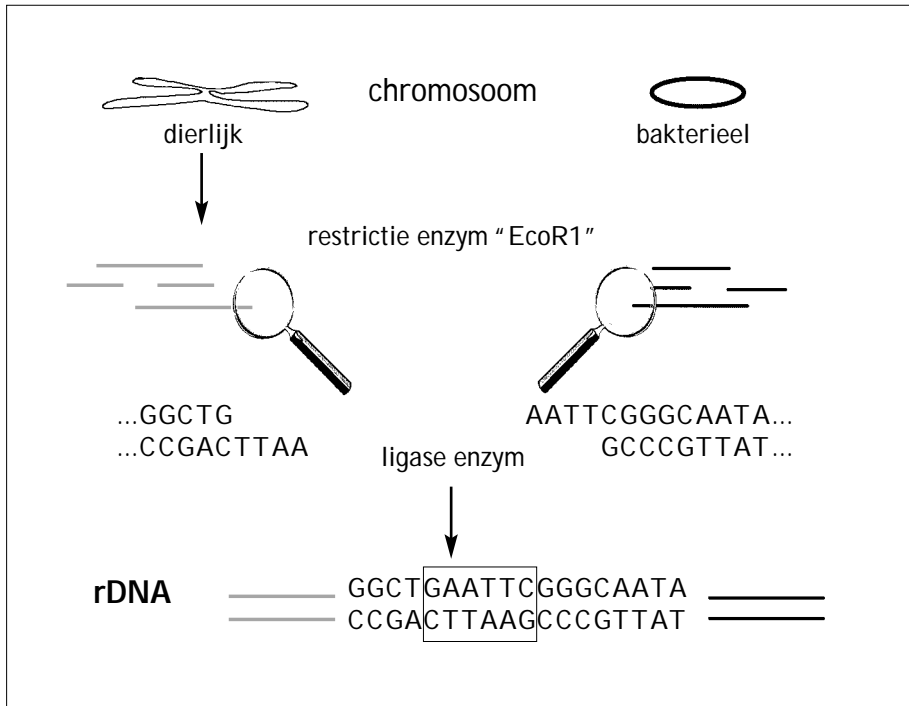


Fig 2. Knippen en plakken van DNA.

Wat in de praktijk nodig is om deze rDNA technologie te laten werken, is een middel om het rDNA uit de reageerbuis ook fysiek bij een acceptor cel in /te brengen, en zich vervolgens stabiel en functioneel in de gastheercel te laten handhaven, zodat bij het vermeerderen, van de cellen alle (clonale) dochtercellen de nieuwe eigenschap tot expressie brengen. Dit middel bestaat, en wordt vector DNA genoemd. Het vector DNA is afgeleid van in de natuur voorkomende systemen, zoals virussen, die (hun eigen) DNA in een gastheercel kunnen brengen. Ook sommige kleine circulaire DNA polymeren die van nature in een groot aantal organismes blijken voor te komen, zijn geschikt als vector, en worden plasmides genoemd. In de moderne biotechnologie is deze rDNA techniek met cellen inmiddels zover ontwikkeld dat functioneel DNA tussen bijna elke cel kan worden uitgewisseld (figuur 3). Zo worden nu inmiddels vele humane eiwitten, zoals insuline en erythropoetine (EPO), voor farmaceutische doeleinden geproduceerd door het coderend DNA voor die eiwitten in te bouwen in dierlijke of microbiële cellen. Die recombinantcellen kunnen tot grote schaal worden opgekweekt in fermentoren van soms wel 250 m³, waaruit de betreffende producten dan kunnen worden geïsoleerd.

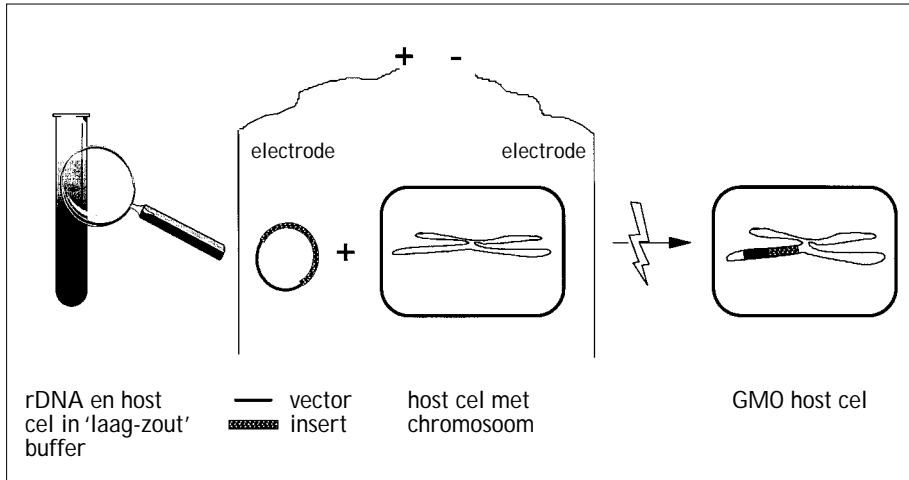


Fig 3. Introductie van DNA in "host" cel door middel van electroporatie.

Voor organismen die complexer zijn dan de simpele ééncelligen, is het inmiddels mogelijk om rDNA in te brengen in ongedifferentieerde kiemcellen van waaruit dan vervolgens een compleet transgeen organisme kan worden gekweekt. Het wordt transgeen genoemd, omdat het een soortvreemd gen in elke individuele cel functioneel met zich meedraagt. Zowel transgene planten als dieren worden inmiddels routinematig geproduceerd voor agrarische en farmaceutische doeleinden, zoals de constructie van ziekteresistente gewassen en wederom de productie van farmaceutische eiwitten.

Gentherapie

Naast het inbrengen van nieuwe eigenschappen, is het natuurlijk ook mogelijk om defecten in het gastheer DNA te repareren door het introduceren van een functioneel rDNA construct in de gastheer cel. Vele ziektebeelden bij de mens zijn het gevolg van één of meerdere defecten in sommige genen, waardoor functies als het celmetabolisme, signaaltransductie en bijvoorbeeld groei worden verstoord. Gentherapie richt zich erop om die cellen van het lichaam die dysfunctioneren als gevolg van een defekt gen, weer te voorzien van een functioneel gen, zodat in situ een therapeutisch eiwit wordt gemaakt en een permanente genezing voor de ziekte wordt bereikt. Het ultieme doel van gentherapie is dus om alleen cellen in ziek weefsel en/of organen te voorzien van een nieuw stukje DNA, dat vervolgens op het goede moment in dat weefsel of orgaan tot expressie dient te komen, zonder verder schade aan de rest van het DNA aan te richten en wel zodanig dat het de ziekte geneest. Sinds de start van de eerste klinische onderzoeken met gentherapie in 1990, zijn er inmiddels meer dan 1500 patiënten behandeld met verschillende gentherapievectoren, tot dusver met nog niet al te veel succes. Desalniettemin is de verwachting dat de eerste producten op basis van gentherapie tussen 2000 en 2003 op de markt zullen komen.

Conclusie

Gentherapie is de meest recente ontwikkeling in een lange reeks waarin de mens steeds weer de technologische mogelijkheden met DNA wist te vergroten. Het is het logische vervolg van het werk met ééncellige organismes of celcultures en is in feite een uitbreiding naar complexe celsystemen, zoals de mens zelf. Hierbij vormen echter de toegankelijkheid van individuele cellen voor het aangeboden DNA, maar ook de complexe reacties van bijvoorbeeld het immuunsysteem tegen vreemde indringermoleculen een drempel voor snelle vooruitgang. Het ultieme doel van gentherapie, het permanent genezen van ziektes bij de mens door herstel van niet goed functionerend DNA dat aan een ziektebeeld ten grondslag ligt, lijkt daarom nog redelijk ver weg.

Referenties

- Lewis B. 'Genes V'. Oxford University Press, Oxford (1994)
- F. Thomas. Scrip Magazine, February issue 'Strategies for gene therapy' (1997)

Prof dr DJA Crommelin

Daan Crommelin werd geboren in 1948. Na het behalen van het apothekersexamen in Groningen promoveerde hij in Leiden op het proefschrift "In vitro release studies on drugs suspended in non-polar media". In Michigan volbracht hij zijn 'post-doc training'. Momenteel is hij verbonden als hoogleraar aan de Faculteit Farmacie van de Universiteit Utrecht (leeropdracht Biofarmacie en Artsenijbereidkunde) en is wetenschappelijk directeur van het Utrecht Institute for Pharmaceutical Sciences (UIPS) en adjunct professor aan de University of Utah. Daarnaast is hij wetenschappelijk directeur van OctoPlus B.V., een bedrijf gericht op het ontwikkelen van (geavanceerde) farmaceutische formuleringen, in Leiden. De volgende onderwerpen hebben zijn bijzondere aandacht: drug targeting, geavanceerde geneesmiddeltoedieningsvormen, vaccinformuleringen en non-virale gentransfectiesystemen.

Crommelin is lid van diverse beroeps- en wetenschappelijke verenigingen waaronder AAPS, CRS, APV, KNMP, KNCV, EUFEPS en NVFW.

ONTWERP EN PRODUCTIE VAN GENTHERAPEUTICA

Daan Crommelin

Inleiding

Bij somatische gentherapie wordt door manipulatie van somatische cellen het genetisch materiaal van buiten het lichaam in de celkern van de te manipuleren cel gebracht. Daarbij moet een aantal hordes worden genomen. Figuren 1 en 2 geven deze hordes schematisch weer. Om na toediening bij de 'target' cel te komen, moet het in te brengen materiaal intact blijven en weerstand kunnen bieden tegen afbraakprocessen waaraan extracellulair genetisch materiaal wordt onderworpen. Een drager of vector-systeem kan daarbij goede diensten bewijzen. Daarnaast moet de juiste 'target' cel worden bereikt. Soms is het van groot belang dat slechts bepaalde cellen, bijvoorbeeld tumor cellen, van extra genetisch materiaal worden voorzien, i.e. getransfecteerd. Een 'homing device' om specifiek die cellen te bereiken is dan noodzakelijk. Echter, een hoog niveau van celspecificiteit is lang niet altijd nodig en dan vervalt deze eis. Het complex van drager plus genetisch materiaal kan de cel op verschillende manieren binnendringen. Het kan dat doen, ofwel door zich direct door het celmembraan toegang te verschaffen tot het cytoplasma, ofwel door gebruik te maken van receptor-gemedieerd transport. Hierbij volgt het complex de endosomale opnameroute en komt in een endosoom terecht. Het moet daaruit ontsnappen om toegang tot het cytoplasma te verkrijgen. Tenslotte, in het cytoplasma terecht gekomen, moet het DNA de kern bereiken ('trafficking') om daar afgelezen te worden. Daarna volgt het proces van RNA- en eiwitsynthese.

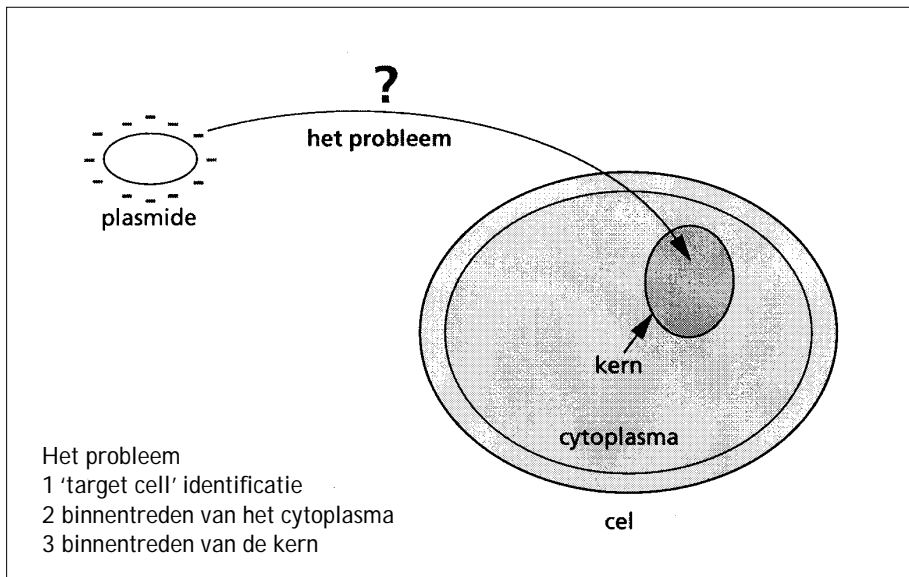


Fig 1. Het definiëren van het probleem.

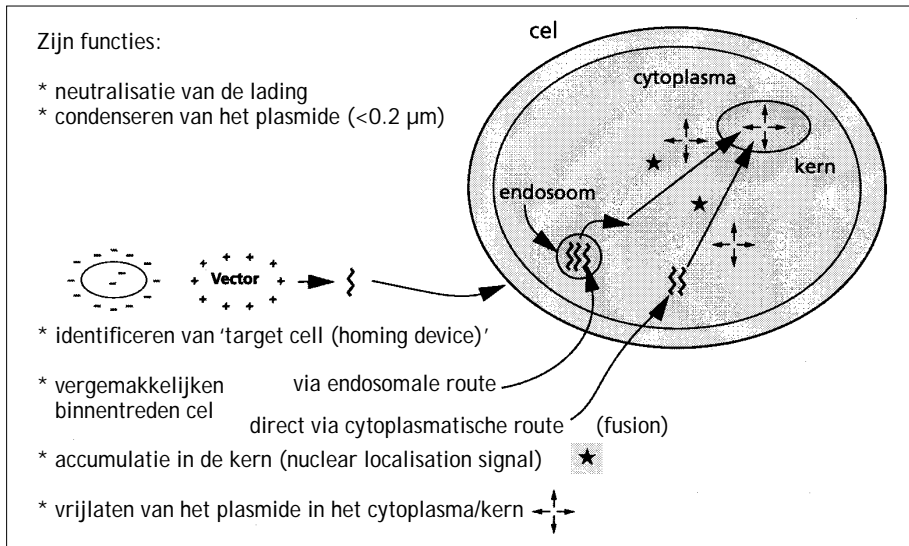


Fig 2. De functies van het vector/drager systeem.

In een succesvol transfectiesysteem zouden dus de in tabel I aangegeven functies herkenbaar moeten zijn.

Functionele onderdelen herkenbaar in een goed ontworpen en succesvol transfectiesysteem:

- celspecificiteit (indien gewenst)
- toegang tot cytoplasma
 - via cytoplasmatisch membraan, via fusie of membraandestabilisatie
 - via endosomale route inclusief endosomale ontsnapping naar het cytoplasma
- 'trafficking' naar en in de kern
- ont koppeling van DNA en de vector

Tabel I

Om tijdelijk eiwitproductie teweeg te brengen behoeft het aangeboden genetisch materiaal niet in de chromosomen van de gastheer cel te worden opgenomen. Het kan extrachromosomaal, voorzien van de juiste promotoren, in de kern actief zijn. In het algemeen zullen de dochtercellen niet meer de potentie bezitten om het 'vreemde' eiwit te produceren. Men spreekt dan van transiënte expressie. De eiwitproductie houdt ruwweg een periode van zo'n tien tot twintig dagen aan. Anders ligt het voor dragersystemen die het DNA in de chromosomen inbrengen. Hierbij wordt de potentie om het 'vreemde' eiwit te genereren wel op de volgende generatie cellen overgedragen. Dit heet permanente expressie. Hoe 'permanent' permanente expressie is, is onderwerp van onderzoek. Het bovenstaande demonstreert de complexiteit van transfectiesystemen en het belang van het juist ontwer-

pen van deze systemen. Toch is in een aantal gevallen aangetoond dat intramusculaire injectie van plasmiden alléén (zg. 'naakt' plasmide, er is dan geen dragersysteem aanwezig) een immuunrespons kan veroorzaken (zie ook hieronder). In klinische studies met een naakt plasmide HIV vaccin wordt nu gekeken of deze relatief simpele benadering immunisatie door antigene eiwitten kan vervangen. In tabel II worden factoren op een rij gezet die belangrijk zijn bij het succesvol transfacteren van 'target' cellen.

Mogelijke factoren die een rol spelen bij het succesvol transfacteren van 'target' cellen:

- plaats en wijze van toediening
- doel ('target') cel
- compositie genetisch materiaal (selectiviteit promoter)
- aard van de drager/vector
- aanwezigheid van antenne ('homing device') op vector
- topologie van het genetisch materiaal

Tabel II

In deze bijdrage worden nu verder verschillende facetten van het ontwerp van een effectief genterapeutisch systeem kort besproken. De verschillende vectorsystemen (tabel III) laten zich vergelijken op basis van een 'checklist': transfectie-efficiëntie, celspecificiteit, immunogeniciteit, veiligheid (bijvoorbeeld mogelijkheid voor chromosomale insertie) en gen-grootte restricties. Ook typisch farmaceutische zaken passeren kort de revue (zie tabel IV).

Transfectiesystemen

Virussen

A. Retrovirale vectoren

Wanneer men tabel I bekijkt, dan ligt het voor de hand om te denken aan (gemodificeerde) virussen als vectoren voor transfectie. Immers, virussen transfacteren cellen 'van nature'. Virussen zijn dan ook, zeker gedurende de eerste jaren van dit decennium, veruit het meest gebruikelijke type vector geweest. Veel gebruikte virussen zijn gemodificeerde retrovirussen (RNA virussen). Deze zijn afgeleid van muizen leukemie virussen (MLV). Er zijn geen pathologische reacties van deze virussen bij de mens bekend. Schematisch ziet het transfectieproces eruit zoals weergegeven in figuur 2B van het hiernavolgende hoofdstuk (bijdrage lezing van der Eb). In de getransfekteerde cel wordt het virale genetisch materiaal (RNA) omgezet in DNA. En daarna vindt transcriptie en translatie plaats en wordt het gewenste eiwit geproduceerd. Deze virussen zijn replicatie-deficiënt.

Replicatie-deficiënt betekent dat er geen nieuwe virusdeeltje door de gastheer cel worden gevormd, iets wat bij gewone virusinfectie wel plaats vindt. Retrovirussen kunnen heel efficiënte vectoren zijn. Echter, zij vertonen ook een aantal specifieke beperkingen:

- Door het virusdeeltje kan recombinant genetisch materiaal tot een molecuulgewicht van maximaal 8 kilobasen worden ingebracht.

- Retrovirussen kunnen cellen alleen transfecteren wanneer die cellen aan het delen zijn.
- De retrovirussen die nu worden gebruikt vertonen weinig celspecificiteit.
- Recombinant retrovirussen zijn niet erg stabiel.
- Er wordt op gewezen dat in principe - de kans is zeer klein - deze replicatie-deficiënte retrovirussen terug kunnen vallen tot het 'wild' type, dat wil zeggen dat ze weer kunnen repliceren in de gastheercel met alle ongewenste gevolgen daarvan.
- Retrovirussen zijn in staat om hun genetisch materiaal in het genoom van de gastheercel in te bouwen (chromosomale insertie). Dit betekent dat deze ingebrachte genetische informatie meegegeven wordt bij deling van de cel. Men bereikt dan dus een vorm van permanente transfectie. Op het eerste gezicht lijkt dat een gewenste situatie, immers de transfectie is blijvend. Echter, er zijn twee 'caveats':
 - permanente transfectie kan grote problemen opleveren als toxische effecten optreden. Er moet dan (chronisch) therapeutisch gecorrigeerd worden.
 - de inbouw in het gastheer-genoom is 'at random'. Dat betekent dat de mogelijkheid bestaat dat proto-oncogenen geactiveerd worden.

B. Adenovirale vectoren

Een tweede categorie interessante virussen voor transfectie van somatische cellen zijn genetisch gemodificeerde, replicatie-deficiënte adenovirussen. Adenovirussen zijn DNA virussen. De groep adenovirussen in onderzoek voor genterapie geeft bij de mens aanleiding tot (slechts) milde respiratoire aandoeningen.

Adenovirussen gedragen zich anders dan retrovirussen:

- Zij leveren het genetisch materiaal extrachromosomaal af. Er bestaat dus geen kans op insertie en activatie van proto-oncogenen (zie boven). Extrachromosomale transcriptie betekent ook een transient therapeutisch effect en dus een herhaalde toediening van het virus als er een langdurig effect wordt verwacht.
- Replicatie-deficiënte adenovirussen zijn immunogeen. Dat is een probleem wanneer herhaalde toediening gewenst is.
- Er zouden grotere stukken genetisch materiaal ingevoerd kunnen worden dan bij retrovirussen, ook al blijven er duidelijk beperkingen gelden.
- Ook niet-delende cellen kunnen efficiënt worden getransfecteerd.
- Er zijn adenovirussen geproduceerd met weefsel-specifieke promotoren.
- Ze vertonen een zekere weefsel-specificiteit, bijvoorbeeld voorkeur voor longweefsel.
- Net als bij retrovirussen bestaat er bij adenovirussen een -overigens ook hier zeer geringe- kans dat het virus terugvalt tot het 'wild' type en dus gaat repliceren in de gastheer.

Naast de groep van de retrovirussen en adenovirussen wordt er ook met andere virusklassen onderzoek gedaan, bijvoorbeeld adeno-associated virussen en herpes virussen.

Non-virale vectoren

Virale systemen hebben in het algemeen een hoge transfectie efficiëntie. Echter, er zitten ook bezwaren verbonden aan hun gebruik:

- Voor herhaald toe te dienen systemen (transiënte transfectie) is de immunogeniciteit een bezwaar.

- De mogelijke proto-oncogene activering bij 'at random' insertie in het genoom (bijvoorbeeld bij retrovirussen).
- De geringe transfectie specificiteit
- De farmaceutische hordes die te nemen zijn. Punten van aandacht zijn daarbij vooral de problemen om de productieschaal te vergroten en de moeilijkheid om een goede controle over de reproduceerbaarheid van verschillende productiebatches te verkrijgen.

Naast de virale vectoren is er een groeiende belangstelling voor een tweede categorie benaderingen die gemakshalve wordt aangeduid met 'non-virale' systemen. Tabel III geeft o.a. voorbeelden van non-virale transfectie strategieën.

Vectoren in gebruik als transfectie-bevorderaars:	
<ul style="list-style-type: none"> • <i>virale systemen:</i> - <i>retrovirussen</i> - <i>adenovirussen</i> - <i>adeno-associated virussen</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>non-virale systemen:</i> - <i>'gene-gun'</i> - <i>naakte plasmiden</i> - <i>(fosfo)lipiden</i> - <i>polymeren</i>

Tabel III

A. Naakt DNA/'gene-gun' benadering

Verrassenderwijs blijkt naakt DNA (DNA in plasmide vorm) na intramusculaire injectie een - weliswaar bescheiden - expressie te geven. Hiervan wordt gebruik gemaakt in een aantal protocollen voor een nieuwe generatie van vaccins. Voordelen van het gebruik van naakt plasmide zijn dat de DNA productie gemakkelijk is op te voeren en plasmiden redelijk stabiel zijn bij bewaren. Mogelijke bezwaren zijn dat er toch nog chromosomale insertie optreedt, dat er geen 'targeting' naar specifieke cellen mogelijk is en dat de expressie laag is.

Naast i.m. injectie van het naakt plasmide wordt ook de 'gene-gun' techniek verder uitgewerkt. Hierbij worden gouddeeltjes gecoat met naakt-plasmide onder hoge (lucht)druk in het 'target' weefsel geschoten.

B. (Fosfo)lipiden en polymeren

Positief geladen lipiden en polymeren zijn in staat om met het sterk negatief geladen plasmide DNA een neutraliserende interactie aan te gaan en transfectie te bewerkstelligen. De aard van het lipide of polymeer en de manier waarop het complex met DNA wordt gevormd spelen een rol bij het bepalen van de transfectie-efficiëntie, die bij de huidige generatie van lipiden en polymeren overigens beduidend lager ligt dan bijvoorbeeld bij adenovirussen.

Deze systemen hebben echter ook een aantal belangrijke voordelen boven virale vectoren:

- Lipiden en polymeren zijn gemakkelijk en goedkoop in de gewenste hoeveelheden en met de gewenste zuiverheid te maken.
- De systemen zijn veel minder gevoelig voor omgevingsfactoren (zoals temperatuur)

dan virale systemen, wat een veel minder strikt regime wat betreft de bewaaromstandigheden nodig maakt (zie ook hieronder).

- Ze zijn zelf weinig immunogeen.
- Transiënte transfectie treedt op; insertie in chromosomen treedt vermoedelijk niet op.
- Er is geen limiet in de grootte van het DNA dat getransfecteerd kan worden in tegenstelling tot virale vectoren.
- De specificiteit en transfectie-efficiëntie van de huidige generatie lipiden en polymeren dient verbeterd te worden. Hiervoor kunnen met name de polymeren gemakkelijk uitgerust worden met:
 - 'homing devices' zoals antilichamen,
 - oppervlaktestructuren die het complex beschermen tegen opname door macrofagen (zogenaamde 'stealth-technologie'),
 - fusogene elementen die het binnendringen in het cytoplasma bevorderen en
 - zogenaamde 'nuclear localization signals'; dit zijn peptiden die het transport van het polymeer-DNA complex naar de kern stimuleren (zie figuur 3).

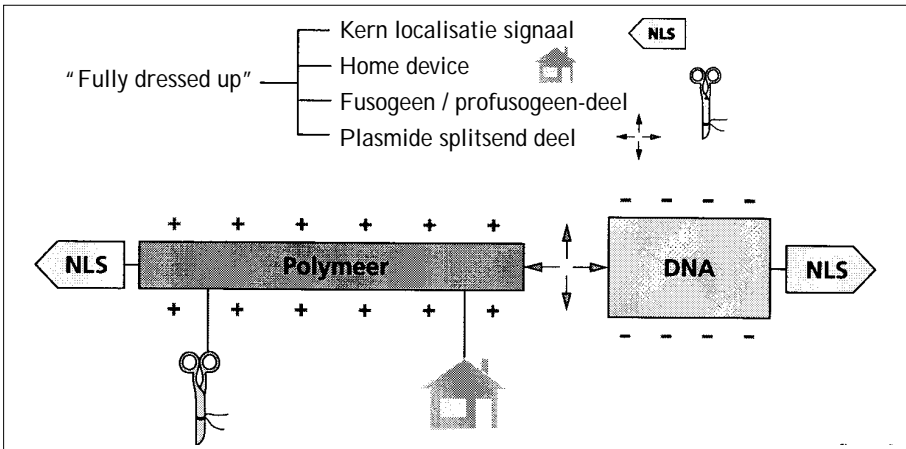


Fig 3. Een op een polymeerstructuur gebaseerde drager: mogelijkheden voor het verbeteren van de transfectie-efficiëntie door het manipuleren van de drager.

Deze zogenaamde 'tweede generatie' technologie biedt dus vele mogelijkheden om het gedrag van de transfectiesystemen te optimaliseren. Wel leidt de introductie van 'homing devices' en 'nuclear localization signals' mogelijk tot een vergroting van de immunogeniteit van het systeem.

Farmaceutische aspecten (gericht op non-virale systemen)

Bij virale vectoren worden de kwaliteitseisen vooral toegespitst op het uitsluiten van de mogelijkheid van recombinatie tot het 'wild' type, de mogelijkheid van 'at random' insertie van het genetisch materiaal in het gastheercelgenoom en op de afwezigheid van andere virussoorten. In deze bijdrage wordt vooral aandacht besteed aan kwaliteitseisen

die gesteld moeten worden aan non-virale systemen en dan met name de plasmiden die daarbij worden gebruikt.

Plasmiden

Tabel IV geeft een lijst van punten die een rol spelen bij de ontwikkeling van met name non-virale genterapeutica. Plasmiden zijn tegenwoordig gemakkelijk in de gewenste hoeveelheden te verkrijgen via kweken in *E. coli*. De meeste 'down stream processing' procedures voor het verkrijgen van gezuiverd plasmide zijn gebaseerd op combinaties van selecterende precipitaties en chromatografische technieken. De zuiveringsprocedures moeten zorgvuldig uitgezocht en gevalideerd worden. Te verwachten verontreinigingen die samenhangen met de gekozen kweekwijze zijn bijvoorbeeld endotoxines en bacterieel DNA, RNA en eiwitten. Tummers gaat in zijn bijdrage in op de regelgeving rond de eisen die aan de zuiverheid van plasmiden worden gesteld.

Farmaceutische aspecten van genterapeutische formuleringen:

- *opschaalbaarheid productie*
- *reproduceerbaarheid van de productie*
- *karakteriseringsmogelijkheden*
- *onzuiverheden*
 - *DNA*
 - *RNA*
 - *endotoxines*
 - *eiwitten*
- *stabiliteit/houdbaarheid*

Tabel IV

Non-virale vectoren

Een voordeel van het gebruik van 'basale' non-virale vectoren zoals (fosfo)lipiden of polymeren is dat deze verbindingen gemakkelijk zijn te synthetiseren en te zuiveren volgens 'standard operating procedures' (SOP's). Echter, wanneer bijvoorbeeld 'homing devices' zoals antilichamen of fusogene peptiden of 'nuclear localization signals' covalent worden gekoppeld aan het basis-polymeër, dan neemt de complexiteit toe. Het reproduceren van deze complexe structuren is geen sinecure. Daarbij komt dat een goede karakterisering van deze systemen die eiwitten, peptiden, evt. suikers bevatten een complexe zaak is en geavanceerde analysemethoden vereist.

Identiteit

Plasmiden worden normaliter geïdentificeerd door gebruik te maken van een techniek die 'restrictie-mapping' wordt genoemd. Een aantal restrictie-enzymen knipt het plasmide op bepaalde plaatsen, waardoor er een uniek patroon van DNA-fragmenten ontstaat. Deze fragmenten kunnen op gelen of via capillaire elektroforese worden gescheiden en gevisualiseerd.

Hogere orde structuren van plasmide-DNA

Van eiwitten is bekend dat er naast een primaire structuur (aminozuursequentie) ook secundaire structuren (bijvoorbeeld alfa-helices en beta-sheets), tertiaire structuren (ruimtelijke organisatie van de alfa helices en beta-sheets) en zelfs kwaternaire structuren (ruimtelijke interacties tussen verschillende eiwitmoleculen) herkend kunnen worden. Die ruimtelijke organisatie van eiwitten is essentieel voor het functioneren van het eiwit. DNA in plasmiden is ook ruimtelijk georganiseerd. De sequentie (primaire structuur) bepaalt natuurlijk uiteindelijk de opbouw van het eiwit (via de weg van transcriptie en translatie). De secundaire structuur bij DNA is de dubbele helix. De tertiaire structuur in DNA wordt vaak de DNA-topologie genoemd. Gezuiverde bacteriële plasmiden worden in het algemeen in de 'supercoiled' conformatie aangeleverd (60 - 90%). Het dubbelstrengs DNA is dan opgerold zodat het een compact geheel vormt. De 'supercoiled' structuur zal overgaan in een open circulaire structuur wanneer een van de twee DNA-ketens wordt onderbroken. De overblijvende 40 - 10% van de bovengenoemde bacteriële plasmiden voor gentherapie is voor het merendeel plasmide DNA in de 'open circular' vorm. Breken beide ketens rond dezelfde plek, dan ontstaat de open lineaire vorm van het plasmide. Niet duidelijk is of de overgang van een 'supercoiled' naar een open circulaire structuur de transfectie-efficiëntie sterk negatief beïnvloedt. Voor de open lineaire vorm geldt dat de transfectie-efficiëntie afhangt van de plaats waar de circulaire structuur is gebroken. Een breuk in het af te lezen gen of de promotor geeft een sterke reductie in efficiëntie te zien.

De verhouding van 'supercoiled', 'open circular' of open lineaire plasmide structuren wordt vastgesteld door gel-electroforese over een agarose of polyacrylamide gel. Binnen de sectie Biofarmacie van de Universiteit Utrecht vindt systematisch onderzoek plaats naar de stabiliteit van non-virale transfectie systemen. Om de gewenste houdbaarheidstermijn van twee jaar te bereiken zullen deze disperse waterige systemen vermoedelijk moeten worden ge(vries)droogd.

Zuiverheid

De meest gebruikelijke onzuiverheden in een plasmide preparaat zijn DNA of RNA van het micro-organisme dat gebruikt is om het plasmide te kweken. Dat is meestal *E. coli*. Kwantitatieve 'polymerase chain reaction' (PCR) technieken zijn recent beschikbaar gekomen om dit soort onzuiverheden zeer gevoelig en specifiek aan te tonen. Over de exacte eisen wat betreft het maximum toelaatbare niveau van onzuiverheden zijn nog discussies gaande (zie bijdrage Tummers). Er is aan de ene kant een neiging om de limieten van geval tot geval te bekijken. Toch worden er ook pogingen gedaan om tot een zekere uniforme begrenzing van het niveau van onzuiverheden te komen. Het eiwitgehalte in DNA preparaten voor vaccinatie zou bijvoorbeeld niet boven 10 µg/mg plasmide DNA mogen liggen. Voor chromosomaal *E. coli* DNA is een maximum niveau van 20 - 50 µg/mg plasmide DNA genoemd. RNA niveaus zouden onder de 50 µg/mg plasmide DNA moeten liggen. Tenslotte, het is de taak van de producent om het gehalte aan endotoxine (bijvoorbeeld aanwezig vanwege het gebruik van *E. coli* om het plasmide te produceren) tot een aanvaardbaar niveau terug te brengen. Dat zou onder de 50 - 100 IU/ml moeten liggen.

Spectroscopische technieken om plasmide DNA te karakteriseren

Naast elektroforetische en chromatografische analyses waarbij bv. de fracties 'supercoiled', 'open circular' en open lineair plasmide DNA kunnen worden bepaald, en ook gegevens over de zuiverheid worden gegenereerd, bieden moderne spectroscopische technieken ruime mogelijkheden om informatie over de structuur van plasmide DNA te verzamelen. Spectroscopische technieken in gebruik om plasmide DNA te karakteriseren zijn in tabel V op een rij gezet. Geen enkele afzonderlijke methode geeft een totaalbeeld van de structuur van het plasmide DNA. Slechts door gebruik van een combinatie van technieken kan een beeld van de structuur van het plasmide worden verkregen. Met name circulair-dichroïsme spectroscopie levert een belangrijke bijdrage aan het ophelderen van de secundaire en tertiaire structuur van het plasmide in 'vrije' vorm en van plasmide gecomplexeed met een positief geladen (fosfo)lipide of polymeer.

Spectroscopische methoden voor het karakteriseren van genetisch materiaal:

- *UVspectroscopie*
- *NMR/Röntgenstraaldiffractie-spectroscopie*
- *circulair dichroïsme spectroscopie*
- *infrarood spectroscopie*
- *Raman spectroscopie*
- *fluorescentie spectroscopie*
- *massa spectroscopie*

Tabel V

Conclusie

In deze bijdrage zijn in kort bestek verschillende technische benaderingen voor geneesmiddelen aan de orde gekomen. De voordelen en nadelen van de verschillende transfectiesystemen zijn de revue gepasseerd. Het is duidelijk dat bij de keuze van het gewenste vectorsysteem tal van overwegingen een rol spelen. Daar behoren ook typisch farmaceutische punten van overweging bij zoals opschalingsmogelijkheden, kwaliteitsbewaking (inclusief karakterisering) en stabiliteit.

Referenties

- Hoekstra WPM en Smeekens SCM. Molecular Biotechnology, In: Pharmaceutical Biotechnology, Crommelin DJA en Sindelar RD (Eds.), Harwood Academic Publ.: 1-25 (1997)
- Bout A. Gene Therapy. In: Pharmaceutical Biotechnology, Crommelin DJA en Sindelar RD (Eds.), Harwood Academic Publ.: 167-184 (1997)
- Middaugh RC, Evans RK, Montgomery DL en Casimiro DR. Analysis of plasmid DNA from a pharmaceutical perspective. J Pharm Sci 87: 130-145 (1997)
- Durland RH en Eastman EM. Manufacturing and quality control of plasmid-based gene expression systems. Adv Drug Deliv Rev 30: 33-48 (1998)

Prof dr AJ van der Eb

Alex van der Eb werd geboren in 1934. Hij studeerde biologie aan de Rijksuniversiteit Leiden (doctoraalexamen behaald in 1961). In 1986 promoveerde hij op het proefschrift "Fysisch-chemische biologische eigenschappen van het DNA van dierlijke tumorvirussen".

Momenteel is hij als Hoogleraar verbonden aan de Universiteit van Leiden, Laboratorium Moleculaire Carcinogenese. Zijn bijzondere interesse gaat uit naar moleculaire mechanismen van het ontstaan van kanker, de ontwikkeling van genterapie-methoden en de effecten van straling op genetische stabiliteit. Van der Eb is o.a. lid van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen en de European Molecular Biology Organisation (EMBO).

KLINISCHE TOEPASSINGEN VAN GENTHERAPEUTICA

Alex van der Eb

Inleiding

Gentherapie is een nieuwe vorm van geneeskunde, die zich in weinig jaren heeft ontwikkeld van een onderzoeksgebied met potentiële, maar onzekere mogelijkheden in de verre toekomst naar een richting van onderzoek, die nu het stadium van preklinische en soms klinische trials heeft bereikt.

Gentherapie stelt zich tot doel om door middel van introductie van genetisch materiaal in patiëntencellen de gevolgen van genetische defecten, kanker of van bepaalde infectieziekten, op te heffen. Hiermee introduceert de gentherapie een nieuwe geneeswijze, die tot stand komt in een nauwe samenwerking tussen moleculair-biologen en klinici. Enkele algemene principes van de gentherapie zullen aan de hand van voorbeelden worden besproken.

Om de genen in patiëntencellen te brengen maakt men meestal gebruik van virussen. De reden is, dat virussen waarschijnlijk de meest efficiënte transporteurs van genetische informatie zijn, die men kent. Het nadeel van virussen is, dat ze meestal ziekteverwekkend zijn. Om dat nadeel te ondervangen maakt men de virussen kreupel, zodat ze zich niet kunnen vermenigvuldigen (en daarmee hun ziekteverwekkende eigenschappen verloren hebben), maar nog wel efficiënt hun erfelijke informatie in cellen kunnen brengen. Tot de meest gebruikte virale vectoren behoren retrovirale vectoren. Retrovirussen bevatten RNA als erfelijk materiaal (genoom), in tegenstelling tot vrijwel alle andere organismen (één- en meercellige organismen en een deel van de virussen), die DNA als erfelijk materiaal bevatten. Hoewel retrovirussen dus RNA-virussen zijn vertonen ze de bijzonderheid dat hun RNA genoom na infectie van een cel in een DNA copie wordt omgezet. Dit maakt retrovirussen zeer geschikt om als vector voor het transport van genen te dienen. Het retrovirus-genoom bevat 3 genen, *gag*, *pol* en *env*; aan beide uiteinden van het genoom bevinden zich de zogenaamde Long Terminal Repeats (LTR's), waarop signalen liggen, die bepalen of en hoe snel de virusgenen tot expressie komen. Bovendien bevat het genoom een "inpaksignaal" (Psi of (ψ), dat nodig is om het virus-RNA in virusdeeltjes in te pakken (figuur 1 boven). Figuur 2A toont schematisch het vermenigvuldigingsmechanisme van een muizen retrovirus (zie onderschrift figuur 2A voor nadere uitleg). Om van retrovirussen een vector te maken, verwijdert men alle 3 de genen; de vrijgekomen ruimte kan dan benut worden voor de insertie van het gen (of genen), die men in de patiënt wil brengen (figuur 1 onder). Vervolgens zorgt men ervoor dat het virale vector genoom, dat voorzien is van het therapeutische gen of genen, in een virusdeeltje wordt verpakt. Eén virusdeeltje bestaat uit de erfelijke informatie van het virus (virus genoom), omgeven door een "mantel" van viruseiwitten. Deze virusmantel maakt het mogelijk om cellen, die gevoelig zijn voor het virus, zeer efficiënt binnen te dringen. Het principe van retrovirale vectoren is weergegeven in figuur 2B (zie onderschrift voor nadere uitleg).

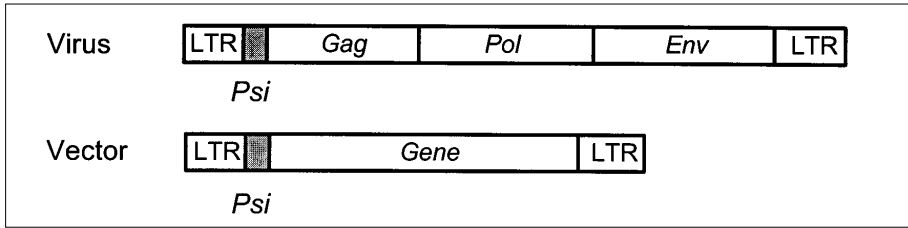
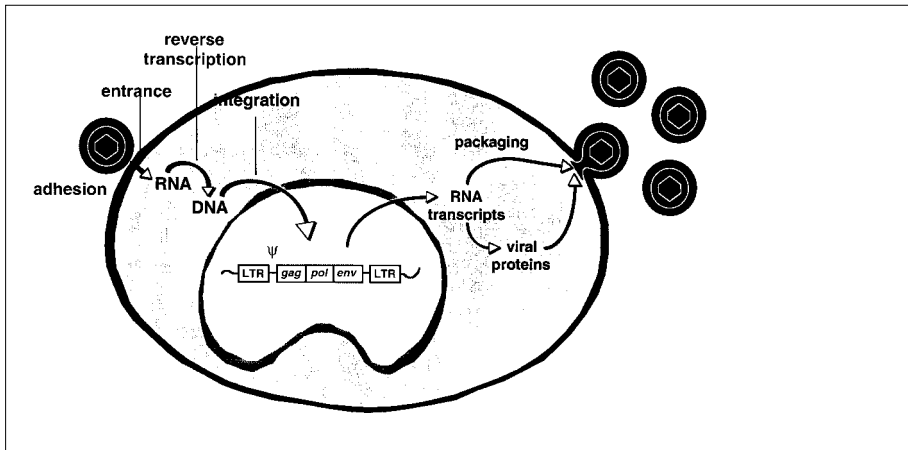


Fig. 1.

Organisatie van het erfelijk materiaal (genoom) van een muizen-retrovirus, weergegeven in de copie-DNA vorm (boven). Het genoom bevat 3 genen, *gag*, *pol* en *env*, en wordt aan de uiteinden begrensd door 2 identieke "Long Terminal Repeats" (LTR), die bepalen hoe snel de virus-genen tot expressie komen. Naast de linker-LTR bevindt zich het "inpacksignaal" Psi (ψ). Alleen als Psi aanwezig is, kan het genoom (maar dan als RNA-copie) met behulp van de virus-eiwitten wor-

den ingepakt tot virusdeeltjes. Om van het virale genoom een retrovirale vector te maken, worden daaruit 3 genen verwijderd (onder). In de plaats daarvan kan men één of meer genen (aangegeven als "gene", onderste figuur) naar keuze invoegen. Omdat het vector-genoom een Psi-sigitaal bevat, kan het tot virusdeeltje worden ingepakt, mits de eiwitproducten van de *gag*, *pol* en *env* genen ook aanwezig zijn. Daar deze eiwitten niet meer in het vector-genoom aanwezig zijn, worden ze door de cel geleverd, waarin men het virus laat vermenigvuldigen (Fig. 2).



Figuur 2A.

Schema van de vermenigvuldiging van een muizen retrovirus in een muizen-cel. Nadat het virusdeeltje contact heeft gemaakt met de celmembraan, wordt het opgenomen in het cytoplasma (alleen de binnenkern van de deeltjes wordt opgenomen). Het virus-RNA wordt vervolgens met reverse transcriptase (het product van het *pol* gen) omgezet in een DNA-copie,

die de kern binnengaat en op een willekeurige plaats integreert in een van de chromosomen van de cel. Het geïntegreerde virus DNA wordt in de figuur aangegeven als LTR- ψ -*gag*, *pol*, *env*-LTR. Vanuit de geïntegreerde toestand worden RNA-copieën van het virus DNA gemaakt, die gedeeltelijk dienst doen als messenger-RNA voor synthese van de virus-eiwitten en gedeeltelijk als virus genoom. Virus genomen en virus-eiwitten vormen tezamen nieuwe virusdeeltjes.

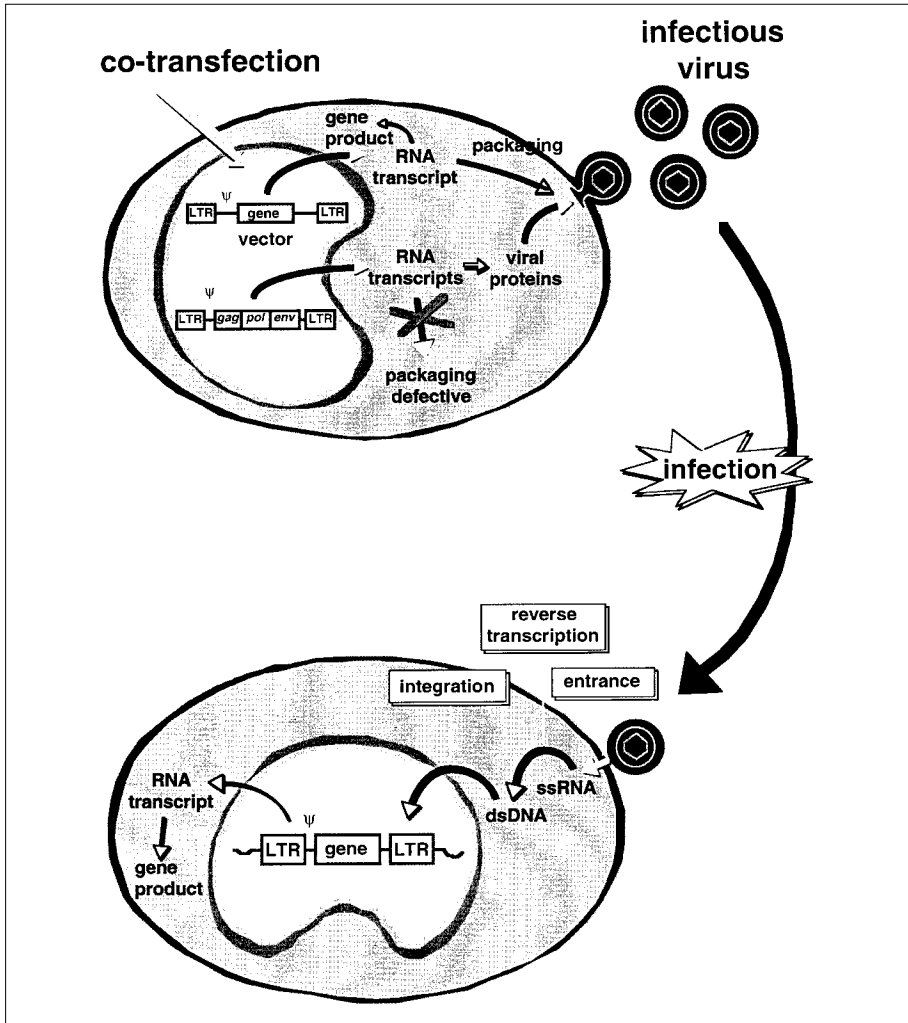


Fig. 2B.

Om een retrovirale vector te maken wordt het DNA van een retrovirale vector, die met de recombinant DNA technieken in bacteriën geconstrueerd is en waarin een gen naar keuze is geplaatst (het therapeutische gen), in een muizencel gebracht waarin de virale genen *gag*, *pol* en *env* van te voren waren geïntroduceerd. In de bovenste figuur zijn de genen als een retrovirus-genoom waar het Psi (ψ)-signaal uit verwijderd is, weergegeven (zie ook onderschrift figuur 1). Omdat Psi afwezig is, kan dit genoom geen

aanleiding geven tot de vorming van virusdeeltjes, maar wel de drie virale eiwitten produceren. Het retrovirale vector genoom bevat echter wel een Psi-signaal en kan dus ingepakt worden in virusdeeltjes. De aldus ontstane virusdeeltjes, de retrovirale vectoren, zijn infectieus voor muizen en andere zoogdier- (mens)-cellen, maar kunnen zich niet vermenigvuldigen zonder hulp van de virale genen *gag*, *pol* en *env* (onderste figuur). Als de virale vectoren in patiëntencellen worden gebracht, kunnen ze zich dus (zonder Psi) niet vermenigvuldigen, maar wel het therapeutische gen achterlaten.

Ex vivo en in vivo gentherapie

Bij gentherapie onderscheidt men 2 verschillende benaderingen: *ex vivo* en *in vivo*. Een *ex vivo* gentherapie-protocol kan er als volgt uitzien: uit een patiënt met bijvoorbeeld een genetische ziekte worden bepaalde weefselcellen geïsoleerd en kort in kweek gebracht. Vervolgens wordt het betreffende gen, dat defect is in de patiënt in deze cellen geïntroduceerd, waarna de cellen naar de patiënt worden teruggetransplanteerd. Op deze wijze kan voor kortere of langere tijd (gedeeltelijk) herstel verkregen worden. De *ex vivo* gentherapie wordt bijvoorbeeld ontwikkeld voor de erfelijke ziekte "severe combined immunodeficiency" als gevolg van adenosine-deaminase-deficiëntie (ADA-SCID). Het ADA gen wordt hiertoe in de uit de patiënt geïsoleerde beenmergcellen geïntroduceerd, waarna deze weer worden teruggebracht in de patiënt. Om het gen in de patiëntencellen binnen te brengen, maakt men meestal gebruik van retrovirale vectoren.

De toepassing van *ex vivo* gentherapie is niet altijd mogelijk of wenselijk, zoals bijvoorbeeld voor de taaislijmziekte of cystische fibrose (CF). CF wordt veroorzaakt door een defect in het gen voor een chloride-ionen-kanaal, dat vooral sterk tot uiting komt in het epitheel van de ademhalingswegen. Daar *ex vivo* gentherapie voor het epitheel van de luchtpijp en bronchiën niet in aanmerking komt, werkt men aan *in vivo* benaderingen, waarbij een virale vector met het CF-gen rechtstreeks in de luchtwegen van de patiënt wordt gebracht. Voor dit doel zijn retrovirus-vectoren echter ongeschikt, onder andere vanwege de geringe stabiliteit van deze virussen. Daarom maakt men gebruik van adenovirussen als vector, die aanzienlijk stabiel zijn.

Adenovirussen hebben 10 keer meer genen dan retrovirussen. De adenovirus-vectoren zijn in principe op dezelfde manier "geconstrueerd" als de retrovirus-vectoren, met dit verschil dat slechts circa 10% van het virale genoom is verwijderd en vervangen door het gen of genen van interesse. De resterende 90% is nog aanwezig, maar blijft inactief. De verwijderde 10% bevat namelijk het zogenaamde E1A gen, dat de "hoofdschakelaar" van het virus-genoom is. Als E1A afwezig is, zal het resterende deel van het adenovirus genoom niet tot expressie komen.

De verschillende gentherapie-protocollen worden steeds eerst in proefdieren uitgetest, en pas bij gebleken (voldoende) effectiviteit ook op patiënten toegepast in klinische trials. Voor de preklinische studies in proefdieren wordt steeds zoveel mogelijk van geschikte diermodellen gebruik gemaakt, d.w.z. dieren waar de te onderzoeken ziekte in is nagebootst. Zo kan men met behulp van transgene technieken muizen maken met een bepaalde erfelijke ziekte door het betreffende gen in de muis te muteren, op dezelfde wijze als het gen in menselijke patiënten gemuteerd is.

Aandoeningen

Aanvankelijk richtte de gentherapie zich vooral op monogene erfelijke ziekten, dat zijn ziekten die veroorzaakt worden door een defect van een enkel gen. Voor veel monogene ziekten zijn de betreffende genen inmiddels geïsoleerd. Desondanks lenen deze ziekten zich lang niet altijd voor genterapeutische behandeling. Later werd de aandacht steeds sterker gericht op de veel frequenter voorkomende polygene of "chronische" ziekten zoals hart- en vaatziekten en Parkinson, alsook op "verkregen" ziekten zoals AIDS en

vooral kanker. Bij kankertherapie worden verschillende benaderingen toegepast, onder andere het introduceren van een "zelfmoord"-gen in de tumorcellen, of het versterken van eigen cellulaire immuunafweer van de patiënt tegen zijn tumorcellen, zodat de tumor wordt opgeruimd.

De meest beproefde methode voor therapie van kanker is de zelfmoord-gentherapie. Hierbij maakt men gebruik van het thymidine-kinase (TK)-gen van het menselijke Herpes simplex virus type 1. Dit virale TK-gen heeft in tegenstelling tot het TK-gen van dierlijke en menselijke cellen, de eigenschap dat het analoga van DNA-basen kan fosforyleren, alsof het authentieke basen zijn. Zo kan het herpes-TK-gen het guanine-analoga ganciclovir fosforyleren tot ganciclovir-trifosfaat, dat tijdens DNA synthese in nieuw gevormd DNA kan worden ingebouwd. Als dat gebeurt, gaan de cellen ten gronde. Dit treedt echter alleen op in delende cellen, terwijl rustende cellen ongevoelig zijn voor ganciclovir. Daar tumorcellen de eigenschap hebben, dat ze meestal voortdurend delen, terwijl normale weefselcellen vaak in rust zijn, wordt het TK-gen in combinatie met ganciclovir met redelijk succes toegepast voor kanker-therapie-studies in proefdieren, met name voor therapie van hersentumoren. Deze zijn bij uitstek geschikt, omdat hersencellen geen delingsactiviteit vertonen en dus ongevoelig zijn voor TK plus ganciclovir. Helaas zijn klinische trials bij de mens tot nu toe minder succesvol gebleken, onder andere omdat het niet mogelijk is voldoende tumorcellen te bereiken, waardoor de tumor toch kan uitgroeien.

Conclusie

Hoewel de gentherapie als één van de meest belovende ontwikkelingen in de geneeskunde wordt beschouwd, bevindt het gehele terrein zich nog in de kinderschoenen en is er weinig ervaring met toepassing in de mens. Vele problemen moeten nog worden opgelost, met betrekking tot de veiligheid van de gebruikte virale vectoren en de duur van de expressie van de geïntroduceerde genen. Uit experimenten in proefdieren is bijvoorbeeld gebleken, dat de ingebrachte genen na kortere of langere tijd worden uitgeschakeld, hetgeen een herhaling van de ingreep noodzakelijk zou maken. Een ander probleem bij gebruik van adenovirus-vectoren is, dat de nog in de vector aanwezige virale genen toch enigszins tot expressie kunnen komen, hetgeen aanleiding geeft tot een immuunreactie. Als adenovirus-vectoren gebruikt worden voor behandeling van erfelijke ziekten, zullen de verkregen gemodificeerde cellen door de immuunafweer van de gastheer worden vernietigd. Daarom tracht men de adenovirusvectoren zodanig te modificeren, dat de resterende 90% van de virus-genen niet meer tot expressie kunnen komen, of men tracht vectoren te ontwikkelen, die in het geheel geen virale genen meer bevatten. Ondanks de vele moeilijkheden waar onderzoekers bij de ontwikkeling van gentherapie tegenaan lopen bestaat er goede hoop dat de problemen uiteindelijk opgelost zullen worden, en dat het mogelijk zal zijn ziekten via gentherapie te genezen of gedeeltelijk te genezen. Als deze voorspelling juist zal blijken, zal de gentherapie een doorbraak in de geneeskunde zijn.

Referenties

- Sandhu JS, Keating A en Hozumi N. Human Gene Therapy. *Crit Rev Biotechnol* 17: 307-326 (1997)
- Vile RG. Gene Therapy. *Curr Biol* 8: R73-75 (1998)
- Robbins PD, Tahara H en Ghivizzani SC. Viral vectors for gene therapy. *Trends Biotechnol*: 16: 35-40 (1998)
- Melcher AA, Garcia-Ribas I en Vile RG. Gene therapy for cancer-managing expectations. *Brit Med J* 315: 1604-1607 (1997)
- Gunzburg WH, Salmons B. Virus vector design in gene therapy. *Mol Med Today* 9: 410-417 (1997)
- Van der Eb MM, Schagen FHE, van Ormondt H en Hoeben RC. Getherapie voor hemofilie: In principe uitvoerbaar maar nog niet klinisch toepasbaar. *Ned Tijdschr Geneesk* 142: 840-844 (1998)

Drs HHM Tummers

Ben Tummers werd geboren in 1958 te Sittard. Na het Gymnasium-beta, studeerde hij farmacie aan de Rijksuniversiteit Utrecht (RUU). Het doctoraalexamen behaalde hij in 1984 en aansluitend volgde hij de opleiding tot apotheker (apothekersdiploma behaald in 1985).

Van 1985 tot 1989 is hij als toegevoegd docent in dienst van de RUU bij de faculteit Farmacie, Vakgroep Praktische Farmacie, werkzaam geweest. Vanaf 1989 is hij als wetenschappelijk beoordelaar van geneesmiddelen werkzaam, aanvankelijk ter beoordeling van het chemisch-farmaceutisch deel van registratiedossiers (RIGO, Leiden). Thans beoordeelt hij biotechnologische geneesmiddelen zoals vaccins, monoclonale antilichamen, bloedproducten en rDNA producten (RIVM/LGM, Bilthoven).

In de periode februari 1990 - november 1993 is hij Ambtelijk adviseur Cie ex art 4 van de Gezondheidsraad van het Besluit Sera en Vaccins respectievelijk ex art 1 van het Besluit Bloedplasma en Bloedproducten geweest. Vanaf 1991 vertegenwoordigt hij Nederland in de Biotechnology Working Party van CMPC, vanaf 1992 in de Ph. Eur. expert groep 15 (sera en vaccins) en sinds 1993 is hij lid van de Nederlandse delegatie van de Europese Pharmacopee.

REGISTRATIE VAN GENTHERAPEUTICA

Ben Tummers

Inleiding

Gentherapie is een nieuwe vorm van medische therapie waarbij door middel van een medische interventie genetisch materiaal van somatische cellen wordt gemodificeerd. Genetische manipulatie van de menselijke geslachtscellen (germline of kiembaan gentherapie) is op grond van ethische gronden niet toegestaan. Gentherapie is onder andere gericht op een behandeling van genetische afwijkingen (bijvoorbeeld taaislijmziekte, adenosine deaminase [ADA] deficiëntie, ziekte van Gaucher), kanker (bijvoorbeeld melanoma) en immunologische ziekten (bijvoorbeeld reuma). Ook het inbrengen van genetisch materiaal ten behoeve van profylactisch (bijvoorbeeld vaccinatie) of diagnostisch gebruik valt onder gentherapie.

Toediening genetisch materiaal

De mogelijkheden om het genetisch materiaal in de somatische cel te introduceren kan als volgt worden onderverdeeld: de toediening van naakt nucleïnezuur (NZ) in de vorm van een plasmide dan wel het gebruik van een vector. Mogelijke vectoren zijn complexen van nucleïnezuur met zouten of eiwitten, ingebouwd in liposomen of gecoat op gouddeeltjes. Andere vectoren zijn replicatie-deficiënte virussen (bijvoorbeeld retrovirussen of adenovirussen). Een ander veel gebruikte onderverdeling berust op de manier waarop modificatie van somatische cellen kan worden bereikt, namelijk *in vivo* versus *ex vivo* behandeling. Bij *in vivo* behandeling wordt het NZ (naakt dan wel in de vorm van een vector) direct aan de mens toegediend terwijl bij *ex vivo* behandeling autologe cellen (d.w.z. van de patiënt zelf), allogene (cellen van een ander mens) of xenogene (cellen van een dier) somatische cellen eerst buiten het lichaam met NZ genetisch worden gemodificeerd en vervolgens worden toegediend aan de patiënt. *In vivo* gentherapie wordt veelal toegepast bij ziekten waarbij organen als long, hart of hersenen dienen te worden bereikt. *Ex vivo* modificatie van somatische cellen biedt de mogelijkheid om bepaalde cellen voor manipulatie te selecteren. Hierbij betreft het celtherapie wanneer niet genetisch gemodificeerde cellen worden gebruikt (bijvoorbeeld met cytokines gemanipuleerde cellen) en gentherapie wanneer door gen-overdracht de cel wordt gemodificeerd.

Nationaal beleid

Het beleid ten aanzien van toelating van gentherapie producten wordt momenteel door de diverse Europese lidstaten verschillend ingevuld. Zo kent het Verenigd Koninkrijk, Frankrijk en Duitsland een procedure voorafgaand aan gentherapeutisch klinisch onderzoek in de mens. Hierbij wordt naast de gebruikelijke toetsing door een medisch-ethische commissie, de opzet van het klinisch onderzoek (inclusief veiligheidsaspecten) door een overheidsinstantie beoordeeld. Deze overheidsinstantie dient een goedkeuring

te verlenen voor de start van de geplande studie. Deze procedure geldt in het Verenigd Koninkrijk voor elk klinisch onderzoek terwijl dit in Frankrijk en Duitsland beperkt is tot genterapie. Nederland kent momenteel nog geen overheidstoetsing van klinisch onderzoek in de mens. Wel dient de onderzoeker de trial te melden bij de Inspectie voor de Gezondheidszorg (IGZ) die naar eigen inzicht meer informatie kan opvragen. In Nederland is onlangs de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek bij mensen (WMO) aangenomen die per 1 januari 1999 in werking treedt. Deze WMO voorziet in een Centrale Commissie voor beoordeling van medisch-wetenschappelijk onderzoek, de CeCo. CeCo krijgt door middel van het verlenen van erkenningen een belangrijke taak bij de organisatie van het veld van medisch-wetenschappelijk onderzoek en zal op het gebied van somatische genterapie de toetsing van onderzoeksvoorstellen verrichten. Het ligt in de bedoeling dat de CeCo advies kan inwinnen bij overheidsinstanties betrokken bij de toelating en het toezicht op geneesmiddelen.

Op basis van de Europese richtlijnen 90/219/EEC, Contained use of genetically modified microorganisms en 90/220/EEC, Deliberate release into the environment of genetically modified organisms (GMO), dient er bij productie en gebruik van genetisch gemodificeerde organismen een goedkeuring te worden verkregen van een daartoe aangewezen instantie. Voor de genterapieproducten gaat het hier met name om de virale vectoren die als GMO onder deze regelgeving vallen. Bij ingeperkt gebruik van GMO's (activiteiten met GMO's in laboratoria e.d.) zijn twee vergunningen nodig: een vergunning van de gemeente voor de inrichting op basis van de Wet milieubeheer en een vergunning voor de activiteiten op basis van het Besluit GGO. Voor laatstgenoemde vergunning is in Nederland het ministerie van VROM de aangewezen instantie, onder wiens verantwoordelijkheid het Bureau Genetisch Gemodificeerde Organismen (GGO) van het RIVM de vergunningsaanvragen voorbereidt. Bij introductie in het milieu (bijvoorbeeld bij klinische genterapie veldproeven waarbij virale vectoren worden gebruikt) is per land een nationale vergunning nodig die in Nederland door VROM wordt afgegeven. Een en ander wordt gedaan op basis van richtlijnen en richtsnoeren die zijn opgesteld door een adviescommissie van het ministerie van VROM, de Commissie Genetische Modificatie (COGEM).

Europees beleid

Momenteel worden er binnen het Europees Geneesmiddelen Agentschap (EMA) richtsnoeren voorbereid voor genterapie-geneesmiddelen. De noodzaak om te komen tot Europese richtsnoeren ligt in het feit dat genterapie-geneesmiddelen mogelijk evenals recombinant-DNA geneesmiddelen vallen onder de Europese Commissie Richtlijn 2309/93, die voorschrijft dat de categorie producten waarbij recombinant-DNA technologie wordt gebruikt uitsluitend via de Centrale Europese Registratieprocedure kunnen worden toegelaten. Deze en andere Europese richtlijnen hadden tot voor kort echter geen eenduidige definitie voor een registratieplichtig geneesmiddel voor die producten die worden gebruikt bij *ex vivo* genetisch gemanipuleerde cellen. Ook ten aanzien van het gebruik van monoclonale antilichamen en door middel van recombinant-DNA technieken geproduceerde cytokines bij *ex vivo* celtherapie waren de richtlijnen niet geheel

eenduidig. Een en ander valt te verklaren doordat ten tijde van het opstellen van deze richtlijnen in 1993 er onvoldoende kennis was over gentherapie en celtherapie. Inmiddels is op 22 juli 1998 gepubliceerd een Mededeling van de Commissie over de communautaire procedures voor vergunningen om geneesmiddelen in de handel te brengen (C98/2016). Hierin is onder andere nader toegelicht dat gentherapieproducten vallen onder Verordening 2309/93. Deze Commissie Mededeling licht verder toe dat celtherapieproducten mits industrieel bereid, als geneesmiddel moeten worden beschouwd en in geval van celtherapieproducten verkregen uit een biotechnologisch (d.w.z. met gebruikmaking van r-DNA technieken of monoclonale antilichamen) procédé onder Verordening 2309/93 vallen. In andere gevallen wanneer bijvoorbeeld voor een individuele patiënt *ex vivo* cellen worden gemanipuleerd zonder gebruikmaking van een industrieel proces valt de celtherapie onder geneeskundig handelen (analoog aan transfusie geneeskunde) en is er geen registratieplicht.

Bij een registratieaanvraag van een gentherapieproduct via de centrale Europese procedure zal in het geval van gebruik van een virale vector naast de beoordeling van de kwaliteit, veiligheid en werkzaamheid van het product door het Europese Comité voor Farmaceutische Specialiteiten (CPMP) ook een zgn. Environmental Risk Assessment (ERA) worden gemaakt. Dit gebeurt op basis van de Richtlijn 2309/93 waarin wordt verwezen naar Richtlijn 90/220/EEC 'Introductie in het milieu van GMO's'. Hierbij wordt analoog aan de normale registratieprocedure door een rapporteur een ERA gemaakt die een onderdeel vormt bij de beslissing tot registratie. Het gaat hierbij om een beoordeling van de risico's die het product vormt voor mens en milieu. Deze procedure geldt niet alleen voor gentherapieproducten maar ook voor genetisch gemodificeerde levende vaccins.

Twee werkgroepen (Biotech Working Party en Safety Working Party) van het CPMP werken momenteel aan een richtsnoer voor de kwaliteitsaspecten ('quality guideline') respectievelijk de veiligheidsaspecten ('safety guideline') van gentherapieproducten ten behoeve van de Europese registratieprocedure. De eerstgenoemde betreft een revisie van een sedert 1 juli 1995 van kracht zijnde guideline Gene Therapy Products -Quality aspects in the production of vectors and genetically modified somatic cells (zie Website www.eudra.org), die is vastgesteld voordat de EMEA is opgericht en de start van de Centrale Europese registratieprocedure. Door de voortschrijdende ontwikkeling van gentherapie producten en de laatste kennis op dit gebied blijkt het nodig om de quality guideline aan te passen aan de huidige stand van de wetenschap. Bij het vaststellen van de scope van de nieuwe quality guideline heeft enige discussie plaatsgevonden over de noodzaak om voor de DNA vaccins een aparte guideline op te stellen. Rekening houdend met de definitie voor gentherapie en het feit dat voor de kwaliteitsaspecten de eisen voor de therapeutische gentherapiegeneesmiddelen analoog zijn aan de profylactische gentherapieproducten zal er een quality guideline worden opgesteld met de titel 'Gene Transfer Medicinal Products'.

De guideline zal met name de productie- en controle-aspecten behandelen die betrekking hebben op het gebruik van een vector of van genetisch gemodificeerde somatische cellen. Een aantal aspecten bij de productie van gentherapieproducten is reeds beschreven

in de Europese guideline voor recombinant-DNA producten (Guideline on production and quality control of products derived from rDNA technology). Een verschil in benadering tussen de rDNA-guideline en de gentherapie-guideline ligt in het feit dat bij rDNA producten de onzuiverheid in de vorm van residueel DNA (van de gastheercel dan wel van het plasmide) als een tumorigeen risico wordt beschouwd, terwijl bij gentherapie DNA als werkzaam bestanddeel wordt gebruikt. Aandachtspunten in de gentherapie guideline zijn de productie van de vector, het virale en recombinatierisico bij gebruik van deze vectoren en het risico van mutagenese en van het tot expressie brengen van abnormale eiwitten. Dit laatste aspect verdient extra aandacht bij gentherapie omdat de controle op expressie van een product in de mens minder eenvoudig is dan bij de productie van rDNA eiwitten in een cellijn.

Tot slot

Omdat vooralsnog de ontwikkeling van gentherapie producten niet verder is dan het stadium van klinisch onderzoek en nog geen product voor registratie is aangeboden, is de huidige guideline en de voorziene revisie slechts een afspiegeling van de stand van de wetenschap op dit moment. Gezien de diversiteit en complexiteit van deze nieuwe therapie en de voortschrijdende ontwikkelingen in dit gebied, zal voor een verantwoorde toelating van veilige en werkzame gentherapieproducten veel afhangen van een goede dialoog tussen ontwikkelaars en producenten van deze producten en de betrokken overheidsinstanties.

Referenties

- The Rules Governing Medicinal Products in the European Union,
Volume I. The Rules Governing Medicinal Products for human use in the European Union:
- Council Regulation No 2309/93 of 22 July 1993 laying down Community procedures for the authorization and supervision of medicinal products for human and veterinary use and establishing a European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (OJ No L214 of 24.8.1993)
- Commission Communication C98/2016 on the Community Marketing Authorisation Procedures for Medicinal Products of 22 July 1998
- Council Directive 90/219/EEC of 23 April 1990 on the contained use of genetically modified micro-organisms (OJ No L 117 of 8.5.1990)
- Council Directive 90/220/EEC of 23 April 1990 on the deliberate release into the environment of genetically modified micro-organisms (OJ No L 117 of 8.5.1990)
- The Rules Governing Medicinal Products in the European Union,
Volume II. Guidelines on the Quality, Safety and Efficacy of Medicinal products for Human Use:
- Production and quality control of medicinal products derived by recombinant DNA technology (III/3477/92, date of implementation 1 July 1995)
- Gene therapy product quality aspects in the production of vectors and genetically modified somatic cells (III/5863/93, date of implementation 1 July 1995)
- Environmental risk assessment for human medicinal products containing or consisting of GMOs
Draft Guideline:
- Safety studies for gene therapy products (CPMP/SWP/112/98)
Internet:
<http://dg3.eudra.org/eudralex/index.htm> : DGIII website: o.a. wetgeving en guidelines
<http://www2.eudra.org> : EMEA website: o.a. door CPMP na 1.1.1995 vastgestelde guidelines en concept guidelines

Dr B Gordijn

Bert Gordijn studeerde filosofie en geschiedenis in Utrecht, Straatsburg en Freiburg im Breisgau. In deze laatste stad promoveerde hij eind 1995 in de filosofie op het onderwerp 'theorie over de persoon en personenidentiteit'. Sinds begin 1996 is hij werkzaam bij de Vakgroep Ethiek, Filosofie en Geschiedenis van de Geneeskunde aan de Medische faculteit van de Katholieke Universiteit Nijmegen (KUN). Zijn interessegebieden zijn Ethiek en Genetica, Dierethiek, Euthanasie en Tissue-Engineering. Hij doet onderzoek op verschillende gebieden binnen de bio-ethiek en is lid van diverse commissies en wetenschappelijke verenigingen waaronder de Nederlandse Vereniging van Proefdierkunde, de Nederlandse Vereniging van Ethiek en de European Society for Philosophy of Medicine and Health Care.

ETHISCHE ASPECTEN VAN GENTHERAPIE

Bert Gordijn

Inleiding

In deze bijdrage over de ethische aspecten van genterapie zal na een korte beschrijving van het ethische debat over de somatische genterapie met name ingegaan worden op de binnen de bio-ethiek zich snel ontwikkelende discussie over ethische aspecten van de kiembaangenterapie.

Somatische genterapie

Genterapie beoogt in geval van dragerschap van een ongunstige genetische structuur ofwel een reeds uitgebroken genetische ziekte door een gentechnische interventie in het menselijk lichaam een preventief of therapeutisch effect te bewerkstelligen. Wordt er bij de genterapie geen verandering in de kiembaan bewerkstelligd (waardoor dus de genetische verandering ook niet automatisch op het nageslacht overgebracht wordt) dan spreken we van somatische genterapie. Deze therapie wordt sinds 1990 experimenteel op mensen toegepast. Over de hele wereld zijn momenteel ongeveer 200 tot 250 experimenten met betrekking tot somatische genterapie gepland of al aan de gang (Gezondheidsraad 1997, 36). Nog geen van deze experimenten lijkt tot significante positieve resultaten te hebben geleid (Gezondheidsraad 1997, 37).

De discussie over de ethische aspecten van deze vorm van genterapie is met name in de jaren 70 en 80 gevoerd en richtte zich vooral op het formuleren van de noodzakelijke en voldoende voorwaarden voor het uitvoeren van moreel verantwoord onderzoek. Deze discussie is vrijwel afgelopen. Met betrekking tot somatische genterapie bestaan echter wel degelijk nog steeds andere interessante ethische vragen die reflectie behoeven. In het kader van deze bijdrage kan slechts een drietal vraagstukken worden aangeduid.

(A) Zo wordt bijvoorbeeld door voorstanders van de somatische genterapie ter illustratie van het moreel neutrale karakter van deze therapievorm vaak gewezen op de analogie met de al in brede kringen geaccepteerde praktijk van orgaan-implantatie. Het zou vanuit moreel oogpunt hetzelfde zijn of nu een orgaan geïmplanteerd wordt of genetisch materiaal (als de genetische verandering tenminste niet aan het nageslacht wordt doorgegeven). Wat echter bij deze redenering over het hoofd wordt gezien is het feit dat de praktijk van de orgaan-implantatie vanuit moreel opzicht misschien helemaal niet zo neutraal is als wel wordt aangenomen. In de academische bio-ethiek worden de ethische aspecten van deze praktijk nog steeds bediscussieerd. Bij een meerderheid van de auteurs zijn desalniettemin de morele problemen in dit verband niet van onoverkomelijke aard. Dit zou echter veranderen als door de orgaan-implantatie de persoonlijkheid van de patiënt significant zou worden veranderd zoals dit denkbaar is bij bepaalde vormen van hersenweefselimplantatie. Dit laatste gebied is snel in ontwikkeling en er is dan ook een toenemend aantal publikaties over thema's zoals "hersenweefselimplantatie en personenidentiteit" te constateren. Parallel zou ook de somatische genterapie moreel min-

der neutraal worden als door de genetische verandering grote veranderingen van de persoonlijkheid zouden optreden. De analogie tussen orgaan-implantatie en somatische genterapie kan dus niet goed gebruikt worden om het moreel neutrale karakter van deze laatste therapievorm te staven. Veeleer duidt de analogie erop dat in verband met somatische genterapie bepaalde ethische problemen een rol spelen die ook bij de orgaan-implantatie kunnen optreden.

Een tweede (B) ethisch vraagstuk met betrekking tot somatische genterapie betreft het volgende. Door voorstanders van de somatische genterapie wordt vaak een onderscheid gemaakt tussen de kiembaangenterapie die ethisch problematisch zou zijn en de somatische genterapie die ethisch neutraal zou zijn. Dit is echter misleidend. Een niet te onderschatten probleem dat in het debat over kiembaangenterapie een rol speelt treedt namelijk in het kader van de somatische genterapie eveneens op: namelijk de moeilijkheid te onderscheiden tussen een therapeutische ingreep die in principe corrigerend van aard is en een verbeterende ingreep die een boven het therapeutische uitgaand of hier-naast staand effect beoogt.

In dit kader is de discussie over de doelen van de geneeskunde van belang. Het is de vraag in hoeverre het willen bewerkstelligen van verbeteringen die geen verband houden met therapie zich verdraagt met het normatieve kader waarvan wij zouden willen dat het ten grondslag ligt aan de geneeskunde. Overigens is het conceptueel helemaal niet gemakkelijk een helder onderscheid te maken tussen therapie en verbetering. Begrippen als gezondheid en ziekte zijn nog steeds aan discussie onderhevig. Tenslotte moeten afgezien van deze terminologische vraagstukken ook vragen met betrekking tot eventuele kwalijke gevolgen onder de loep genomen worden. In hoeverre kunnen wij bepalen wat werkelijk verbeteringen zijn? Dit speelt met name voor de meer ingrijpende verbeteringen die op langere termijn onverwachte uitwerkingen kunnen blijken te hebben. Ook moet bij grootscheepse invoering van somatische genetische interventies gedacht worden aan het eventueel ontstaan van vormen van sociale discriminatie van individuen wier eigenschappen niet door genetische ingrepen verbeterd zijn. Het gehele vragencomplex rondom de thematiek van therapie en verbetering speelt zowel binnen de context van de kiembaangenterapie als ook binnen die van de somatische genterapie.

Tot slot noem ik hier een derde vraagstuk (C) dat in het kader van de somatische genterapie de aandacht verdient. Oorspronkelijk is het onderzoek met betrekking tot deze therapievorm met name ontwikkeld en geïntroduceerd ten behoeve van een eventuele toekomstige behandeling van zeldzame monogenetische ziekten. Na een klein tiental jaren van experimenten ten behoeve van de verdere ontwikkeling van technieken van somatische genterapie is echter duidelijk te constateren dat de meerderheid van het onderzoek zich ondertussen richt op problemen rondom kanker. Te bedenken is dat een groot deel van het onderzoek door het bedrijfsleven gefinancierd wordt en onderzoek naar somatische genterapie ter behandeling van kanker vanuit financieel oogpunt natuurlijk een interessantere aangelegenheid is dan overéénkomstig onderzoek in verband met zeldzame monogenetische ziekten. In dit kader wordt dus de vraag relevant in hoeverre de overheid nu de morele plicht heeft juist het onderzoek naar deze laatste aandoeningen te stimuleren.

Kiambaangetherapie

Sinds ongeveer tien jaar wordt er binnen de academische bio-ethiek ook een intensieve discussie gevoerd over de ethische aspecten van de zogenoemde kiambaangetherapie. Het doel van deze nu nog niet bestaande maar slechts theoretisch mogelijke therapie zou bestaan in het teweegbrengen van genetische veranderingen in de kiembaan van een individu om een genetische ziekte te bestrijden of te voorkomen. Deze genetische verandering zou dus aan het nageslacht worden doorgegeven. Hiertoe wordt ofwel aan het begin van de kiembaan, bij de bevruchte eicel (de zygote) of het pre-embryo (in een twee- tot achtcellig stadium waarin de afzonderlijke cellen nog totipotent zijn), dan wel bij de gameet aan het eind van de kiembaan een genetische verandering bewerkstelligd. Gentechnische interventies aan de kiembaan zijn tot nu toe uitsluitend bij dieren ondernomen.

Toch is het belangrijk om de thematiek van de gentechnische interventies aan de kiembaan bij mensen nu al vanuit ethisch perspectief te analyseren. Ten eerste is het van belang prospectief, dat wil zeggen nog voor de eventuele toepassing van bepaalde technieken of zelfs hun experimentele fase, over de ethische aspecten na te denken. Een kritische analyse vooraf is in het bijzonder dringend noodzakelijk wanneer de toepassing van de techniek zulke verstrekkende gevolgen voor mens en maatschappij heeft zoals dat bij de toepassing van kiambaangetherapie het geval zou kunnen zijn.

Ten tweede is het juist in het geval van kiambaangetherapie van belang om een internationale discussie over de ethische aspecten en de mogelijke gevolgen van haar gebruik te entameren zodat men kan komen tot gemeenschappelijke afspraken en regulering omtrent modaliteiten van gebruik of niet-gebruik. Als de kiambaangetherapie namelijk in één bepaald land is ingevoerd zullen de gevolgen principieel niet tot dit éne land te beperken zijn. Door huwelijk, emigratie, sekstoerisme, etc. zal op den duur met grote zekerheid de genpool van de bevolking van dit éne land met die van de rest van de wereld vermengd worden (vgl. Macer 1994, 244).

Ten derde is het taboe met betrekking tot gentechnische ingrepen in de menselijke kiembaan langzaam geweken voor een toenemende bereidheid over deze zaak na te denken. Een groeiend aantal auteurs houdt zich nu met dit debat bezig. Geconfronteerd worden met dit zich snel ontwikkelende debat en zich afzijdig houden zou betekenen dat men ervoor kiest hierop ook geen enkele invloed uit te oefenen.

Tenslotte wordt er in toenemende mate preïmplantatie genetische diagnostiek in het kader van een IVF (in vitro fertilisatie) -behandeling uitgevoerd. Met de voortgang van het humane genoom project is te verwachten dat in de nabije toekomst steeds meer diagnostische genetische tests zullen worden ontwikkeld. Het is zeer wel denkbaar dat ouders in de toekomst bij een ongunstig uitvallende pre-ïmplantatie-diagnose de wens uiten het embryo niet op te geven maar het kiambaangetherapeutisch te laten behandelen (vgl. Walters 1991, 118 en Fletcher & Anderson 1992, 36, voor verdere redenen voor een debat over kiambaangetherapie).

Bij de ethische analyse van gentechnische interventies in de menselijke kiembaan zijn de volgende drie fundamentele vragen te onderscheiden (zie Birnbacher 1994, 217).

- Is het ethisch te rechtvaardigen om op basis van onze huidige microbiologische kennis gentechnische interventies in de menselijke kiembaan uit te voeren?
- Is de doorvoering van experimenten die erop gericht zijn een toereikende zekerheid

(dat wil zeggen acceptabele medische risico's) in de uitvoering van gentechnische interventies in de menselijke kiembaan te bereiken ethisch te rechtvaardigen?

- Zouden gentechnische interventies in de menselijke kiembaan ethisch te rechtvaardigen zijn als ze reeds met toereikende zekerheid uitgevoerd zouden kunnen worden?

De eerste vraag wordt in het algemeen negatief beantwoord, omdat er tot nu toe nog geen technieken voor gentechnische interventies in de menselijke kiembaan bestaan die reeds met toereikende zekerheid, dat wil zeggen met acceptabele risico's, uitgevoerd zouden kunnen worden (vgl. Birnbacher 1994, 217). Het antwoord op de tweede vraag hangt op een interessante manier samen met de beantwoording van de derde vraag. Zou namelijk ook in het geval van toereikende zekerheid en acceptabele risico's van kiembaangetherapie haar toepassing op grond van ethische overwegingen niet te rechtvaardigen zijn, dan zou ook de uitvoering van experimenten met het doel om de techniek zo te perfectioneren opdat ze met toereikende zekerheid uitgevoerd kan worden uit ethisch oogpunt niet verantwoord kunnen worden. Is daarentegen het antwoord op de derde vraag positief, dan kan de tweede vraag niet automatisch negatief beantwoord worden en ligt het voor de hand over deze vraag serieus na te denken. Uit de positieve beantwoording van de derde vraag volgt niet automatisch een affirmerend antwoord op de tweede vraag. Ook als het onder de conditie van voldoende zekerheid moreel te rechtvaardigen zou zijn om kiembaangetherapie uit te voeren zou tegen het doen van experimenten die gericht zijn op het ontwikkelen van genetische kiembaan interventietechnieken met voldoende zekerheid bijvoorbeeld kunnen spreken, dat hierbij een grote hoeveelheid aan menselijke embryo's verloren zou gaan.

Omdat de beantwoording van de tweede vraag op de beschreven manier met de beantwoording van de derde vraag samenhangt is het uit denkeconomisch perspectief aantrekkelijk de analyse van de ethische aspecten van kiembaangetherapie te beginnen met een reflectie op de argumenten voor en tegen met betrekking tot de beantwoording van de derde vraag. Hierbij ga ik dus van de contrafaktische hypothese uit dat de risico's van gentechnische interventies in de menselijke kiembaan acceptabel zijn.

In mijn overzicht van het debat over de kiembaangetherapie maak ik een binnen de ethiek gebruikelijk onderscheid tussen deontologische en consequentiaalistische argumenten. De laatsten richten zich met name op veronderstelde kwalijke of juist gewenste gevolgen van de te bediscussiëren handelingen (in dit geval: de toepassing van gentechnische kiembaaninterventies bij veronderstelde acceptabele risico's) terwijl de eerste zich onafhankelijk van de eventuele gevolgen van handelingen op hun correspondentie met bepaalde normen, handelingsaanwijzingen in de vorm van ge- of verboden, concentreren. Op die manier ontstaan vier categorieën van argumenten, te weten deontologische argumenten pro en contra alsmede consequentiaalistische argumenten pro en contra. Van elke categorie wordt onderstaand één argument als voorbeeld wat nader uitgewerkt.

Consequentiaalistisch: met betrekking tot gevolgen

Contrafaktisch: tegen feiten ingaand

Deontologisch: met betrekking tot plichten

Deontologische argumenten pro

In het debat over de ethische aspecten van kiembaangetherapie zijn er slechts twee belangrijke deontologische argumenten voor deze vorm van getherapie naar voren gebracht. Het éne refereert aan het respect voor de ouderlijke autonomie: Aan de ouders zou de vrije beslissing over het wel of niet toepassen van kiembaangetherapie overgelaten moeten worden om de gezondheid van hun kinderen te garanderen (zie voor discussie Birnbacher 1994, 216, Juengst 1991, 590, Nolan 1991, 616f en Zimmerman 1991, 597). Het andere argument wil ik iets uitvoeriger behandelen.

Het is het argument van de medische plicht. Het houdt in dat artsen de morele plicht hebben om de beste ter beschikking staande therapieën in te zetten om ziekten te bestrijden ofwel te voorkomen (zie voor discussie Zimmerman 1991, 596). In sommige gevallen van genetische ziekte zal het nooit mogelijk zijn de ziekte via somatische getherapie te bestrijden omdat bijvoorbeeld de voor de desbetreffende ziekte specifieke plaats van bestemming in het lichaam waar het ingesluisde genetische materiaal zijn werk zou moeten doen bij een reeds uitgegroeid en gedifferentieerd organisme niet meer bereikbaar is. De enige mogelijkheid die dan rest is een genetische verandering te laten plaatsvinden in een embryologisch stadium waarin nog geen differentiatie van cellen heeft plaats gehad. Als de cellen nog totipotent zijn zullen genetische veranderingen die in die cellen aangebracht zijn door de celdeling automatisch over het hele lichaam verspreid worden. De ingebrachte genen komen zo dus vanzelf ook op de plaats waar ze hun heilzame werking zullen hebben. Bij bepaalde ernstige genetische aandoeningen is de kiembaangetherapie dus waarschijnlijk de enige behandelingsmogelijkheid. Bij dit soort aandoeningen zou de kiembaangetherapie ingezet moeten worden (vgl. Zimmerman 1991, 596).

Met betrekking tot dit argument dat zich beroept op de medische plicht zou nu als kritiek naar voren gebracht kunnen worden dat de kiembaangetherapie in geval van een ernstige genetische aandoening nooit als enige oplossing gezien zou kunnen worden. Er zouden altijd nog alternatieve mogelijkheden als prenatale diagnostiek en preïmplantatie diagnostiek bestaan die het probleem met gelijke effectiviteit tegemoet zouden treden. Het is echter de vraag of deze diagnostische mogelijkheden inderdaad als gelijkwaardige alternatieven gezien kunnen worden. Als in de besproken gevallen de kiembaangetherapie wordt toegepast dan maakt men het embryo gezond en spaart men zijn leven. Volgens de genoemde alternatieve methoden zou het embryo na een ongunstige diagnose eenvoudigweg vernietigd worden. In gevallen waarin dus de toepassing van kiembaangetherapie de enige manier is om genezing of preventie van ernstige genetische aandoeningen te bereiken lijkt dus inderdaad een prima facie plicht tot behandelen te bestaan.

Deontologische argumenten contra

Er zijn beduidend meer deontologische argumenten tegen dan voor kiembaangetherapie. Ik noem de belangrijkste in het kort en behandel er dan één wat uitvoeriger. Eén deontologische argument tegen gaat in op de ontbrekende toestemming van toekomstige generaties. Daar kiembaangetherapie in principe zwaarwegende gevolgen kan hebben voor het nageslacht van de mensen die de therapie ondergaan, deze echter geen

toestemming kunnen geven voor die therapie, is het moreel verwerpelijk kiembaangetherapie uit te voeren (zie voor discussie Juengst 1991, 590, Lappé 1991, 630, Moseley 1991, 642f en Munson & Davis 1992, 143). Een ander argument houdt in dat door kiembaangetherapie de identiteit van de persoon verandert, wat als een kwalijke zaak wordt beschouwd (zie voor discussie Holtung & Sandoe 1996 en Enquetekommission des Dt. Bundestages 1988, 258). Een derde in de Europese discussie zeer invloedrijk argument tegen kiembaangetherapie stelt dat het de menselijke waardigheid schendt (zie voor discussie Birnbacher 1994, 219f, Enquetekommission des Dt. Bundestages 1988, 257 en Munson & Davis 1992, 142). Ook wordt wel naar voren gebracht dat het toepassen van kiembaangetherapie inhoudt dat men voor God gaat spelen. De mens zou het recht niet hebben om de door goddelijke macht geschapen natuur op die manier genetisch te veranderen dat deze verandering ook aan het nageslacht doorgegeven zou worden (zie voor discussie Fletcher & Anderson 1992, 26f, Bayertz 1991, 309ff, Engelhardt 1987, 256f, Keenan 1990, 290f, Lappé 1991, 636, Munson & Davis 1992, 152f en Peters 1991). Een variant op dit laatste argument refereert niet aan God maar aan de evolutie. De mens zou het recht niet hebben om de als producten van de evolutie in de loop van lange tijden uiteindelijk ontstane structuren en orde van de natuur op zo een manier genetisch te veranderen, dat deze verandering ook aan het nageslacht doorgegeven zou worden (zie voor discussie Fletcher & Anderson 1992, 27, Engelhardt 1987, 257ff Lünshof 1994, 285f, Moseley 1991, 644 en Munson & Davis 1992, 152f.). Voorts is er een argument dat inhoudt dat de voor de preïmplantatie-diagnose van genetische ziekten (die aan een kiembaangetherapie bij de zygote of het pre-embryo vooraf zou moeten gaan) noodzakelijke vernietiging van embryo's tegen de uitoefening van kiembaangetherapie spreekt (zie voor discussie Lappé 1991, 628, Nolan 1991, 615f en Temple 1990, 350). Dit laatste argument zou natuurlijk niet opgaan voor veranderingen aan gameten. Tot slot noem ik het argument dat refereert aan een recht op niet gemanipuleerd erfelijk materiaal dat mensen zouden hebben en waarop de uitoefening van kiembaangetherapie inbreuk zou maken (zie voor discussie Birnbacher 1994, 218, Mauron & Trevoz 1991, 654, Munson & Davis 1992, 141ff, De Wachter 1993, 174, Juengst 1991, 590 en Nolan 1991, 617f.). Dit argument presenter ik wat uitgebreider.

Het is nog maar de vraag of mensen inderdaad het recht hebben geboren te worden zonder dat hun genoom op de één of andere manier veranderd is. Van beslissende betekenis is de invulling die aan het begrip 'recht' gegeven wordt. Naar mijn opvatting bezit een individu dan en slechts dan een recht wanneer het een door de maatschappij verdedigd belang heeft en dit via bepaalde maatschappelijke structuren kan behartigen. De maatschappij zal slechts dan een individu helpen bij zijn belangenbehartiging als zij in dat belang een waarde herkent. De mogelijkheid van behartiging van het belang impliceert wederom plichten en verboden voor derden. Als de maatschappij in bepaalde belangen een waarde onderkent zal zij het op zich nemen de behartiging van deze belangen voortaan te verdedigen. Toepassing van deze opvatting van recht op de vraag of een recht op een niet-gemanipuleerd genoom bestaat levert het volgende op: het is niet zeker of de premisse waarop het argument steunt waar is, namelijk dat het in principe een positieve waarde heeft geboren te worden met een genoom dat niet bewust door mensen

veranderd is. Dientengevolge is het nog maar de vraag of hier inderdaad van een recht op een niet gemanipuleerd genoom gesproken kan worden. Sterker nog: de natuur is lang niet altijd mild en welwillend. Zo is niet in te zien hoe er een positieve waarde ontdekt kan worden in het feit dat iemand met Chorea Huntington of cystische fibrose geboren werd met een niet bewust door mensen veranderd genoom terwijl door een kiembaan ingreep de genetische ziekte voorkomen had kunnen worden. Het lijkt niet gemakkelijk om in de door het onveranderde genoom veroorzaakte ziekten een positieve waarde te herkennen, iets waarop de mensen een 'recht' hebben.

Consequentialistische argumenten pro

In het debat speelt een klein aantal consequentialistische argumenten voor kiembaangetherapie een rol. Zo is er het argument van de medische noodzaak dat inhoudt dat de toepassing van kiembaangetherapie medisch noodzakelijk is in die gevallen waarin er geen andere effectieve technieken ter behandeling van de genetische ziekte ter beschikking is (zie voor discussie Fowler et al. 1989, 154f, Juengst 1991, 589, Nolan 1991, 614 en Zimmerman 1991, 597). Wordt in dit soort gevallen de kiembaangetherapie niet ingezet dan zijn de gevolgen ongunstig. Een ander argument stelt dat er door kiembaangetherapie eugenetische effecten kunnen worden bewerkstelligd (die dus over het puur therapeutisch effect heengaan) die uiterst welkom zijn (zie voor discussie Engelhardt 1987, 260f.). De mogelijkheid van eugenetische toepassing van kiembaan interventies wordt door de meeste auteurs echter juist als groot nadeel van de kiembaangetherapie gezien (zie voor verdere analyse de behandeling van het argument van het hellend vlak).

Tot slot wordt als consequentialistisch argument voor kiembaangetherapie ook de preventieve werking naar voren gebracht. Gentechnische interventies in de menselijke kiembaan zouden de noodzakelijkheid om bij iedere nieuwe generatie somatische getherapie - of als dit niet mogelijk mocht zijn een symptoombehandeling - uit te voeren overbodig maken wat uit het oogpunt van efficiëntie gunstig is (zie voor discussie Engelhardt 1987, 259, Fowler et al. 1989, 154, Zimmerman 1991, 597f, Juengst 1991, 589, Mauron & Thévoz 1991, 657). Door een kiembaan ingreep kan inderdaad de transfer van ongewenste genetische constellaties aan latere generaties voorkomen worden. Gebeurt dit niet dan moet of somatische getherapie of symptoombehandeling bij iedere generatie plaatsvinden. Er kan echter als tweede mogelijkheid ook preïmplantatie diagnostiek plaatsvinden met daaropvolgende selectieve implantatie van goedgekeurde vruchten respectievelijk niet-implantatie van pre-embryo's met een als ongunstig beschouwde genetische constitutie. Beide alternatieven voor de toepassing van kiembaangetherapie worden in het genoemde argument impliciet als negatief gezien. Voor de nadere analyse en met name de vergelijking van kiembaangetherapie en de genoemde alternatieven zijn de volgende drie punten belangrijk: de risico's, de kosten en de belasting van de behandeling.

Voor wat betreft de risico's zijn we er in deze analyse als hypothese van uit gegaan dat deze met betrekking tot de kiembaangetherapie acceptabel zijn. In een situatie waarin dat het geval is, lijkt het zeer aannemelijk dat ook de risico's van de somatische genthe-

rapie en preïmplantatie diagnostiek niet onacceptabel groot zullen zijn. Er is dus geen reden om aan te nemen dat tussen beide vormen van behandeling voor wat betreft de risico's significante verschillen zijn.

Een vergelijking van de kosten valt anders uit. Het zou zo kunnen zijn dat de kosten van de kiembaangetherapie op zich hoger zijn dan die van een somatische therapie en/of van symptoombehandeling of preïmplantatie diagnostiek. Zodra echter in de inschatting van de kosten verdisconteerd wordt dat de kiembaaningreep slechts bij één generatie plaats hoeft te vinden terwijl somatische therapie en/of symptoombehandelingen en preïmplantatie diagnostiek bij elke generatie steeds weer opnieuw noodzakelijk zullen zijn, is het evident dat kiembaaningrepen op den duur toch voordeliger zijn.

Voor wat betreft het derde punt van vergelijking, de belasting van de behandeling, is het van belang te bedenken dat de kiembaangetherapie ofwel plaats vindt bij de gameten of bij het pre-embryo. Van belasting van de behandeling in termen van een 'bewust als belastend ervaren worden' door degene die de behandeling ondergaat kan in deze ontwikkelingsstadia nog geen sprake zijn. Met betrekking tot de somatische getherapie en de symptoombehandeling, waarvan in de meeste gevallen pas na de geboorte sprake is, ligt dit anders. Bij deze twee vormen van behandeling van genetische ziekten is in de meeste gevallen sprake van een reële belasting. De kiembaangetherapie zal dus zeker minder belastend zijn voor degene die haar ondergaat dan de somatische getherapie of behandelingen ter bestrijding van symptomen. Als wederom de belasting van de behandeling van kiembaangetherapie met die van preïmplantatie-diagnostiek vergeleken wordt dan blijkt dat die per behandeling gelijk is - niet voor de vrucht zelf maar voor de vrouw die moeder wenst te worden. In beide gevallen is sprake van een IVF-behandeling die in principe een behoorlijke belasting inhoudt. Daar nu echter dit soort behandelingen in geval van kiembaaningrepen niet elke generatie opnieuw plaats hoeven te vinden zal ook hier de kiembaangetherapie op dit punt als voordeliger gezien kunnen worden.

Een moreel bezwaar tegen de preïmplantatie diagnostiek met een daaropvolgende selectie van pre-embryo's zou kunnen inhouden dat hierbij een vernietiging van pre-embryo's plaatsvindt. Daar dit echter ook al bij de voor het toepassen van kiembaangetherapie noodzakelijke preïmplantatie diagnostiek een rol speelt, is dit bezwaar (bij de vergelijking van de twee behandelmethoden) twijfelachtig. Hoogstens zou gesteld kunnen worden dat bij kiembaangetherapie minder pre-embryo's vernietigd worden omdat hier alleen ten behoeve van de diagnose een totipotente cel word vernietigd en niet ook nog eens de vrucht als blijkt dat deze een genetisch onvoordelige structuur bezit.

De twee alternatieven voor kiembaangetherapie, te weten aan de éne kant somatische getherapie ofwel symptoombestrijding en aan de andere kant preïmplantatie diagnostiek met een daaropvolgende selectie van pre-embryo's zijn inderdaad zoals in het argument wordt verondersteld als negatief te beschouwen in de vergelijking met kiembaangetherapie. Daarom kan dit argument dat refereert aan de preventieve werking van kiembaangetherapie als steekhoudend beoordeeld worden.

Consequentialistische argumenten contra

Tot slot volgt hier een aantal consequentialistische argumenten tegen kiembaangetherapie. Het eerste argument houdt in dat kiembaangetherapie waarschijnlijk altijd te duur zal blijven voor praktische toepassing. Volgens dit argument zullen alternatieve behandelingsmethoden financieel voordeliger zijn (zie voor discussie Juengst 1991, 590 en Zimmerman 1991, 607f.). Een ander argument stelt dat kiembaangetherapie in feite overbodig is, omdat het probleem van ernstige erfelijke ziekten ook via preïmplantatie diagnostiek en daaropvolgende selectieve niet-implantatie opgelost kan worden (zie voor discussie Berger & Gert 1991, 680, Fowler et al. 1989, 157 en Zimmerman 1991, 594 en 605). Een derde veel gebruikt argument richt de aandacht op de variëteit van de genpool die door de wijdverbreide toepassing van gentechnische interventies in de kiembaan geringer zou worden met alle eventuele nadelige gevolgen van dien (zie voor discussie Berger & Gert 1991, 675ff en Lappé 1991). Voorts is er het argument dat de gevaren van sociale discriminatie van niet kiembaangetherapeutisch behandelde mensen of hun ouders benadrukt (zie voor discussie Menson & Davis 1992, 145f, Anderson 1990, 24 en Peters 1991, 371ff.).

Tot slot behandel ik het argument van het hellend vlak wat uitvoeriger. Dit houdt in dat de toepassing van de kiembaangetherapie met therapeutische doelen uiteindelijk met grote waarschijnlijkheid zal voeren tot een ethisch verwerpelijke praktijk van gentechnische ingrepen in de kiembaan ten behoeve van eugenetische doeleinden (zie voor discussie Birnbacher 1994, 218, Berger & Gert 1991, 674f, Mauron & Thévoz 1991, 655ff en Peters 1991, 370f.).

Het is problematisch tussen gentechnische ingrepen ter preventie van ziekten en die ter verbetering van bepaalde eigenschappen een éénduidige grens te trekken: tussen beide mogelijkheden bestaat een grijs gebied met een continuüm van schakeringen. Hiermee in verband staat de onduidelijkheid van het ziektebegrip en het gezondheidsbegrip. Er bestaat geen heldere eenduidige en algemeen aangehangen theorie omtrent welke toestand van de mens nog als gezond en daarmee niet te corrigeren en welke toestand daarentegen als ziek en dus te corrigeren gezien kan worden (zie voor discussie over dit probleem Juengst 1997, Bayertz 1991, 304, Fletcher 1991, 242 en Krimsky 1990, 172f.). Daarom zal volgens diegenen die het argument van het hellend vlak naar voren brengen een adequate regulering van en beperking tot de inzet van gentechnische interventies in de kiembaan ten behoeve van preventie van ziekte of het terugbrengen van de gezondheid niet mogelijk zijn.

Voor de beoordeling van dit argument kan men zich afvragen of een praktijk waarin kiembaan interventies ingezet worden met eugenetische doelen werkelijk als negatief te beoordelen is. De mogelijke effecten van de inzet van technieken om ingrepen in de kiembaan door te voeren kunnen onderscheiden worden in effecten op individueel en effecten op maatschappelijk niveau. Op individueel niveau doet zich met betrekking tot het doorvoeren van verbeteringen het probleem voor dat het niet gemakkelijk te bepalen is welke genetische verandering werkelijk een verbetering zal blijken te zijn en welke op langere termijn overwegend schadelijke effecten zal sorteren. Van veel prima facie verbeteringen - bijvoorbeeld verhoging van de intelligentie of een verbeterd lange termijn geheugen - is voorstelbaar dat ze onverwachte schadelijke neveneffecten kunnen hebben, zeker wanneer omstandigheden veranderen.

Op maatschappelijk niveau zijn veel kwalijke gevolgen van een eugenetische toepassing van kiembaan-interventies voorstelbaar. Bijvoorbeeld zouden bepaalde maatschappelijke groepen steeds meer gemarginaliseerd kunnen gaan worden. Na verloop van tijd zou er een ontwikkeling op gang kunnen komen, waardoor bij de bevolking een toenemende druk gevoeld zou worden om via kiembaan interventies bepaalde eigenschappen te verwerven die volgens de heersende maatschappelijke normen te prefereren zijn. Individuen of groepen mensen die deze gewaardeerde eigenschappen nog niet bezitten zouden steeds meer naar de rand van de maatschappij gedrukt kunnen worden. Zo zouden in dit scenario op den duur twee klassen kunnen ontstaan, te weten die van mensen die via kiembaan-interventies over allerlei verbeterde eigenschappen beschikken en die van individuen die, om wat voor reden dan ook, geen verbeteringen hebben ondergaan (vgl. Munson & Davis 1992, 145 en Peters 1991, 372).

Een ander in de discussie vaak naar voren gebracht argument is dat een grootscheepse invoering van ingrepen in de kiembaan ter verbetering van eigenschappen de mogelijkheid van machtsmisbruik in zich draagt. Het is te vrezen dat eugenetische toepassing van de techniek juist ook in dictaturen niet oninteressant zou kunnen zijn. Bijvoorbeeld zouden dictators kunnen pogen met behulp van deze techniek elitelegers of denktanks te creëren om zo op de een of andere manier hun macht te continueren of verder te vergroten. Ter relativering van dit gevaar kan men echter aanvoeren dat er ondertussen al lang goedkopere, efficiëntere en vooral sneller resultaat opleverende methoden zijn van machtsuitoefening en -vergroting zoals dreigen met straffen, terreur, gedwongen abortus en verplichte sterilisatie. (zie Birnbacher 1994, 218).

Grosso modo is de bovenstaande vraag of een situatie waarin kiembaan-interventies grootscheeps ter verbetering van eigenschappen worden doorgevoerd als negatief kan worden beschouwd niet makkelijk te beantwoorden: het is echter niet onwaarschijnlijk dat er allerlei ongunstige gevolgen optreden. Het blijft desalniettemin een open vraag in hoeverre het ook waarschijnlijk is dat door de invoering van kiembaangetherapie op den duur een eugenetische toepassing van deze technieken zal ontstaan. Het argument van het hellend vlak heeft dus, omdat zij zinspeelt op een waarschijnlijk geachte toekomst, een speculatief aspect.

Conclusie

De schets van de ethische vragen rondom somatische en kiembaan-getherapie en de presentatie van enige argumenten in verband met deze laatste nu nog slechts theoretisch mogelijke therapievorm tonen aan dat de ethische discussie volop in ontwikkeling is. Voor de somatische getherapie geldt dat, hoewel hier belangrijke vragen rondom ethische aspecten van het doen van experimenten met mensen uitgebreid bediscussieerd zijn, een aantal andere vragen meer samenhangend met de eventuele toekomstige klinische toepassing van de ontwikkelde technieken misschien zelfs nog relevanter geworden is. De discussie over de ethische aspecten van kiembaan-getherapie is nog lang niet afgesloten. In het kader van deze bijdrage kon slechts een indruk gegeven worden van dit debat en de veelheid van argumenten die hier naar voren gebracht worden. Behandeld werden deontologische en consequentialistische argumenten voor en tegen de toepassing

van kiembaan interventie technieken waarbij van de contrafaktische hypothese werd uitgegaan dat de medische risico's aanvaardbaar zouden zijn. Omdat de aangenomen situatie fictief is kan het geheel als een gedachtenexperiment worden beschouwd. Nader onderzoek van de in het debat naar voren gebrachte argumenten toont echter aan dat het ook in deze fictieve situatie (acceptabele risico's) moeilijk is een éénduidig positief standpunt omtrent de morele aanvaardbaarheid van de toepassing van kiembaangetherapie te formuleren en te beargumenteren. Zolang het echter niet mogelijk is op overtuigende wijze de morele aanvaardbaarheid van de toepassing van kiembaangetherapie onder ideale omstandigheden aan te tonen kan ook het uitvoeren van experimenten ter verdere ontwikkeling en perfectionering van de kiembaan interventie technieken niet moreel verantwoord worden. Bij dit soort experimenten zal namelijk een aanzienlijke hoeveelheid menselijke embryo's worden opgeofferd. Ook de risico's voor de eerste na een kiembaan verandering geboren mensen zullen niet goed inschatbaar zijn. Deze mensen en hun nageslacht zullen waarschijnlijk hun hele leven proefkonijn blijven. Als men deze risico's accepteert om de techniek van kiembaangetherapie te perfectioneren in de richting van acceptabele risico's, moet er ter rechtvaardiging wel een helder en overtuigend standpunt zijn dat inhoudt dat de toepassing van dit soort technieken onder de voorwaarde van acceptabele risico's moreel aanvaardbaar is. Zo'n standpunt ontbreekt tot nu toe. Daarom kan het vanuit ethisch opzicht niet gerechtvaardigd worden om experimenten te doen ten behoeve van het ontwikkelen en perfectioneren van voldoende zekere technieken voor kiembaangetherapie.

Referenties

- Anderson WF. Genetics and Human Malleability. Hastings Center Report 20: 21-24 (1990)
- Bayertz K. Drei Typen genetischer Argumentation. Sass HM (Hrsg.), Genomanalyse und Getherapie - Ethische Herausforderungen in der Humanmedizin. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio, Barcelona: 291-316 (1991)
- Berger EM, Gert BM. Genetic Disorders and the Ethical Status of Germ-Line Gene Therapy. Journal of Medicine and Philosophy 16: 667-683 (1991)
- Birnbacher D. Genomanalyse und Getherapie. Medizin und Ethik, Sass, H M (Hrsg.) 212-231 (1994)
- De Wachter MAM. Ethical Aspects of Human Germ-line Gene Therapy. Bioethics 2/3: 166-177 (1993)
- Eijk WJ. The Ethical Problems of Genetic Engineering of Human Beings (dissertatie), Kerkrade (1990)
- Engelhardt HT. Getherapie an menschlichen Keimzellen: Kann und soll die "Schöne neue Welt" verhindert werden? Braun V, Mieth D, Steigleder K (Hrsg.) Gentechnologie. Chancen und Risiken. Ethische und rechtliche Fragen der Gentechnologie und der Reproduktionsmedizin. J Schweizer Verlag München: 255-262 (1987)
- Enquetekommission des Deutschen Bundestages. A Report from Germany. Bioethics 2 3: 254-263 (1988)
- Fletcher JC Ethische Diskussion der Getherapie am Menschen. Genomanalyse und Getherapie, ethische Herausforderungen in der Humanmedizin. Sass, HM (Hrsg.), Berlin Heidelberg: 240-291 (1991)
- Fletcher JC, Anderson JC Germ-Line Gene Therapy: A New Stage of Debate. Law, Medicine & Health Care 20 (1-2): 26-39 (1992)
- Fowler G, Juengst ET, Zimmerman BK Germ-Line Gene Therapy and the Clinical Ethos of Medical Genetics. Theoretical Medicine 10(2): 151-165 (1989)
- Forbes EL. Pico's Oration of the Dignity of Man Journal of the History of Ideas: 3: 347-354 (1942)
- Gezondheidsraad: Commissie Getherapie. Getherapie. Rijswijk: Gezondheidsraad; publicatie nr 12 (1997)
- Gordijn B. Die Person und die Unbestimmbarkeit ihrer Grenzen. Eine grundlegende Kritik an der Debatte über Personenidentität. Peter Lang, Frankfurt a. M., Bern, New York, Paris, Wien (1996)
- Holtung N, Sandøe P. Who Benefits? Why Personal Identity Does Not Matter in a Moral Evaluation of Germ-line Gene Therapy. Journal of Applied Philosophy 13 (2): 157-166 (1996)

- Juengst ET. Germ-Line Gene Thereapy: Back to Basics. *Journal of Medicine and Philosophy* 16: 586-592 (1991)
- Juengst ET. Can Enhancement be distinguished from Prevention in Genetic Medicine? *Journal of Medicine and Philosophy* 22: 125-142 (1997)
- Jonas H. *Technik, Medizin und Ethik. Zur Praxis des Prinzips Verantwortung*. Frankfurt a. M. (1985)
- Keenan JF. What is morally new in Genetic Manipulation? *Human Gene Therapy* 1: 289-298 (1990)
- Krinsky S. Human Gene Therapy: Must we know where to stop before we start? *Human Gene Therapy* 1: 171-173 (1990)
- Lappé M. Ethical Issues in Manipulating the Human Germ Line. *Journal of Medicine and Philosophy* 16: 621-639 (1991)
- Lünshof JE. Keimbahnmodifikation - Was spricht dagegen? Fischer E P, Geiffler E (Hrsg.) *Wieviel Genetik braucht der Mensch? Die alten Träume der Genetiker und ihre heutigen Methoden*. Universitätsverlag Konstanz: 281-288 (1994)
- Macer D. Universal Bioethics and the Human Germ-Line. *Politics and the Life Sciences* Aug.: 243-245 (1994)
- Mauron A, Trevoz JM. Germ-line Engineering: A Few European Voices. *Journal of Medicine and Philosophy* 16: 649-666 (1991)
- Moseley R. Commentary: Maintaining the Somatic/ Germ-Line Distinction: Some Ethical Drawbacks. *Journal of Medicine and Philosophy* 16: 641-647 (1991)
- Munson R, Davis LH. Germ-line Gene Therapy and the Medical Imperative. *Kennedy Institute of Ethics Journal* 2 (2): 137-158 (1992)
- Nolan K. Commentary: How do We think about the Ethics of Human Germ-line Genetic Therapy? *Journal of Medicine and Philosophy* 16: 613-619 (1991)
- Peters T. "Playing God" and Germline Intervention. *Journal of Medicine and Philosophy* 16: 365-386 (1991)
- Temple MJ. An Ethical Analysis of Gene Therapy as Molecular Surgery. *The Biology of Hematopoiesis*: 347-353 (1990)
- Walters L. Human Gene Therapy: Ethics and Public Policy. *Human Gene Therapy* 2: 115-122 (1991)
- Zimmerman BK. Human Germ-Line Thereapy: The Case for its Development and Use. *Journal of Medicine and Philosophy* 16: 593-612 (1991)