

19 oktober 2007

ONTWERPBESLUIT RBD0203(L05)

Gelet op

- de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren, alsmede op het Besluit biotechnologie bij dieren en de Regeling vergunning biotechnologie bij dieren;
- de aanvraag van het Academisch Ziekenhuis Leiden te Leiden van 2 augustus 2007 met de aanvulling hierop van 12 september 2007;
- het advies van de Commissie biotechnologie bij dieren uitgebracht op 10 oktober 2007, kenmerk CBD/07.214/RT.

Gelet op de feiten en overwegingen als opgenomen in bijlage I bij deze beschikking,

BESLUIT:

1. Een vergunning als bedoeld in artikel 66, eerste lid, onderdelen a en b, van de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren wordt verleend aan het Academisch Ziekenhuis Leiden te Leiden.
2. De vergunning wordt verleend voor de werkzaamheden omschreven in beperking 2 en zoals omschreven in de aanvraag van het Academisch Ziekenhuis Leiden te Leiden van 2 augustus 2007 met de aanvulling hierop van 12 september 2007, met inachtneming van de in deze vergunning opgenomen voorschriften en beperkingen.

Beperking 1

De biotechnologische handelingen mogen uitsluitend plaatsvinden in het LUMC gebouw 2, Eindhovenweg 20 te Leiden.

Beperking 2

1. De onderhavige vergunning heeft uitsluitend betrekking op het navolgende, zoals beschreven in de aanvraag van 2 augustus 2007 met de aanvulling hierop van 12 september 2007 van het Academisch Ziekenhuis Leiden te Leiden:
 - a) micro-injectie van (gemodificeerde) embryonale stamcellen in blastocysten;
 - b) waarbij gebruik wordt gemaakt van de volgende genen en genconstructen:
 - VHH-genen die coderen voor antilichaamfragmenten, door de maker aangemerkt als: 3F5, 3E9, 3A9, VHH8, VHH18 en VHH29;
 - tevens zal gebruik gemaakt worden van genen en genconstructen uit het moleculaire standaardinstrumentarium (zie bijlage I van het advies van de Commissie biotechnologie bij dieren).
2. De biotechnologische handelingen bij dieren dienen binnen vijf jaar na dagtekening van het definitieve besluit te zijn verricht.
3. Bij de in het kader van deze vergunning toegestane biotechnologische handelingen mogen in totaal maximaal 2100 muizen worden gebruikt voor het genereren van 12 lijnen, waarbij gemiddeld 175 muizen per lijn gebruikt mogen worden.

Voorschrift 1

Het bij de werkzaamheden betrokken personeel dient van de bepalingen van deze vergunning op de hoogte te zijn.

Voorschrift 2

Indien zich (bij-)effecten voordoen, waardoor de gezondheid of het welzijn van de betrokken dieren ernstig benadeeld wordt, worden de dieren waarvan de gezondheid of het welzijn ernstig benadeeld wordt, onverwijld gedood. Van deze dieren wordt een pathologierapport opgesteld dat toegevoegd wordt aan het in voorschrift 4 genoemde logboek.

Voorschrift 3

Van (bij-)effecten die niet als beoogd of verwacht worden genoemd in de aanvraag van het Academisch Ziekenhuis Leiden te Leiden van 2 augustus 2007 met de aanvulling hierop van 12 september 2007 en derhalve onverwacht zijn, en waardoor de gezondheid of het welzijn van de betrokken dieren ernstig wordt benadeeld, wordt onverwijld door middel van een aangetekend schrijven aan de Minister van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit melding gemaakt, onder vermelding van het nummer van deze vergunning, het gebruikte genconstruct en de waargenomen onverwachte effecten.

Tevens dienen de betrokken dieren conform voorschrift 2 onverwijld te worden gedood en dient er van deze dieren een pathologierapport opgesteld te worden dat toegevoegd wordt aan het in voorschrift 4 genoemde logboek.

Voorschrift 4

1. Gedurende het uitvoeren van de in beperking 2, eerste lid, beschreven handelingen en gedurende het onderzoek dat door de vergunninghouder met de vervaardigde genetisch gemodificeerde dieren wordt verricht, wordt een logboek of database als bedoeld in de "Code of Practice, welzijnsbewaking van proefdieren" van de Voedsel en Waren Autoriteit bijgehouden.
2. Het logboek of de database, beschreven in het eerste lid, dient aanwezig te zijn in de inrichting waar de betrokken dieren gehuisvest zijn.
3. Het logboek of de database, beschreven in het eerste lid, omvat tenminste de volgende gegevens:
 - het aantal dieren gebruikt bij de biotechnologische handeling;
 - het aantal dieren dat de genetische modificatie (chimaera en transgenen) bezit;
 - gegevens met betrekking tot de algemene gezondheids- en welzijnstoestand van de bij het onderzoek betrokken dieren, te weten: de eetlust, het gewichtsverloop, het gedrag van de dieren, en gegevens met betrekking tot eventuele opvallende kenmerken of afwijkingen van de genetisch gemodificeerde dieren (chimaera en transgenen).
4. De vergunninghouder is verplicht aan toezichthoudende ambtenaren op hun verzoek inzage te verlenen in het logboek of de database.

Op grond van artikel 72, aanhef en onder d, Gezondheids- en welzijnswet voor dieren bestaat in ieder geval de bevoegdheid tot onmiddellijke schorsing, intrekking of wijziging van deze beschikking indien wordt gehandeld in strijd met de aan deze vergunning verboden voorschriften of met de beperkingen waaronder deze vergunning is verleend.

Eenieder kan tegen dit ontwerpbesluit binnen zes weken na bekendmaking schriftelijke zienswijzen inbrengen. De schriftelijke zienswijzen dienen te worden toegezonden aan Dienst Regelingen, Postbus 1191, 3300 BD Dordrecht, onder vermelding van het nummer van dit ontwerpbesluit.

Indien u hierom in een begeleidend schrijven verzoekt, zullen uw persoonlijke gegevens niet bekend gemaakt worden.

Desgevraagd bestaat ook voor eenieder gelegenheid tot een gedachtewisseling over het ontwerp van het besluit en tot het mondeling inbrengen van zienswijzen daartegen. Hiertoe zal bij voldoende belangstelling een hoorzitting georganiseerd worden. De datum van deze hoorzitting zal in de Staatscourant en de Volkskrant gepubliceerd worden.

's-Gravenhage, 19 oktober 2007

DE MINISTER VAN LANDBOUW, NATUUR EN
VOEDSELKWALITEIT,
Voor deze:
DE WND. DIRECTEUR-GENERAAL,

mr. J.P. Hoogeveen MPA

Bijlage I bij ontwerpbesluit RBD0203(L05)

Gelezen de aanvraag van het Academisch Ziekenhuis Leiden te Leiden van 2 augustus 2007, met de aanvulling hierop van 12 september 2007, met het verzoek om een vergunning als bedoeld in artikel 66, eerste lid, onderdeel a en b, van de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren, in het kader van het Besluit biotechnologie bij dieren.

Aan het besluit liggen de volgende feiten en overwegingen ten grondslag.

I. Aanvraag

De aanvraag en de aanvullende informatie, waarvan een afschrift is bijgevoegd, hebben betrekking op:

- a) micro-injectie van (gemodificeerde) embryonale stamcellen in blastocysten;
- b) waarbij gebruik wordt gemaakt van de volgende genen en genconstructen:
 - VHH-genen die coderen voor antilichaamfragmenten, door de maker aangemerkt als: 3F5, 3E9, 3A9, VHH8, VHH18 en VHH29;
 - tevens zal gebruik gemaakt worden van genen en genconstructen uit het moleculaire standaardinstrumentarium (zie bijlage I van het advies van de Commissie biotechnologie bij dieren);
- c) de biotechnologische handelingen bij dieren zullen uitgevoerd worden gedurende een periode van vijf jaar;
- d) bij dit onderzoek zullen maximaal 2100 muizen nodig zijn voor het genereren van 12 lijnen;
- e) waardevolle transgene lijnen zullen behouden blijven door middel van cryopreservatie (invriezen) van embryo's en sperma en zullen aan andere onderzoekers ter beschikking worden gesteld.

Het onderzoek richt zich op het ontwikkelen van een therapie voor de ziekte oculopharyngeale spierdystrofie (OPMD). De ziekte OPMD wordt veroorzaakt door een mutatie (verandering) in het gen PABPN1. Door deze mutatie wordt het PABPN1-eiwit niet goed aangemaakt. Hierdoor kan het eiwit niet goed functioneren en gaat het zich ophopen in de spiercellen, waardoor de spieren verzwakken. Het eiwit hoopt zich vooral op in spieren van de oogleden, de keel en de bekkengordel. De bovenste oogleden gaan hangen en na een aantal jaren gaan de oogleden voor de pupil hangen, waardoor het kijken wordt belemmerd. In de keel verliezen de slikspieren langzaam hun kracht. In het begin hebben patiënten moeite met doorslikken van vast voedsel, later wordt ook het doorslikken van vloeistof moeilijker. Het krachtverlies in de keelspieren heeft op den duur ook invloed op de spraak. Meestal ontstaat ook krachtverlies in de spieren van de heupen en bovenbenen waardoor eerst problemen ontstaan met traplopen en later ook met gewoon lopen. Patiënten kunnen hierdoor in een rolstoel terechtkomen.

De aanvrager heeft een potentiële nieuwe therapie ontwikkeld die de opeenhoping van het PABPN1-eiwit kan voorkomen. Deze therapie is gebaseerd op PABPN1-antilichaamfragmenten. In een celmodel en een fruitvliegmodel is aangetoond dat deze antilichaamfragmenten de ophoping van PABPN1-eiwit kunnen voorkomen en al bestaande eiwitophopingen kunnen verkleinen. Fruitvliegen die de ziekte OPMD hebben, kunnen niet vliegen doordat hun vliegspieren verzwakt zijn. Bij 20% tot 30% van de fruitvliegen leidde de aanwezigheid van de antilichaamfragmenten ertoe dat ze weer konden vliegen.

Het doel op korte termijn is het genereren van muizen waarin genen zijn geïntroduceerd die coderen voor PABPN1-antilichaamfragmenten. In deze muizen worden het functioneren en eventuele bijwerkingen van de antilichaamfragmenten bestudeerd. Daarnaast worden deze muizen gekruist met muizen die de ziekte OPMD hebben. In de muizen die uit deze kruising ontstaan, kan bestudeerd worden of de antilichaamfragmenten de ophoping van het eiwit kunnen voorkomen en het ziekteproces kunnen vertragen. Op lange termijn kan het onderzoek bijdragen aan de ontwikkeling van een therapie voor de ziekte OPMD. De resultaten van het onderzoek kunnen ook bijdragen aan de ontwikkeling van therapieën voor ziekten die veroorzaakt worden door de ophoping van andere eiwitten, zoals de ziekte van Alzheimer en de ziekte van Huntington.

II. Procedure

De procedure is conform en krachtens het bepaalde in het Besluit biotechnologie bij dieren uitgevoerd.

Overzicht van de procedure

02-08-2007	Ontvangst aanvraag
14-08-2007	Publicatie ontvangst van de aanvraag
04-09-2007	Verzoek aanvullende informatie aanvrager
12-09-2007	Ontvangst aanvullende informatie
11-10-2007	Ontvangst advies van de Commissie biotechnologie bij dieren

III. Ingewonnen advies

De Commissie biotechnologie bij dieren (verder de Commissie) heeft een advies uitgebracht. Het kenmerk van het advies is CBD/07.214/RT. Dit advies is op 11 oktober 2007 ontvangen en is als bijlage II bijgevoegd.

Samengevat meent de Commissie: "De Commissie hecht sterk aan haar ethische opdracht om bij de toetsing van een vergunningaanvraag uit te gaan van de erkenning van de intrinsieke waarde van het dier. Dit betekent dat de principes van "geen schade doen" en "respect voor integriteit" het uitgangspunt vormen voor de toetsing. Het "nee, tenzij" beleid ten aanzien van biotechnologie bij dieren is gebaseerd op de gedachte dat het genetisch veranderen van dieren op zichzelf moreel problematisch is. Dit impliceert dat het schaden van de gezondheid en het welzijn van de dieren en het aantasten van hun integriteit middels genetische modificatie uitsluitend aanvaardbaar is indien dit geschiedt voor een doel dat van substantieel belang is, waarvan aannemelijk is dat het gerealiseerd zal worden. Ook mag er geen reëel alternatief zijn voor het realiseren van de doelstelling.

De Commissie heeft daarom eerst getoetst of het doel van het onderzoek van voldoende substantieel belang is om het wijzigen van de bestaande genetische code van het dier, met artificiële constructen afkomstig van andere organismen, te rechtvaardigen. Het gaat daarbij om een doelstelling op korte termijn en een doelstelling op lange termijn (zie paragraaf II.1 "Met betrekking tot de doelstelling" van het advies van de Commissie). De korte termijn doelstelling en de lange termijn doelstelling worden door de Commissie beide in de afweging betrokken.

Wetenschappelijk is dit onderzoek van belang, omdat het meer inzicht verschaft in de mogelijkheden die er zijn om eiwitaggregatieziekten te behandelen met behulp van antilichaamfragmenten die zich richten tegen het gemuteerde gen dat de ophopingen van eiwit veroorzaakt.

Het onderzoek is maatschappelijk van belang, omdat het zich direct richt op het ontwikkelen van een therapie voor de ziekte OPMD. Het onderzoek in deze muizen vormt een noodzakelijke stap op weg naar het toepassen van deze therapievorm in mensen. Op lange termijn zou dit onderzoek bovendien kunnen bijdragen aan het ontwikkelen van op een vergelijkbare strategie gebaseerde therapieën voor andere eiwitaggregatieziekten, zoals de ziekte van Huntington en de ziekte van Alzheimer.

Het onderzoek dient niet alleen van substantieel belang te zijn, maar dient ook te voldoen aan bepaalde wetenschappelijke kwaliteitseisen. Wanneer de wetenschappelijke kwaliteit en de gekozen methoden onder de maat zouden zijn, dan:

- 1) vermindert dat de kans dat de op zichzelf substantiële doelstelling van het onderzoek wordt gerealiseerd. Aangezien het substantiële belang van de doelstelling van het onderzoek de rechtvaardiging vormt voor het toebrengen van schade aan de dieren en het aantasten van hun integriteit, dient er naar te worden gestreefd deze kans zo groot mogelijk te laten zijn;
- 2) vergroot dat de kans dat er onnodig veel dieren worden gebruikt die bovendien een groter risico lopen meer dan nodig is te worden aangetast in hun gezondheid, welzijn en integriteit. Dat is in strijd met de principes van "niet schaden" en "respect voor integriteit".

De Commissie hecht daarom veel waarde aan de beoordeling van de wetenschappelijke opzet van de experimenten door onafhankelijke vakgenoten. In dit geval stelt ze vast dat het onderzoek van de aanvrager mede wordt gefinancierd door de National Institutes of Health (NIH) en de Muscular

Dystrophy Association (MDA) in de VS en door de Europese Unie. Deze organisaties maken bij het toekennen van subsidies en financiering voor onderzoek gebruik van onafhankelijke vakgenoten die het onderzoek beoordelen. Voor de Commissie is dat een belangrijke aanvullende reden om aan te nemen dat het onderzoek wetenschappelijk van belang, van goede kwaliteit en haalbaar is.

Op grond van al hetgeen hiervoor is gesteld, is de Commissie van mening dat het hier gaat om onderzoek dat haalbaar en van een dusdanig substantieel belang is, dat in beginsel het verbod op het verrichten van biotechnologische handelingen, zoals dat is omschreven in de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren, voor dit specifieke onderzoek kan worden opgeheven.

De Commissie hecht er sterk aan dat geen dieren genetisch worden gemodificeerd, wanneer de bovengenoemde doelstelling ook te realiseren valt met lagere organismen zoals bacteriën en schimmels, of door middel van *in vitro* onderzoek, bijvoorbeeld met cellijnen of in weefselkweken. Ze is nagegaan of er reële alternatieven voor dit onderzoek bestaan, omdat de vraag naar het bestaan van eventuele alternatieven onderdeel uitmaakt van de ethische toets die de Commissie op grond van de wet dient uit te voeren. Ze heeft geconstateerd dat er geen reële alternatieven voorhanden zijn, omdat dit onderzoek een essentiële stap vormt op weg naar toepassing van de beoogde therapievorm in de mens.

De Commissie constateert dat het substantiële belang van de doelstelling, in afwezigheid van reële alternatieven, het genetisch veranderen van dieren in principe moreel rechtvaardigt. Dan nog echter, dient men in de dierethiek af te wegen of dit belang, in dit geval een bepaald “goed voor de mens”, opweegt tegen wat de dieren wordt aangedaan. Het kan gaan om een inbreuk op het ethische beginsel van “geen kwaad doen”, wat tot gevolg kan hebben dat het dier schade aan gezondheid en welzijn ondervindt, maar het kan ook gaan om een inbreuk op het principe van “respect voor integriteit”.

De Commissie heeft daarom bekeken of de dieren als gevolg van de biotechnologische handelingen eventueel schade aan gezondheid en welzijn zullen ondervinden en of hun integriteit door de handelingen wordt aangetast.

De Commissie verwacht op basis van haar kennis dat de gezondheid en het welzijn van de dieren als gevolg van de genetische modificaties hooguit in geringe mate zal worden geschaad. De Commissie wil benadrukken dat de onderzoekers de dieren intensief dienen te observeren en, in het geval toch meer dan gering ongerief optreedt, de dieren dienen te doden. Op deze wijze wordt, met een beroep op het ethische beginsel van “geen kwaad doen”, de duur van een eventueel ernstig en niet meer te verhelpen lijden ingeperkt.

De Commissie constateert dat de integriteit van de dieren in geringe mate, namelijk uitsluitend op het niveau van het genoom, wordt aangetast.

Hoewel ze bij haar oordeel rekening houdt met het feit dat er in de samenleving reële zorgen bestaan omtrent biotechnologische handelingen die bij dieren worden uitgevoerd – zorgen die voor een deel berusten op ethische overwegingen en die hebben geleid tot wettelijke maatregelen op dit punt – constateert ze dat er, in verband met biotechnologische handelingen bij dieren, altijd ethische bezwaren kunnen worden aangevoerd. Waar het naar de mening van de Commissie echter om gaat is of deze ethische bezwaren *doorslaggevend* zijn, met andere woorden of deze in moreel opzicht van groter gewicht zijn dan de waarde van de te verwachten baten. Ze meent dat het criterium genoemd in artikel 66, lid 3 onder b van de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren aldus dient te worden uitgelegd. In dit geval gaat het daarbij om het ontwikkelen van een therapie voor de spierziekte OPMD.

Op grond van het voorgaande komt de Commissie tot de conclusie dat het in de onderhavige aanvraag gaat om een toetsbare eenheid, om onderzoek dat zowel wetenschappelijk als maatschappelijk van belang is en waarvoor geen reële alternatieven bestaan. Verder heeft ze geconstateerd dat de gezondheid, het welzijn en de integriteit van de dieren die genetisch gemodificeerd worden naar verwachting zullen worden aangetast, maar niet in die mate dat dit moreel zwaarder weegt dan het belang van het doel van het onderzoek. De Commissie acht

derhalve de biotechnologische handelingen waarvoor vergunning is aangevraagd moreel aanvaardbaar en meent dat het verbod op het verrichten van biotechnologische handelingen bij dieren, zoals omschreven in art. 66 lid 1 van de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren, kan worden opgeheven.”

De Commissie adviseert (...) een vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden:

- de dieren dienen indien meer dan gering ongerief ontstaat onverwijld te worden gedood;
- ten behoeve van het vaststellen van de schade aan de gezondheid en het welzijn van de dieren als gevolg van het onderzoek, dient een welzijnsdagboek conform het gestelde in de Code of Practice welzijnsbewaking proefdieren te worden bijgehouden;
- indien blijkt dat er elders een lijn, die de aanvrager wenst te genereren, beschikbaar is, dan mag deze lijn niet meer door de aanvrager gegenereerd worden,

en onder de volgende beperking:

- voor het genereren van ten hoogste 12 genetisch gemodificeerde lijnen mogen maximaal 2100 dieren gebruikt worden.

De vergunningverlener onderschrijft het advies van de Commissie en neemt het advies over.

IV. Wettelijk kader en beoordeling

Een vergunning tot het verrichten van biotechnologische handelingen bij dieren kan op grond van artikel 66 van de Gezondheids- en welzijnswet bij dieren slechts worden verleend indien naar het oordeel van de Minister van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit tegen de handelingen

1. geen ethische bezwaren bestaan en
2. de handelingen geen onaanvaardbare gevolgen hebben voor de gezondheid en het welzijn van dieren.

Op grond van artikel 66, vijfde lid, Gezondheids- en welzijnswet voor dieren kunnen aan een vergunning voorschriften worden verbonden en kan een vergunning onder beperkingen worden verleend.

Op grond van artikel 72, aanhef en onder d, Gezondheids- en welzijnswet voor dieren kan een vergunning in ieder geval met onmiddellijke ingang worden geschorst, gewijzigd of ingetrokken indien wordt gehandeld in strijd met de aan de vergunning verbonden voorschriften of met de beperkingen waaronder de vergunning is verleend.

Voorafgaand aan zijn beslissing op een aanvraag voor een vergunning dient de Minister van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit de Commissie biotechnologie bij dieren als bedoeld in artikel 69 van de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren te horen (zie onderdeel III, voorgaand).

Met betrekking tot de aantallen dieren is de Commissie van mening dat: “De aanvrager geeft in het aanvraagformulier bij vraag 12a/b aan maximaal 175 muizen nodig te hebben voor het genereren van een bruikbare lijn door middel van injectie van gemodificeerde ES-cellen in blastocysten. Hij gaat er daarbij vanuit twee tot drie founderlijnen nodig te hebben voor het selecteren van een bruikbaar diermodel.

De Commissie hanteert als stelregel dat in een goed geoutilleerd transgenenlaboratorium met ervaren medewerkers een gemiddelde van 150 dieren voor het genereren van een lijn door middel van micro-injectie van ES-cellen in blastocysten voldoende dient te zijn. Dit geldt voor ES-cellijnen afkomstig van de OLA/sv of 129 muislijn. De aanvrager wil echter werken met een ES-cellijn afkomstig van FVB muizen, omdat ook het OPMD muismodel deze genetische achtergrond heeft. De verwachting is dat genetische modificatie met FVB ES-cellijnen iets minder efficiënt verloopt en dat er daarom in dit geval circa 175 dieren nodig zijn voor het genereren van een lijn. Tegenover het gebruik van een beperkt aantal extra dieren voor het genereren van een lijn staat echter een besparing van veel meer dieren later in het onderzoek. Er zou namelijk een uitgebreid fokprogramma van meerdere generaties nodig zijn om de muizen terug te fokken naar een FVB achtergrond.

De Commissie adviseert dan ook om vergunning te verlenen voor het genereren van twaalf genetisch gemodificeerde lijnen, waarbij gebruik gemaakt mag worden van maximaal 2100 dieren.”

De vergunningverlener heeft erop toegezien dat de bovenstaande argumenten van de Commissie zorgvuldig tot stand zijn gekomen. De vergunningverlener onderschrijft bovenstaande conclusies en overwegingen en neemt deze over.

Ad 1. Toetsing op ethische bezwaren

Het oordeel of ethische bezwaren bestaan is afhankelijk van de (deels samenhangende) beantwoording van de volgende vragen:

1. Is de doelstelling van het onderzoek zodanig belangwekkend dat een opheffing van het verbod op het verrichten van biotechnologische handelingen bij dieren in principe acceptabel kan zijn?
2. Bestaat er een reëel alternatief voor het onderzoek?
3. Indien de handeling op korte of langere termijn negatieve effecten heeft of kan veroorzaken (aantasting van de integriteit van dieren, gevolgen voor individuele dieren, gevolgen voor gezondheid en welzijn van mensen), zijn deze effecten - in het licht van het belang van het onderzoek - zodanig dat de mogelijke gevolgen onaanvaardbaar zijn?

Beoordeling

Ten aanzien van de doelstelling is de Commissie ondermeer van mening: “Het onderzoek van de aanvrager richt zich op de ziekte Oculopharyngeale Spierdystrofie (OPMD). Deze ziekte wordt veroorzaakt door een mutatie in het gen PABPN1. Als gevolg van die mutatie ontstaat een ophoping van het gemuteerde eiwit in de spierkern. Dit leidt tot een progressieve verzwakking van de ooglid-, slik-, en bekkengordelspiers. Het is reeds aangetoond dat een vertraging van de ophoping van het eiwit leidt tot een vertraging van het ziekteproces. Deze ziekte staat volgens de aanvrager model voor een groot aantal ziekten waarbij zich eiwitten ophopen, bijvoorbeeld voor de ziekte van Huntington, een neurodegeneratieve ziekte. Het verwerven van kennis over de effectiviteit van strategieën gericht op het voorkomen van eiwitophoping kan van belang zijn voor allerlei ziekten die het gevolg zijn van een ophoping van eiwitten.

De aanvrager heeft een nieuwe anti-aggregatietherapie ontwikkeld, die zich specifiek richt op PABPN1, het gen dat gemuteerd is bij de ziekte OPMD. Het gaat om antilichaamfragmenten die specifiek zijn voor dit gen. In een celmodel voor OPMD en in de fruitvlieg is reeds aangetoond dat deze antilichaamfragmenten in staat zijn om aggregatie van het eiwit te voorkomen en bestaande aggregaten gedeeltelijk op te lossen. In beide modellen zijn geen toxische effecten waargenomen. De aanvrager wil nu genen die coderen voor deze antilichaamfragmenten inbrengen in het genoom van de muis. Dit gebeurt op een dusdanige wijze dat het gen alleen tot expressie komt in de spier, nadat het is geactiveerd. In deze muizen zullen het functioneren en de eventuele bijeffecten van de antilichaamfragmenten worden onderzocht. Deze muizen zullen daarna worden gekruist met een reeds beschikbare OPMD muis om te bestuderen of de antilichaamfragmenten in staat zijn de ophoping van de eiwitten te voorkomen en de ziekte te vertragen.

Op korte termijn gaat het de aanvrager er dus om genetisch gemodificeerde muizen te genereren waarmee onderzocht kan worden of geselecteerde antilichaamfragmenten in staat zijn om de ziekte OPMD af te remmen. Ook kan in deze muizen worden onderzocht of de antilichaamfragmenten toxische bijwerkingen hebben. Op lange termijn kan dit onderzoek bijdragen aan het tot stand komen van een nieuwe therapie voor OPMD en kunnen de inzichten die met dit onderzoek worden verworven bijdragen aan het ontwikkelen van therapieën voor andere aandoeningen waarbij zich ophopende eiwitten voor problemen zorgen.

Wetenschappelijk is dit onderzoek van belang, omdat het meer inzicht verschaft in de mogelijkheden die er zijn om eiwitaggregatieziekten te behandelen met behulp van antilichaamfragmenten die zich richten tegen het gemuteerde gen dat de ophopingen van eiwit veroorzaakt.

Het onderzoek is maatschappelijk van belang, omdat het zich direct richt op het ontwikkelen van een therapie voor de ziekte OPMD. Het onderzoek in deze muizen vormt een noodzakelijke stap op weg naar het toepassen van deze therapievorm in mensen. Op lange termijn zou dit onderzoek bovendien kunnen bijdragen aan het ontwikkelen van op een vergelijkbare strategie gebaseerde

therapieën voor andere eiwitaggregatieziekten, zoals de ziekte van Huntington en de ziekte van Alzheimer.”

Ten aanzien van de beschikbaarheid van reële alternatieven overweegt de Commissie ondermeer: “(...) De aanvrager heeft in de aanloop naar dit onderzoek in muizen, reeds gewerkt met celmodellen en met fruitvliegen. Daarin heeft hij aangetoond dat zijn benadering in principe zou kunnen werken. De aanvrager beschouwt het onderzoek in deze genetisch gemodificeerde muizen als een essentiële stap op weg naar het toepassen van therapieën met antilichaamfragmenten die zich specifiek richten tegen het gemuteerde gen in de mens. Het systemisch toedienen van de antilichaamfragmenten aan de reeds bestaande OPMD muis (een genetische gemodificeerd muismodel voor de ziekte OPMD) leidt tot onvoldoende opname van de antilichaamfragmenten in de spieren. Op dit moment zijn evenmin goede vectoren beschikbaar die in staat zouden zijn om langs genterapeutische weg de genen die coderen voor de antilichaamfragmenten in de spieren van de muis in te brengen. De Commissie meent daarom dat genetische modificatie op dit moment de enige haalbare methode is om expressie van de VHH genen in de spieren van de muis te bewerkstelligen. Indien op die manier wordt aangetoond dat de antilichaamfragmenten werkzaam zijn tegen de spierziekte OPMD, dan geeft dat een extra impuls aan het onderzoek naar methoden om de antilichaamfragmenten in de spier af te leveren.

De aanvrager wil induceerbaar en weefsel specifiek VHH genen introduceren op een bepaalde locatie in het genoom. Deze muizen wil hij vervolgens kruisen met een reeds bestaand genetisch gemodificeerd muizenmodel voor de ziekte OPMD. De technieken die de aanvrager wil toepassen kunnen op dit moment uitsluitend in muizen worden uitgevoerd en ook het reeds beschikbaar zijn van een genetisch gemodificeerd muismodel voor OPMD vormt een extra argument om in muizen te werken. De Commissie heeft herhaaldelijk aangegeven dat zij er een voorstander van is dat er gebruik gemaakt wordt van reeds bestaande genetisch gemodificeerde modellen wanneer die beschikbaar zijn. Op die manier kan worden voorkomen dat nieuwe genetisch gemodificeerde diermodellen worden gemaakt. Ook in de laatste alinea van deze paragraaf laat de Commissie zich weer in die zin uit. Op grond van de hiervoor genoemde redenen meent de Commissie dat het gebruik van muizen de enige reële optie vormt voor dit onderzoek.

Gelet op de doelstelling van de biotechnologische handelingen zijn er, in het licht van de stand van het wetenschappelijk en technologisch onderzoek, naar de mening van de Commissie op dit moment geen reële alternatieven beschikbaar. De aanvrager maakt waar mogelijk steeds gebruik van beschikbare alternatieven, maar voor de huidige doeleinden is het genereren van genetische gemodificeerde muizen de enige optie.

De Commissie wenst echter wel op te merken dat de aanvrager nauwlettend in de gaten dient te houden of, op het ogenblik dat de biotechnologische handelingen uitgevoerd gaan worden om een bepaalde muizenlijn te maken, een dergelijke muizenlijn elders al aanwezig en beschikbaar is. (...) De Commissie wenst daarmee aan te geven dat doublures bij biotechnologische handelingen bij dieren zoveel mogelijk voorkomen dienen te worden.”

Ten aanzien van de aantasting van de integriteit overweegt de Commissie ondermeer: “In het “Nee, tenzij” beleid ten aanzien van biotechnologie bij dieren zijn biotechnologische handelingen bij dieren niet alleen problematisch vanwege de mogelijke effecten op de gezondheid en welzijn van de dieren, maar ook omdat door middel van het veranderen van genetisch materiaal “de eigenheid” van het dier door de mens wordt veranderd. Door het genetisch modificeren van dieren, zoals hier wordt bedoeld, worden hun eigenschappen doelbewust en gericht gewijzigd ten nutte van de mens. Deze genetische modificaties worden omschreven als een aantasting van de integriteit van het dier. In dit onderzoek worden aan het genoom van de muis DNA constructen toegevoegd. Hierdoor zal de genotypische integriteit van het dier aangetast worden.

De Commissie meent dat de mate van aantasting van de integriteit die optreedt apart beoordeeld dient te worden. Ze wil daarmee aangeven dat het bij de beoordeling van de aantasting van de integriteit gaat om andere zaken dan die bij de aantasting van de gezondheid en het welzijn beoordeeld zijn.

Om vervolgens de mate van aantasting van die integriteit te beoordelen let de Commissie vooral op de aard en de omvang van de veranderingen in fenotypische kenmerken zoals het gedrag, het uiterlijk, de mate van zelfredzaamheid van het dier, de fenotypische identiteit en de (toegenomen) bevattelijkheid voor aandoeningen van het dier.

Naar het oordeel van de Commissie mag verwacht worden dat de fenotypische integriteit van de dieren die genen tot expressie brengen die coderen voor geselecteerde antilichaamfragmenten niet zal worden aangetast.

De Commissie concludeert, gelet op de genen die bij de biotechnologische handelingen zullen worden gebruikt, dat sprake zal zijn van een geringe aantasting van de integriteit, namelijk uitsluitend op het niveau van het genoom.”

Het aantal bij de biotechnologische handelingen betrokken muizen bedraagt in totaal maximaal 2100 voor het genereren van 12 lijnen. Het gebruik van dit aantal dieren wordt door de vergunningverlener, gelet op het belang van het onderzoek, acceptabel geacht.

Conclusie: Gelet op de bovenvermelde overwegingen van de Commissie, welke overwegingen door de vergunningverlener worden overgenomen, gelet op het doel van het beschreven onderzoek, gelet op het ontbreken van reële alternatieven, gelet op de niet op voorhand onaanvaardbaar geachte aantasting van integriteit van de dieren, gelet op het aantal dieren dat ten behoeve van het vervaardigen van de genetisch gemodificeerde muizen wordt gebruikt en gelet op de conclusie van de Commissie dat genoemde ethische bezwaren niet opwegen tegen het belang van de doelstelling van het onderzoek en derhalve niet onaanvaardbaar worden geacht – welke conclusie wordt onderschreven en overgenomen -, wegen de ethische bezwaren tegen het genereren van de genetisch gemodificeerde muizen en micro-injectie van (gemodificeerde) embryonale stamcellen in blastocysten niet op tegen het belang van de doelstelling van het onderzoek.

Ad 2. Toetsing op gezondheid en welzijn van dieren

Het oordeel of onaanvaardbare effecten op de gezondheid en het welzijn van dieren optreden wordt geveld op grond van een beoordeling van de mogelijke gezondheids- en welzijnsrisico's verbonden aan de voorgenomen werkzaamheden en is afhankelijk van de (deels samenhangende) beantwoording van de volgende vragen:

1. In welke mate wijzigen de biotechnologische handelingen de normale fysiologie van het dier?
2. Heeft de wijziging van de normale fysiologie van het dier naar verwachting negatieve gezondheids- en welzijnseffecten?
3. Indien de biotechnologische handelingen naar verwachting negatieve gezondheids- en welzijnseffecten kunnen hebben, zijn deze effecten zodanig dat de gevolgen - gelet op het belang van het onderzoek - onaanvaardbaar zijn?

Beoordeling

De Commissie overweegt ondermeer het volgende: “De aanvrager geeft aan dat de muizen die na inductie van de genetisch modificatie met tamoxifen de genen die coderen voor antilichaamfragmenten tot expressie zullen brengen in hun spieren daarvan geen nadelige effecten zullen ondervinden. Deze uitspraak doet hij op basis van het feit dat in celmodellen en genetisch gemodificeerde fruitvliegen geen bijeffecten werden geconstateerd. Dit biedt weliswaar geen garantie dat ook in muizen geen bijeffecten zullen optreden, maar de Commissie acht deze veronderstelling goed verdedigbaar.

De muizen waarbij de genen zijn ingebracht die coderen voor antilichaamfragmenten zullen worden gekruist met een reeds bestaande genetische gemodificeerde muis die model staat voor de ziekte OPMD. Deze reeds bestaande genetisch gemodificeerde muis vertoont verschijnselen van de ziekte OPMD (een progressieve verzwakking van de ooglid-, slik-, en bekkengordelspijeren). De verwachting is dat de kruisingen zeker niet meer ongerief zullen hebben dan de reeds bestaande OPMD-muis. Als de antilichaamfragmenten het verwachte effect hebben, dan zal de ernst van de aandoening juist verminderen.

De Commissie concludeert dat naar verwachting als gevolg van de genetische modificaties geen of hooguit gering ongerief op zal treden. De Commissie wenst op te merken dat indien als gevolg van de biotechnologische handelingen, voorzien of onvoorzien, toch meer dan gering ongerief mocht optreden, de dieren onverwijld dienen te worden gedood, zodat de schade aan de gezondheid en het welzijn van de dieren van korte duur zal zijn.

Om de schade aan de gezondheid en het welzijn, die bij dit onderzoek eventueel optreedt, vast te kunnen stellen, meent de Commissie dat door de onderzoekers een welzijnsdagboek conform het gestelde in de "Code of Practice welzijnsbewaking van proefdieren" van de Voedsel en Waren Autoriteit dient te worden bijgehouden waarin het verloop van het welzijn alsmede de genomen maatregelen en uitgevoerde ingrepen worden vastgelegd. Het doel van het vastleggen van deze gegevens is dat de Commissie hoopt dat met behulp van die gegevens in de toekomst een meer adequaat oordeel geveld zal kunnen worden aangaande de gevolgen voor gezondheid en welzijn.

De Commissie acht het in de eerste plaats haar taak om de gevolgen voor gezondheid en welzijn van de biotechnologische handelingen in kaart te brengen voor die dieren die uit de handelingen ontstaan (de genetisch gemodificeerde dieren). De Commissie acht het echter ook van belang dat zichtbaar wordt gemaakt dat bij het genereren van een genetisch gemodificeerde muizenlijn normaalgesproken gemiddeld 150 muizen betrokken zijn. In dit geval betreft het gemiddeld 175 muizen voor een lijn (...).

Voor het genereren van een knock-out of knock-in founder betreft het: dekmannen, gevasectomeerde mannetjes, blastocystdonoren, fosters (draagmoeders), niet-chimere pups, chimere pups en fokdieren. De fokdieren worden gekruist met de chimeren. De dieren die uit die kruising ontstaan worden agouti's genoemd. Sommige daarvan zijn mutant en andere niet. De niet mutante agouti's maken ook deel uit van de genoemde 150 dieren per lijn die gebruikt mogen worden. Voor het genereren van een transgene founder gaat het om: dekmannen, gevasectomeerde mannetjes, embryodonoren, fosters (draagmoeders) en transgene- en niet-transgene pups.

Veel van deze 150 dieren leiden een normaal leven, bijvoorbeeld als zij uitsluitend worden gebruikt om mee te fokken. Op de meeste dieren worden slechts beperkte handelingen uitgevoerd (het geven van injecties of het nemen van weefselmonsters om na te gaan of het dier al dan niet genetisch gemodificeerd is). Gevasectomeerde mannetjes zijn door middel van een ingreep onvruchtbaar gemaakt. Zij worden gebruikt om vrouwtjes schijnzwanger te maken. De schijnzwangere vrouwtjes worden vervolgens als draagmoeder gebruikt. Daarbij wordt een aantal embryo's ingebracht in de geslachtsorganen van deze vrouwtjes. Naar het oordeel van de Commissie blijft het ongerief voor deze dieren in alle gevallen beperkt (gering tot maximaal matig). De Commissie betreft het gebruik en het ongerief van deze dieren in haar uiteindelijke afweging over de toelaatbaarheid van de biotechnologische handelingen waarvoor vergunning wordt gevraagd."

Conclusie: De mogelijk optredende negatieve effecten op de gezondheid en het welzijn van de dieren in het kader van dit onderzoek worden, gelet op bovenstaande overwegingen van de Commissie, welke overwegingen door de vergunningverlener worden onderschreven en overgenomen, gelet op het doel van het beschreven onderzoek, gelet op het ontbreken van reële alternatieven, gelet op het aantal dieren dat ten behoeve van het vervaardigen van de genetisch gemodificeerde muizen wordt gebruikt en gelet op de conclusie van de Commissie dat de bezwaren op grond van de aantasting van de gezondheid en het welzijn van de dieren niet opwegen tegen het belang van het onderzoek, mits ernst en duur van de schade voor de dieren beperkt wordt, niet onaanvaardbaar geacht, mits de dieren gedood worden bij verdenking van ernstig leed (zie voorschrift 2 en het navolgende onder V).

De procedure is krachtens en conform het bepaalde in het Besluit biotechnologie bij dieren uitgevoerd. Door de aanvraag, de aanvullingen daarop en het advies van de Commissie heeft de vergunningverlener de nodige gegevens omtrent de relevante feiten en de af te wegen belangen verzameld. Tevens heeft hij er op toe gezien dat de advisering door de Commissie zorgvuldig heeft plaats gevonden. De vergunningverlener onderschrijft de argumenten van de Commissie en neemt deze over. Gelet op het bovenstaande is de vergunningverlener van mening dat er geen sprake is

van handelingen die onaanvaardbare gevolgen hebben voor de gezondheid of het welzijn van dieren. De ethische bezwaren wegen niet op tegen het belang van de doelstelling van het onderzoek. Derhalve kan een vergunning verleend worden, onder de navolgende beperkingen en voorschriften.

V Beperkingen en voorschriften

Beperkingen

De bij beperking 1 en 2 gestelde beperkingen zijn in overeenstemming met het gestelde in de aanvraag en de aanvulling hierop.

In de overwegingen bij haar advies merkt de Commissie op dat door de aanvrager nauwlettend in de gaten gehouden dient te worden of er niet al, op het ogenblik dat de biotechnologische handelingen uitgevoerd gaan worden om een bepaalde muizenlijn te maken, een dergelijke muizenlijn elders (bijvoorbeeld in het buitenland) bestaat. Indien elders een relevante muizenlijn bestaat, is de Commissie van mening dat er een reëel alternatief bestaat en dient de aanvrager de houder van die muizenlijn te verzoeken om daarvan gebruik te mogen maken. De Commissie wenst daarmee aan te geven dat doublures in de biotechnologische handelingen bij dieren zoveel mogelijk voorkomen dienen te worden.

Vergunningverlener onderschrijft dat doublures in het verrichten van biotechnologische handelingen zoveel mogelijk voorkomen dienen te worden, maar is van mening dat het onnodig is dit onderdeel van het advies van de Commissie in de vorm van een beperking over te nemen. De toets op het al dan niet aanwezig zijn van alternatieven voor de biotechnologische handelingen waarvoor een vergunning wordt aangevraagd dient éénmalig plaats te vinden en wel voorafgaand aan de verlening van een vergunning. Dit laat onverlet dat op grond van artikel 72, aanhef en onder d, Gezondheids- en welzijnswet voor dieren de bevoegdheid bestaat tot wijziging van een beschikking, indien na de verlening van de vergunning is gebleken van feiten en omstandigheden die, waren zij bekend op het moment van de verlening van de vergunning, aanleiding zouden zijn geweest om de aanvraag te wijzigen dan wel af te wijzen. Bovendien mag, op grond van artikel 10, eerste lid, aanhef en onder a, van de Wet op de Dierproeven (Wod) een dierproef niet worden verricht indien naar de algemene kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, het doel ook kan worden bereikt door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt. Derhalve dient in het geval een te vervaardigen transgeen dier reeds beschikbaar is, daarvan gebruik gemaakt te worden. De vergunninghouder ex. artikel 2 Wod is daarnaast, op grond van artikel 10a Wod, verplicht dierproeven voor advies voor te leggen aan een dieren experimentencommissie ex. artikel 18a Wod. Bij de beoordeling van een dergelijk verzoek dienen de meeste recente ontwikkelingen met betrekking tot de beschikbaarheid van de in het kader van een dierproef te vervaardigen genetisch gemodificeerde dieren betrokken te worden.

Voorschriften

Er worden vier voorschriften bij de vergunning gesteld.

Op grond van artikel 72, aanhef en onder d, Gezondheids- en welzijnswet voor dieren kan een vergunning ondermeer met onmiddellijke ingang geschorst of gewijzigd worden dan wel worden ingetrokken indien na de verlening van de vergunning is gebleken van feiten en omstandigheden die, waren zij bekend op het moment van de verlening van de vergunning, aanleiding zouden zijn geweest om de aanvraag te wijzigen dan wel af te wijzen.

Omdat veranderingen in de integriteit, de normale fysiologie en het functioneren van de proefdieren ten gevolge van het toevoegen van de genoemde genen niet met zekerheid te voorspellen zijn, wordt het - overeenkomstig het gestelde in de aanvraag en advies van de Commissie - van belang geacht dat de dieren die onnodig ernstig ongerief blijken te ondervinden worden gedood. De Commissie meent dat bij ernstig ongerief de dieren onverwijld dienen te worden gedood. De vergunningverlener onderschrijft dit advies. Hiertoe is voorschrift 2 opgenomen.

Omdat vergunningverlener meer inzicht wil krijgen in de aard van mogelijk optredend ernstig ongerief, is zowel voorschrift 2 als voorschrift 3 uitgebreid met de eis dat van de dieren die onverwijld gedood werden vanwege ernstig ongerief een pathologierapport dient te worden opgesteld. Dit pathologierapport dient toegevoegd te worden aan het logboek zoals bijgehouden

wordt op grond van voorschrift 4, zodat het inzichtelijk is voor bevoegde ambtenaren van de controlerende instanties.

Daarnaast wordt het van belang geacht dat onverwachte effecten op de gezondheid of het welzijn van dieren gemeld worden. Hiertoe is voorschrift 3 opgenomen en dient de vergunninghouder, in overeenstemming met het advies van de Commissie, op basis van voorschrift 4 een logboek of een database als bedoeld in de “Code of Practice welzijnsbewaking bij proefdieren” van de Voedsel en Waren Autoriteit bij te houden. In het logboek of de database dienen gegevens over de gezondheids- en welzijnstoestand [eetlust, gewichtsverloop, het gedrag van de dieren en eventuele opvallende kenmerken of afwijkingen van de genetisch gemodificeerde dieren (chimaera's en transgenen)] doelmatig, dat wil zeggen inzichtelijk voor de controlerende instantie en met een zodanige regelmaat dat het verloop van de gezondheids- en welzijnstoestand weergegeven wordt, vermeld te worden.

Eveneens dient in het logboek vermeld te worden:

- het aantal dieren gebruikt bij de biotechnologische handeling
- het aantal dieren dat de genetische modificatie (chimaera's en transgenen) bezit.

Hierbij kan gebruik worden gemaakt van de “Code of Practice welzijnsbewaking van proefdieren” van de Voedsel en Waren Autoriteit (zie hoofdstuk 6) en indien gewenst kan ook gebruik gemaakt worden van de aantekeningen die reeds gemaakt dienen te worden op basis van artikel 15 Wod juncto artikel 10 Dierproevenbesluit, welke aantekeningen daartoe zodanig aangevuld dienen te worden dat alle voorgenoemde gegevens vermeld worden.

Opdat de beperkingen en voorschriften van deze vergunning nageleefd worden, wordt in voorschrift 1 bepaald dat het bij de werkzaamheden betrokken personeel van de bepalingen van deze vergunning op de hoogte dient te zijn.
