

MENS :
een indringende
en educatieve
visie op het
leefmilieu

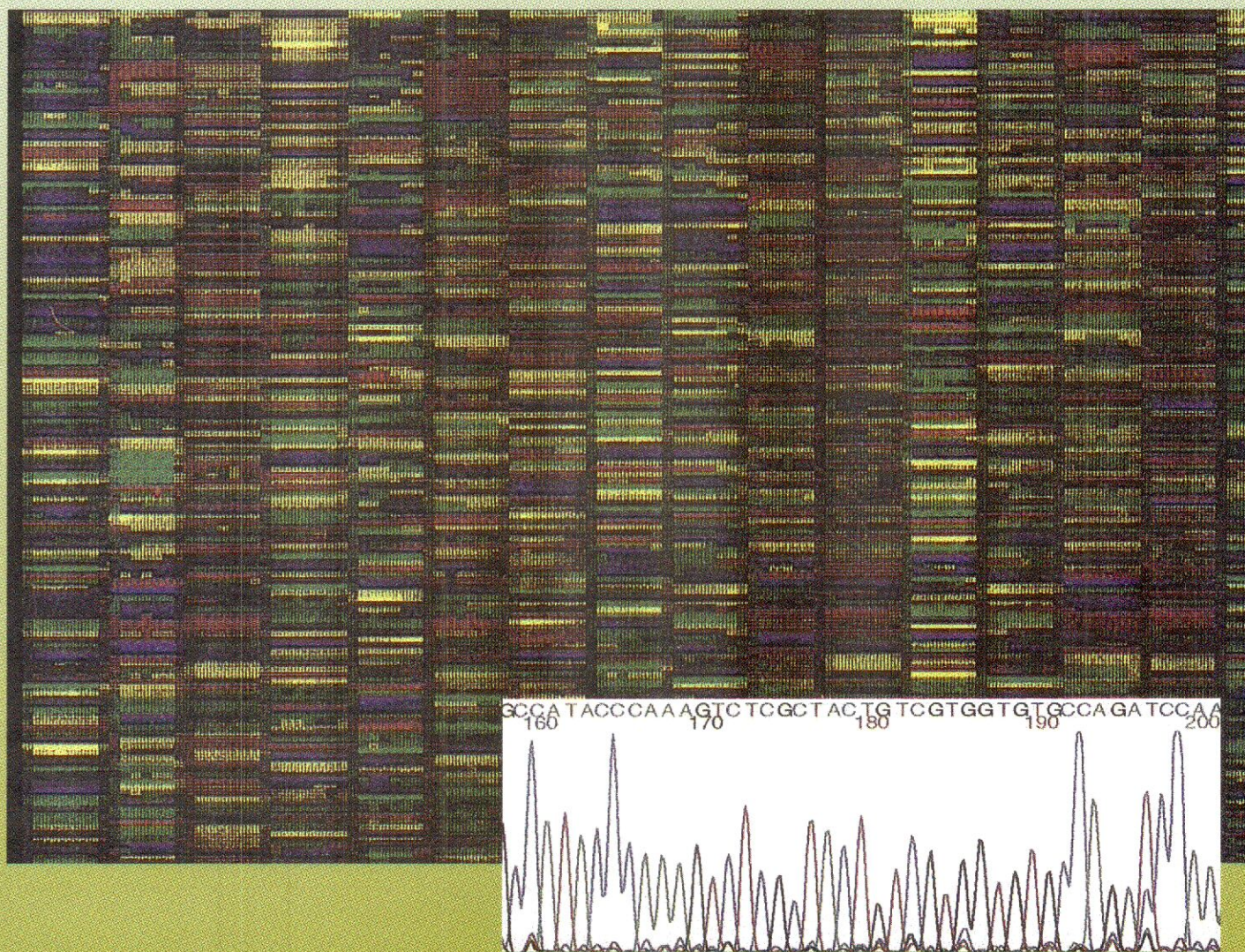
Dossiers en rubrieken
didactisch gewikt
en gewogen door
eminente specialisten

32



Milieu-
Educatie,
Natuur &
Samenleving

1ste kwartaal 1999 Driemaandelijks milieutijdschrift: 'een must voor een mens'



"Genezen met Gentechnologie"

Deel 2: Jacht op ziektegenen

Inhoud

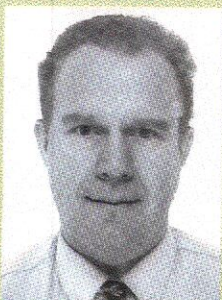
Redactioneel: 'genetisch gezond'	2
Dossier: "Genezen met Gentechnologie" deel 2	3
Adressen centra menselijke erfelijkheid	16

Redactioneel

Gendiagnostiek en gentherapie gebeuren niet in het luchtledige, maar in een concrete tijd en ruimte, met een welbepaalde cultuur waarin mensen met verlangens en prioriteiten leven. In onze hedendaagse samenleving is gezondheid een van de belangrijkste waarden in het leven van mensen. Deze gezondheid lijkt daarenboven voor een groeiend aantal mensen quasi volledig bepaald te worden door de eigen genetische samenstelling. Het nastreven van een genetische gezondheid en het vermijden van genetische ziekte is dan niet alleen een mogelijkheid, maar wordt een plicht. Vanuit verschillende hoeken worden er vragen gesteld bij een dergelijke ophemeling van de genetische gezondheid en diabolisering van de genetische ziekte. Het dwingende karakter van het gezondheidsbegrip (Je moet gezond zijn om erbij te horen) kan met zich meebrengen dat de afhankelijkheid van het medische regime wordt vergroot; dat gezondheid als een maakbare en ziekte als een uit te schakelen factor worden gezien. Het bijna dwangmatig streven naar genetisch gezonde mensen wordt daarom door verschillende groeperingen en strekkingen in vraag gesteld.

Bij het in praktijk brengen van gendiagnostiek en gentherapie is het van belang om deze context, idealen, verwachtingen en waardeoordelen mee te verrekenen. Het veronderstelt verschillende keuzes in verband met (genetische) gezondheid en ziekte. Welke 'ziekte' komt in aanmerking voor een gendiagnostiek? Welk ideaal van genetische gezondheid heeft men voor ogen? Hoe gaat men de band tussen de genetische mutatie(s) en de klinische manifestatie voorstellen? Op welke manier gaat men die informatie aan de bevolking voorstellen? Het is duidelijk dat in deze 'gezondheidskwesitie' waardegeladen keuzes gemaakt worden. Wanneer sociopolitieke beslissingen worden genomen, is het belangrijk te zien hoe de problemen benoemd en voorgesteld worden om zo de idee te vermijden dat het verhaal dat het luidst wordt voorgesteld het enige of het beste is. In die zin pleiten we voor een zeer genuanceerd en adequaat taalgebruik, waarin zo duidelijk mogelijk wordt aangegeven wat de rol is van respectievelijk de genen en andere factoren.

Dit kan de bewustwording van de complexiteit van het ziekte proces bevorderen en leiden tot een weloverwogen oordeel over de verschillende interventie- en preventiemogelijkheden.



Dr. Kris Dierickx (NFWO)
Centrum voor Biomedische Ethiek en Recit (K.U. Leuven)

© Alle rechten voorbehouden MENS 1999

Algemene informatie en coördinatie:
R. Caubergs, A. Van der Auweraert
RUCA, Groenenborgerlaan, 171 - 2020 Antwerpen
Tel.: 03/218.04.21 Fax: 03/218.04.17
e-mail: mens@ua.ac.be

Onder de auspiciën van:

- Vlaamse Vereniging voor Biologie (V.V.B.)
- Belgisch Werk tegen Kanker en Vlaamse Kankerliga
- Koninklijke Vlaamse Chemische Vereniging (K.V.C.V.)
- Koninklijke Vlaamse Ingenieursvereniging (KVIV)
- Vereniging Leraars Wetenschappen (VeLeWe)
- Vereniging voor het Onderwijs in de Biologie (V.O.B.)
- Vereniging Leraars Aardrijkskunde (V.L.A.)
- Vlaamse Ingenieurskamer (V.I.K.)
- Water - Energie - Leefmilieu (WEL)
- Centrum voor Milieusanering, U. Gent
- Verbond der Vlaamse Academiën (V.V.A.)
- Nederlands Instituut voor Biologen (NIBI)
- Natuur & Wetenschap
- Provinciaal Instituut voor Milieu-Educatie (PIME)
- Koninklijke Maatschappij voor Dierkunde van Antwerpen (KMDA)
- Zoo Antwerpen en dierenpark Planckendael
- Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen (KBIN)
- Koninklijk Instituut voor het duurzaam beheer van de Natuurlijke rijkdommen en de bevordering van de schone Technologie (K.I.N.T.)

Kernredactie:

R. Caubergs, C. Thoen,
A. Van der Auweraert

Redactionele coördinatie:

A. Van der Auweraert, R. Caubergs

Mede-auteurs:

Prof. Dr. Johan Grooten, Hans Dooms en Pieter Rottiers, VIB-RUG
Prof. Dr. Gert Matthijs, Centrum Menselijke erfelijkheid, KUL
Prof. Dr. M. Cokelaere, Kulak
Prof. Patrick Willems, RUCA

Met dank voor de illustraties:

Luc Van Dessel (Innogenetics),
Gert Matthijs (KUL)

Topic and fund raising:

Sonja De Nollin, Te Boelaarlei 23, 2140 Antwerpen
Tel.: 03 322 74 69, Fax 03 321 02 77,
e-mail: denollin@uia.ua.ac.be

Jaarabonnement door storting op naam van:

R. Caubergs, "Tijdschrift MENS":
België: 700 BF op 220-0851525-95

Verantwoordelijke uitgever:

R. Valcke (Vlaamse Vereniging voor Biologie)
Reimenhof 30, B-3530 Houthalen

Genezen met Gentechnologie

Deel 2: jacht op ziektegenen

"De appel valt niet ver van de boom" is een alomtbekende zegswijze die suggereert dat sommige menselijke eigenschappen erfelijk overgedragen kunnen worden. Maar het is pas door de studie van de menselijke erfelijkheid, die de laatste decennia in een enorme stroomversnelling gekomen is, dat men thans een vrij nauwkeurig beeld heeft van de biologische wetmatigheden die bepalen hoe erfelijke eigenschappen worden opgeslagen, hoe ze aan het nageslacht worden doorgegeven en op welke wijze ze hun invloed laten gelden op ons uitzicht en onze persoonlijkheid. Bovendien heeft men van steeds meer eigenschappen en ziekten ook al kunnen achterhalen welke specifieke genetische factoren er aan de basis van liggen en hoe ze zich concreet ontwikkelen. Niet alleen de aanleg voor bepaalde ziektes, of de snelheid waarmee een ziekte toeslaat, maar ook de vatbaarheid voor infecties en medicijnen staat gegrift in ons erfelijk materiaal.

De groeiende theoretische kennis heeft geleid tot een uitbreiding van toepassingsmogelijkheden onder meer op het vlak van de gendiagnostiek. Het vroegtijdig opsporen beperkt zich niet alleen tot erfelijke ziekten, maar ook bij verworven aandoeningen, zoals kanker en AIDS, kunnen de diverse technieken behulpzaam zijn. De nieuwste techniek voor gendiagnostiek nl. de DNA-chiptechnologie, een kruisbestuiving tussen informatica en biotechnologie, zal de komende jaren een medische revolutie veroorzaken. En 'last but not least' is er de gentherapie. In de toekomst zal men in staat zijn in te grijpen in het erfelijk materiaal van patiënten, om op die manier hun erfelijke uitrusting zelf corrigerend aan te pakken.

De DNA-technologie belooft ons minder ziekten, een snellere genezing en een langer leven!

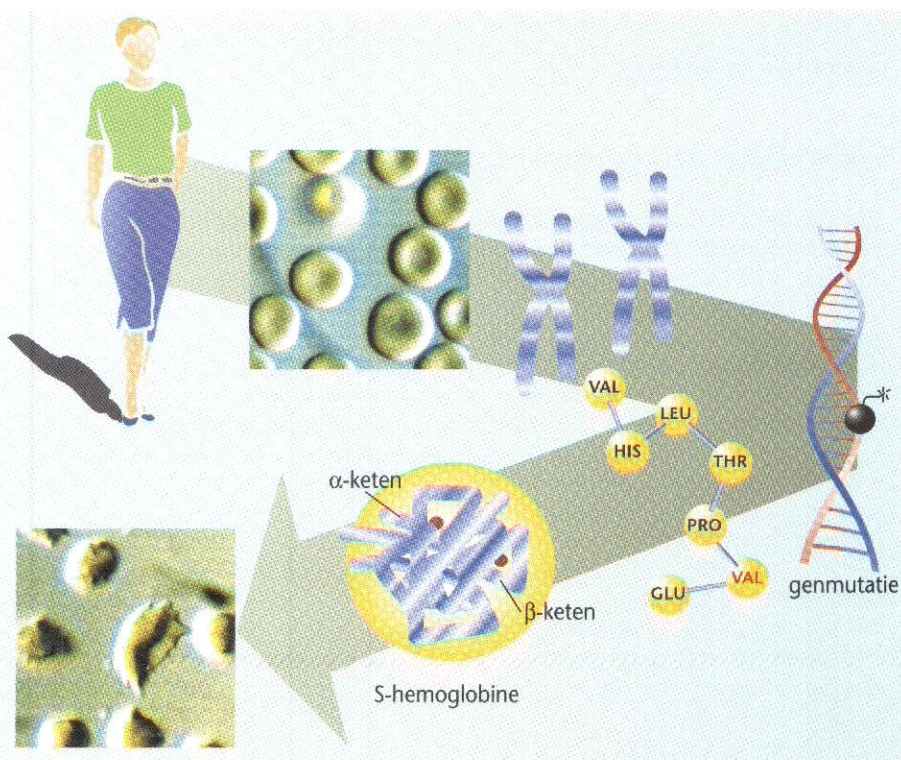
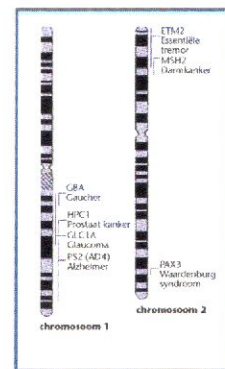
Als het fout loopt....

Erfelijk materiaal is vatbaar voor veranderingen. Mutaties liggen mede aan de basis van de evolutie en zorgen ervoor dat een organisme zich kan aanpassen aan gewijzigde omstandigheden.

De keerzijde van de medaille is dat mutaties ook nefast kunnen zijn. Denk maar aan het syndroom van Down (mongolisme), de ziekte van Huntington en cystic fibrosis (mucoviscidose of taaislijmziekte). Hoewel de lijst van gekende erfelijke ziekten steeds langer wordt, zijn de meeste ervan zeer zeldzaam.

Mutaties spelen echter ook een rol in niet-erfelijke ziekten zoals hart- en bloedvataandoeningen, suikerziekte, kanker, Alzheimer, manische depressie, schizofrenie, alcoholisme en vele anderen. Ons erfelijk materiaal heeft rechtstreeks of onrechtstreeks veel meer met onze gezondheid te maken dan dat we konden vermoeden.

Wijzigingen in het erfelijk materiaal hebben uiteindelijk hun weerslag op de functie en de werking van de eiwitten. Bekijken we bijvoorbeeld wat er gebeurt als er een kleine wijziging optreedt in het gen dat codeert voor één van de ketens van hemoglobine, het rode bloedpigment dat in de longen zuurstof bindt en dit daarna afgeeft in de weefsels van het lichaam. De mutatie waarbij slechts één base nl. glutamine vervangen werd door valine resulteert in 'S' hemoglobine dat te weinig zuurstof kan binden en de neiging heeft met andere moleculen samen te klonteren. Hierdoor veranderen de rode bloedlichaampjes van vorm en ontstaat er de typische sikkelcelvorm met de gekende ziekte sikkelcelanemie tot gevolg. Andere mutaties hebben dan weer een invloed op de expressie of de regulatie van een gen zoals bijvoorbeeld bij kanker.



Bijna perfect is niet genoeg!

Mutaties treden meestal spontaan op, als een soort 'typefouten' bij de verdubbeling van het DNA voorafgaande aan de celdeling. De genetische code in onze cellen is te vergelijken met een computertaal.

Maar daar waar een computerprogramma bestaat uit een combinatie van slechts twee eenheden (0 en 1), bestaat ons genetisch schrift uit een opeenvolging van vier basen (A, C, T en G) die in een specifieke volgorde gerangschikt zijn. Het gros van de erfelijke ziekten vindt

zijn oorzaak in wijzigingen in deze basenvolgorde. Er kunnen bijvoorbeeld één of meerdere basen vervangen, toegevoegd of verloren zijn gegaan. Het gevolg van deze wijzigingen is een verstoren van de normale genetische code. Een voorbeeld uit onze schrijftaal (die ook een soort code is) kan dit duidelijk maken. Probeer het volgende maar eens te lezen: 'bij genmutaties is mare enk leins tukjev anh etD NAV eranderd'. De lengte van de woorden is bewaard gebleven maar er werd één lettertje verwijderd (deletie). Ook het bijvoegen van één of meerdere basen (insertie) kan zo'n 'frameshift' mutatie veroorzaken.

Andere wijzigingen leiden niet direct tot onleesbare nonsens maar tot verkeerde informatie. Eenvoudig kan je dit voorstellen alsof er in een recept voor cake i.p.v. suiker de code zout staat. Het eindproduct zal je niet bevallen. Dit soort veranderingen noemt men 'mis-sense' mutaties. Bij non-sense mutaties stopt de productie van het eiwit vroegtijdig waardoor er een onafgewerkt product ontstaat. Naast genmutaties, die het meest voorkomen, kunnen ook wijzigingen optreden in een bepaald stuk van een chromosoom. Dit noemt men chromosoommutaties. Genoommutaties zijn dan weer wijzigingen van het totaal aantal chromosomen. Bijvoorbeeld bij het alom bekende syndroom van Down waar mongooltjes drie ipv. twee chromosomen 21 hebben. Meestal zijn deze wijzigingen in het genetisch materiaal echter zo groot dat het organisme niet levensvatbaar is.

Wanneer een mutatie plaatsvindt in een voortplantingscel, dan spreekt men van een erfelijke mutatie en kan zij overgedragen worden op de nakomelingen. In normale omstandigheden is er gemiddeld 1 mutatie per voortplantingscel dus draagt ieder individu op zijn minst twee nieuwe mutaties. Men moet hierbij wel opmerken dat veel mutaties geen zichtbaar effect hebben terwijl embryo's met nefaste mutaties vaak niet leefbaar zijn. Verder blijkt ook dat sommige genen een stuk frequenter muteren dan andere. Waar de gemiddelde mutatiefrequentie van een gen 1 op 100.000 celdelingen bedraagt, hetzij zo'n 10 mutaties per miljoen voortplantingscellen, zien we dat de frequentie van sommige genmutaties daar van afwijkt. Deels is dit te verklaren doordat de omvang van genen die betrokken zijn bij erfelijke aandoeningen zeer sterk varieert. Hoe groter het gen (aantal basenparen), hoe meer kans op een mutatie. Ook het aantal mutaties die tot

eenzelfde ziekte kunnen leiden, is erg uiteenlopend. Bij Duchenne-spierdystrofie (1 op 3500 jongens) zijn het er een paar tientallen, bij mucoviscidose (1 op 1800) zelfs meer dan zeshonderd.

2 à 3 % risico

Men schat dat 2 tot 5 op 1000 pasgeboren kinderen een monogene aandoening heeft dwz. dat één enkel gen (met het defect) volstaat om de ziekte te ontwikkelen. Naast afwijkingen die al meteen zichtbaar zijn bij de geboorte, zijn er ook defecten die zich pas veel later manifesteren. Voorbeelden hiervan vindt men onder meer in de spierdystrofie van Duchenne en de ziekte van Tay-Sachs (hoge frequentie bij Joden). Aanvankelijk zijn deze kinderen gezond maar na enkele jaren ontwikkelen zij de ziekte. Bij de ziekte van Huntington treden de symptomen nog veel later op. Vaak spelen verschillende

Mutatiefrequentie voor enkele genetische aandoeningen

Aard en naam van de aandoening	Mutatiefrequentie (aantal mutaties per miljoen gameten)
achondroplasie	40
ziekte van Huntington	5
syndroom van Marfan	5
retinoblastoom	25
albinisme	30
epidermolysie	50
hemofilie A	30
spierdystrofie van Duchenne	40

Suikerziekte: een genetische component

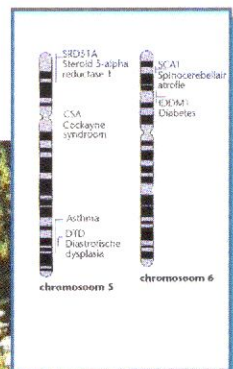
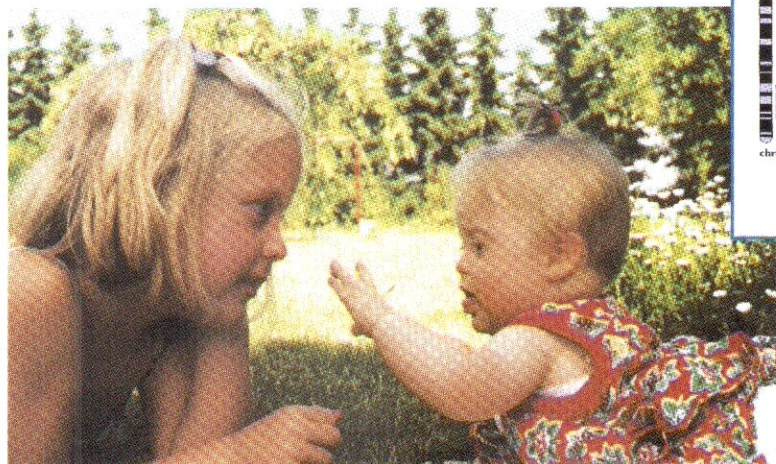
Type I diabetes of jeugddiabetes is een duidelijk voorbeeld van multifactoriële overerving. Dit betekent dat er enerzijds een genetische aanleg voor bestaat, maar dat de ziekte pas echt doorbreekt wanneer ook bepaalde omgevingsfactoren aanwezig zijn. Type I diabetes verschijnt meestal vrij plots in de kindsheid en wordt gekenmerkt door een absoluut tekort aan insuline. Globaal gezien komt deze kwaal voor bij 1 op 500 mensen. Als de vader aangetast is, dan is de kans dat de kinderen de ziekte krijgen ongeveer 5%, terwijl de frequentie daalt tot ongeveer 2% als de moeder de ziekte heeft. De aanleg om deze vorm van suikerziekte te ontwikkelen, wordt door verschillende onafhankelijke opererende genen veroorzaakt: genen die een rol spelen bij de aanmaak van insuline en genen die betrokken zijn bij onze afweer. De ziekte zelf zou echter pas ontstaan wanneer mensen die er aanleg voor hebben, besmet raken met bepaalde virussen die voor andere personen relatief onschadelijk zijn. Daarnaast moeten er nog andere (voorlopig onbekende) omgevingsfactoren bestaan die de ziekte eveneens kunnen uitlokken bij personen die een genetische gevoeligheid vertonen. Ook bij type II of ouderdomsdiabetes (3 tot 7% volwassenen in het Westen) spelen duidelijk genetische factoren mee maar zijn er nog geen duidelijke genen gelokaliseerd. Uitlokkende factoren zijn wel: overgewicht en het langdurig produceren van hoge insulineconcentraties.

genen een rol bij het ontstaan van de ziekte (congenitale aandoeningen) terwijl ook specifieke milieufactoren een rol spelen in het tot uiting komen van bepaalde kenmerken. Indien deze multifactoriële aandoeningen, zoals bijvoorbeeld spina bifida (open rug), klompvoet, suikerziekte, te hoge bloeddruk en bepaalde neurologische aandoeningen worden meegeteld, of in een ruimer kader, de genetische voorbeschiktheid tot bijvoorbeeld cardiovasculaire aandoeningen of kanker, dan is het aantal individuen dat geboren wordt met een defect in het erfelijk materiaal aanzienlijk groter. Naar schatting wordt 1 op 30 individuen geboren met één of ander genetisch defect.

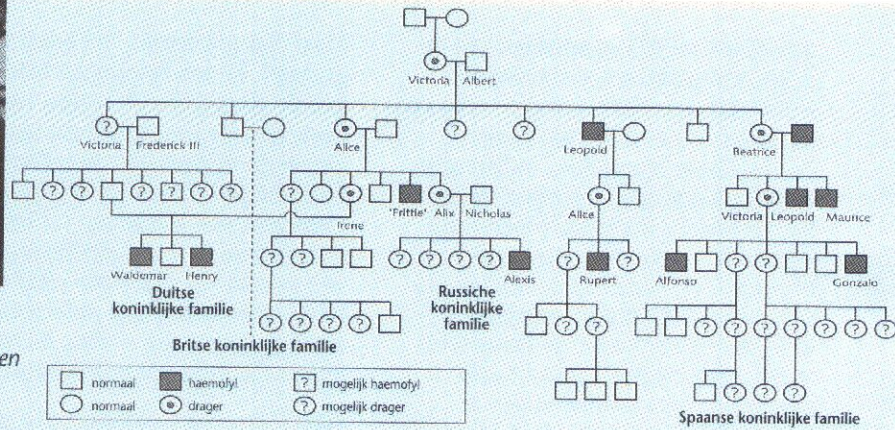
Naast mutaties die erfelijk zijn, kunnen er ook mutaties optreden in gewone lichaamscellen, men spreekt dan van somatische mutaties. Ze spelen o.a. een rol in het ontstaan van kanker en hart- en bloedvaatziekten. Mutaties in lichaamscellen treden vrij frequent op maar ons lichaam heeft een zeer goed reparatie-mechanisme ter beschikking.

Maar niet onbepaald, het heeft zijn grenzen. Bij een langdurige blootstelling aan de schadelijke UV-stralen van zonlicht is de kans groot dat het genetisch materiaal in de cellen blijvend beschadigd is, ondanks het reparatiemechanisme, wat kan leiden tot huidkanker. Ook andere factoren zijn bekend waarvan men in het algemeen weet dat ze mutageen werken o.a. radioactieve straling, kosmische straling bij het reizen in een vliegtuig op grote hoogte,

sommige landbouwgiften, sigarettenrook, bepaalde groeihormonen in het vlees. Maar ook virussen, vooral de zogenaamde retrovirussen (die RNA i.p.v. DNA als erfelijk materiaal hebben) zijn belangrijke bronnen van DNA-beschadigingen.



Genetische basis	Frequentie per 1000 geboorten	Ziekte	Frequentie in Noord-Europa per 1000 geboorten	Symptomen	Aanvang van de ziekte	Gemiddelde periode van ziek zijn	Verlies aan levensjaren
Chromosomale afwijkingen	6,8	Down syndroom	Afh. leeftijd moeder	Mentale achterstand, enz.	Geboorte	35	35
		Klinefelter		Stoornis in de seksuele ontwikkeling	Geboorte		
Autosomaal recessief	2,2-2,5	Cystic fibrosis	0,5	Overvloedige mucussecretie/long- en spijsverteringscomplicaties	1-2 jaar	8	60
		Fenylketonurie	0,1	Mentale deficiëntie	Geboorte	40	30
		Sikkelcelanemie	0,1	Chronische bloedarmoede infecties/hematolysis	6 maand		
		Tay-Sachs		Doofheid/blindheid/spasmen	3-6 maand	2-4 jaar	70
		Thalassemie	0,05	Anemie/skeletafwijkingen	3 mnd-2 jaar	1-8 jaar	65
Autosomaal dominant	1,8-9,5	Familiale hypercholesterolemie	2	Hoog cholesterolgehalte hart- en vaatziekten	20-55	10	5
		Huntington	0,5	Ongecoördineerde bewegingen/dementie	35-45	15	10
		Polycystische nieren	0,8	Cystevorming in lever/pancreas/nieren	40-60		
X-gebonden	0,5-2,0	Hemofilie A	0,1	Geen bloedstolling/frequente bloedingen	0-1 jaar	50	20
		Duchenne spierdystrofie	0,3	Spierdegeneratie	4	16	50
Multifactorieel	26-32	Asthma		Ademhalingsmoeilijkheden	geboorte		
		Hart- en vaatziekten		Atherosclerose/hartinfarct	Middelbare leeftijd		

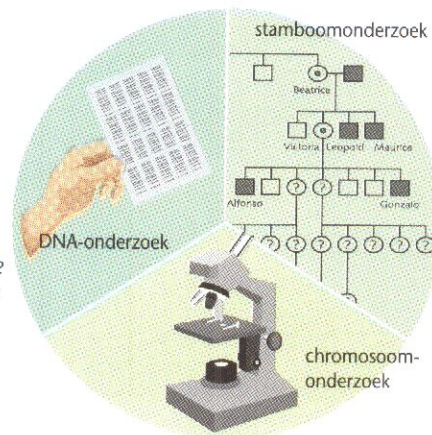


Wellicht de meest bekende stamboom is deze van koningin Victoria. Van de vier dochters met nakomelingen waren Alice en Beatrice dragers van het defect gen voor hemofilie. Zij gaven de ziekte door aan Duitse, Russische en Spaanse vorstenhuizen.

Stamboomonderzoek

Wanneer er bij toekomstige ouders een vermoeden bestaat dat de een of andere erfelijke afwijking wellicht in de familie zit, wordt er eerst een grondige analyse van de familiale voorgeschiedenis gemaakt. Hiertoe stelt men een gedetailleerde stamboom op, waarin nauwkeurig wordt aangegeven bij welke familieleden de afwijking al of niet tot uiting kwam en wie mogelijke dragers zijn waarna het reële risico op aantasting bij de eventuele kinderen ingeschat wordt.

De toenemende aandacht voor aangeboren afwijkingen kan deels verklaard worden door de explosieve ontwikkeling van de mogelijkheden van erfelijkheidsdiagnostiek.



Mendeliaanse overervingspatronen

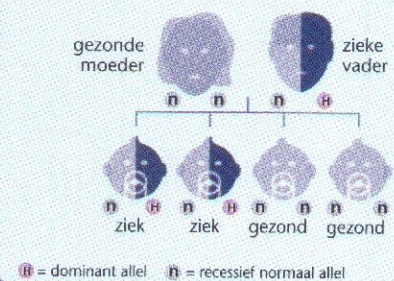
Erfelijke ziekten omvatten monogenetische, chromosomale en multifactoriële aandoeningen. Bij de monogenetische ziekten kan het betreffende gendefect gelegen zijn op een autosoom (niet-geslachtsgebonden chromosoom) of op een heterosoom (geslachtsbepalend chromosoom). In het laatste geval spreekt men van geslachtsgebonden overerving. Bovendien kan het gendefect recessief of dominant zijn. Dat onderscheid bestaat omdat elk van onze kenmerken tweemaal beschreven wordt, dus voor elk kenmerk dragen we twee, al dan niet onderling verschillende genen mee. Het ene gen komt van de vader en het andere van de moeder.

Dominante erfelijke aandoeningen zijn het gevolg van een fout in één gen van het genenpaar. Bekende aandoeningen die autosomaal dominant worden overgeërfd, zijn o.a. achondroplasie of dwerggroei, de ziekte van Huntington en sommige vormen van borstkanker.

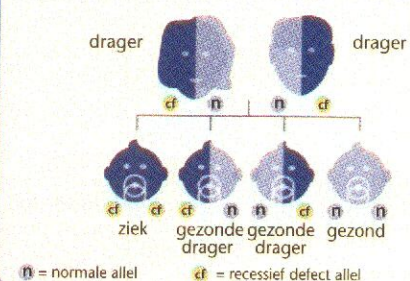
Recessief erfelijke aandoeningen worden overgedragen als zowel de vader en de moeder dit afwijkende gen doorgeven aan hun kind. Iemand met één defect en één normaal gen heeft de ziekte niet, maar is wel drager. Hij kan het defect gen wel doorgeven aan zijn nakomelingen. De meest frequente autosomale recessieve, ernstige aandoening bij onze bevolking is mucoviscidose.

Geslachtsgebonden of X-gebonden aandoeningen treffen vooral mannen. Het foute gen ligt op het X-chromosoom. Een vrouw (geslachtschromosomen XX) heeft deze genen dubbel, maar een man (XY) niet. Terwijl dus bij een vrouw het normale gen het defecte gen kan compenseren, is dit niet mogelijk bij de man. Dit verklaart waarom X-gebonden aandoeningen zoals kleurenblindheid, de ziekte van Duchenne, hemofilie en het fragile-X syndroom meer voorkomt bij mannen dan bij vrouwen. Het fragile-X syndroom, met mentale retardatie tot gevolg, is de meest frequente heterosomale aandoening bij onze bevolking.

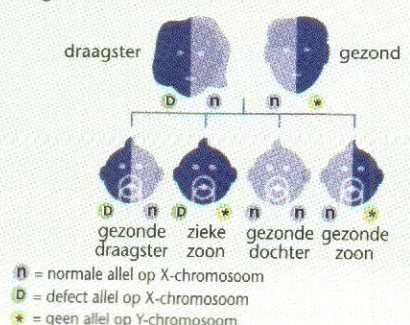
Autosomaal dominant vb. Huntington



Autosomaal recessief vb. cystic fibrosis



X-gebonden vb. Duchenne

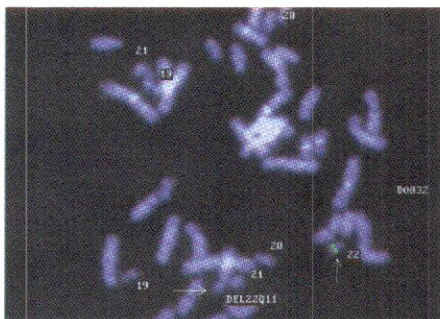


Kijken naar de chromosomen ...

De belangstelling voor erfelijkheidsdiagnostiek steeg aanzienlijk toen in 1959 de chromosomale basis van het syndroom van Down werd aangetoond. Vanaf de jaren zestig werd de mogelijke bijdrage van de klinische genetika steeds duidelijker. Het werd in sommige gevallen mogelijk groepen mensen op bepaalde erfelijke afwijkingen te screenen en te informeren over de mogelijke risico's.

In de loop der jaren zijn er ook diverse technieken ontwikkeld om de chromosomen in een delende cel zodanig te behandelen dat hun structuur duidelijk genoeg wordt om ze onder de lichtmicroscopie te herkennen en ze in groepen te ordenen. Dit is vooral erg praktisch wanneer er chromosomale afwijkingen worden vastgesteld.

Voor het opstellen van zo'n chromosomenkaart of karyogram rangschikt men de chromosomen volgens lengte, van groot naar klein, in homologe paren en nummert men ze van 1 tot 22. De twee geslachtschromosomen worden apart gezet. Men kan de gegevens uit iemands karyogram ook in het kort weergeven met behulp van een conventionele



Met recente technieken kan men ook submicroscopische chromosomale afwijkingen vaststellen (FISH-techniek: fluorescentie in situ hybridisatie) waardoor meer en meer erfelijke afwijkingen rechtstreeks visueel aantoonbaar worden.

letter- en cijfercombinatie. Men noemt dit het karyotype. Enkele voorbeelden:

- 46, XX** het karyotype van een normale vrouw met 46 chromosomen waarvan twee X-chromosomen
- 47, XXY** een individu met 47 chromosomen waarvan twee X en 1 Y: het Klinefelter syndroom
- 47, XY, +21** een man met 47 chromosomen waarvan 3 chromosomen 21: het Down syndroom

Naast de numerieke afwijkingen kunnen op deze manier ook structurele afwijkingen (deleties, duplicaties en translocaties) opgespoord worden.

DNA-onderzoek

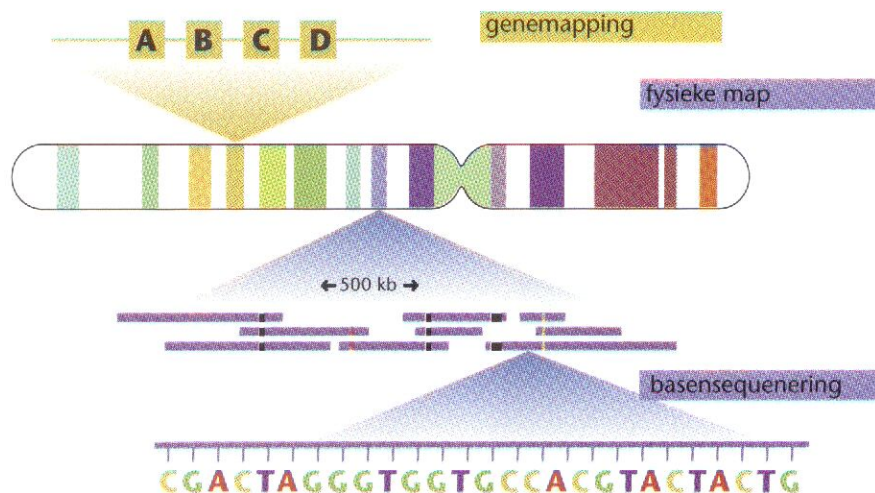
Tot voor een paar decennia moest het genetische onderzoek zich noodgedwongen beperken tot een stamboomanalyse en het bepalen van een karyogram.

Voor een toenemend aantal genetische ziekten bestaat nu ook de mogelijkheid om de aan- of afwezigheid van een mutatie rechtstreeks in de genen aan te tonen. Van meer en meer genen kent men immers de exacte basenopeenvolging, het volledige 'recept'. Intussen is men sinds 1988 ook druk bezig om het menselijk genoom (het ganse DNA) zo spoedig mogelijk helemaal in kaart te brengen. Hierdoor zullen ongetwijfeld ook nieuwe inzichten komen in de genetische factoren van de vele multifactoriële ziekten op volwassen leeftijd. Dan zullen uitspraken op lange termijn over bepaalde gezondheidsrisico's mogelijk worden op basis van de combinatie van familiegegevens en gerichte DNA-analyse. 'Beter voorkomen dan genezen' wordt het motto.

Speurtocht naar genen

Vooraleer men echter aan gendiagnostiek (of het opsporen van een defect gen in iemands erfelijk materiaal) kan doen, is er reeds heel wat wetenschappelijk speurwerk aan voorafgegaan. Belangrijke stappen in het genetisch onderzoek zijn enerzijds de 'genemapping', waarbij men de exacte plaats van een gen in het genoom tracht op te sporen en anderzijds de 'sequencerings' waarbij men de precieze basenopeenvolging van het gen probeert te bepalen.

Een zeer krachtige techniek die bij mapping gebruikt wordt berust op de

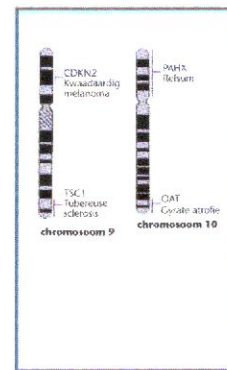


Belangrijke stappen in het genetisch onderzoek.

lokalisatie van een gen in relatie tot een ander gen waarvan de positie al bekend is (positionele klonering). Belangrijke begrippen hierbij zijn: gekoppelde genen, recombinatie en genetische afstand. Men weet dat genen in een vaste volgorde liggen op de chromosomen. Maar tijdens de meiotische celdeling (deling bij de vorming van voortplantingscellen) gebeuren bijna

steeds overkruisingen waardoor stukken van het ene chromosoom overgaan naar het homologe partnerchromosoom en omgekeerd.

Genen worden hierdoor dus van elkaar losgekoppeld. De frequentie waarmee twee genen van elkaar gescheiden raken, kan daarom gebruikt worden om hun afstand op een DNA molecule te schatten. Genen die zeer dicht tegen elkaar liggen hebben statistisch minder kans om door overkruising van elkaar los te komen dan genen die verder van elkaar liggen. Ze vormen een koppelingsgroep van genen die bijna altijd samen worden overgeërfd. In zo'n geval kan het aantonen van een bepaald gen volstaan om met relatief grote zekerheid de aanwezigheid van het vlak ernaast gelegen (eventueel ziekmakende) gen te kunnen voorspellen. Door koppelingsonderzoek wist men bijvoorbeeld sinds 1981 dat het defect voor de ziekte van Huntington zich ergens op de tip van de korte arm van chromosoom 4 moest bevinden. Het gen zelf werd pas 12 jaar later beschreven.



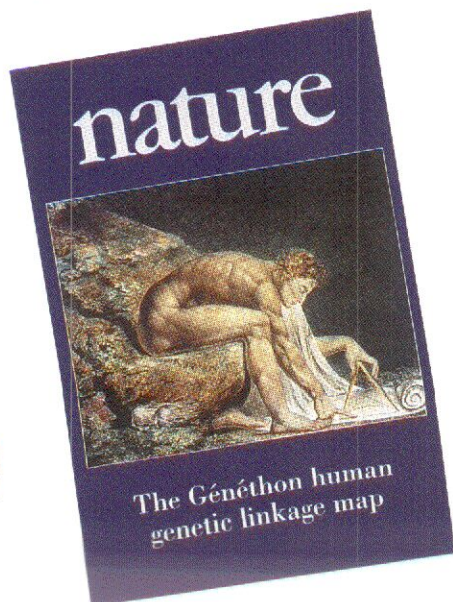
Verklippers

Bij het opsporen en lokaliseren van genen met koppelinganalyse maakt men sinds jaren gebruik van polymorfe merker-genen. Dit zijn genen waarvan er zeer veel verschillende varianten in de populatie voorkomen, zodat ze met een grote mate van waarschijnlijkheid verschillen tussen twee niet-verwante personen. Als men via familie-onderzoek

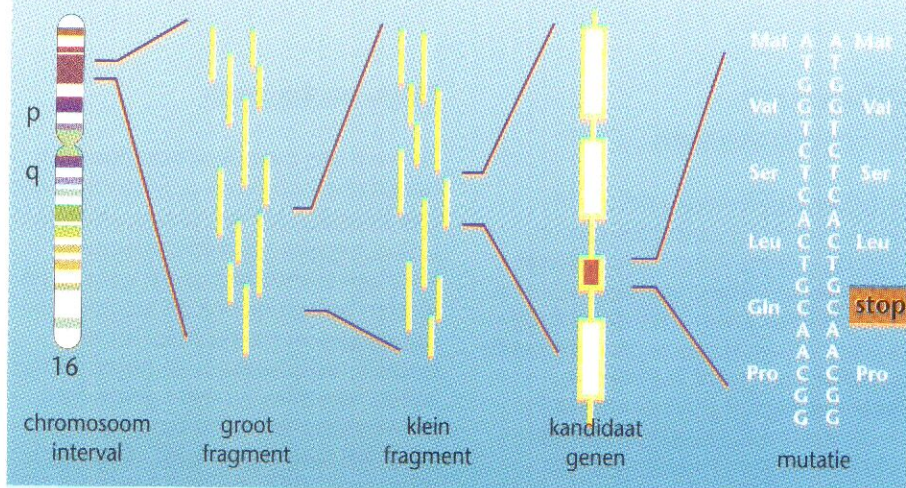
kan aantonen dat een afwijkend gen gekoppeld is aan bepaalde genen (merkers) waarvan men de positie wel exact kent, dan kan men uiteraard ook afleiden dat het gezonde gen in de buurt moet liggen. Dit heeft reeds geleid tot het lokaliseren van belangrijke ziekte-genen zoals de genen

voor mucoviscidose, Duchenne spierdystrofie, de ziekte van Huntington, het syndroom van Marfan, het fragile-X syndroom en neurofibromatose. Deze techniek is uiteraard alleen bruikbaar voor de lokalisatie van een gen als er grote families beschikbaar zijn met veel aangetaste familieleden of heel veel kleinere families met exact dezelfde aandoening.

Polymorfisme van DNA blijft niet beperkt tot verschillen in genen. In praktijk kan elk stuk chromosomaal DNA als referentie dienen als het maar tussen individuen voldoende verschilt. Een polymorfe merker waar men recent veel gebruik van maakt is het repetitief DNA. Men weet dat zo'n 70 tot 75% van het menselijk genoom helemaal geen gekende functie heeft. Dit is het extrageen of 'junk'-DNA. Een deel van dit 'nonsens' DNA bestaat uit matig tot sterk repetitief DNA.



Positionele klonering



Na lokalisatie van het ziektegen in een welbepaald chromosomaal gebied, wordt het gen geïdentificeerd door analyse van genen in dit "kandidaat" gebied, totdat er een gen gevonden wordt waarin mutaties in patiënten aanwezig zijn. Deze benadering wordt positionele klonering genoemd omdat genen geïsoleerd worden zonder voorafgaande kennis van de eiwitstructuur of functie.

Dit betekent dat het is opgebouwd uit veelvuldig herhaalde units van steeds dezelfde basensequenties. De meest recent ontdekte merkers hebben slechts een lengte van één tot vier basenparen die steeds herhaald worden. Men spreekt hier van 'repeats'. Bijvoorbeeld:

CACACACACACACACA....

Mensen verschillen van elkaar in het aantal herhalingen van deze units. Om redenen die voor iedereen wel duidelijk zullen zijn, noemt men deze stukken DNA ook wel eens 'stottersequenties'.

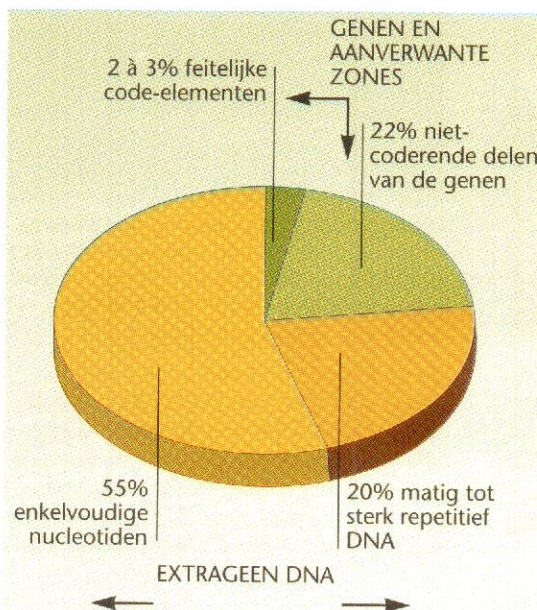
Na geduldige analyse heeft men nu vele honderden stottersequenties t.o.v. elkaar kunnen ordenen. Momenteel zijn er al meer dan 20.000 merkers in het menselijk genoom in kaart gebracht, hoofdzakelijk CA-herhalingen.

Genenbibliotheken

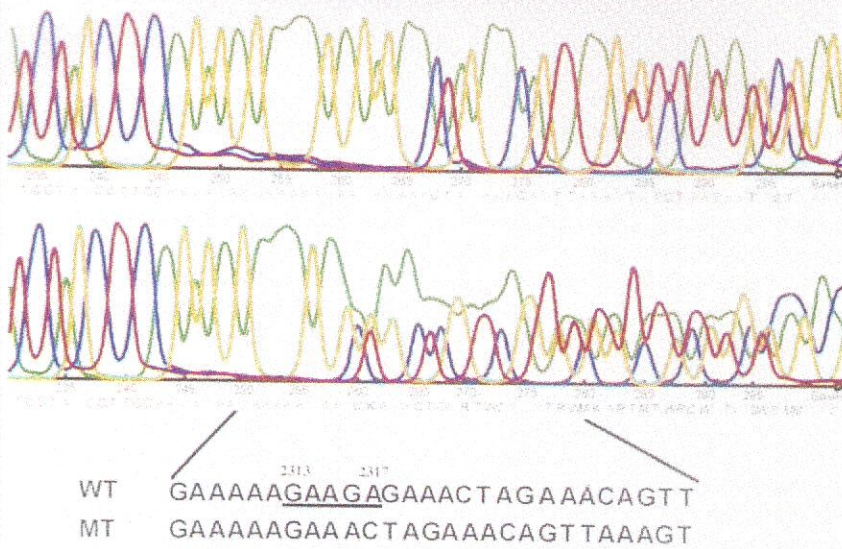
Wanneer men de relatieve positie van een gen heeft opgespoord met behulp van merkers, is de volgende stap de exacte positiebepaling. Hiervoor moet een zogeheten fysieke kaart worden opgemaakt. Daartoe wordt het DNA in

Repetitief DNA: oorzaak van erfelijke ziekten

Spectaculair was de ontdekking dat de instabiliteit van bepaalde herhalingen een belangrijke oorzaak van erfelijke aandoeningen is. Intussen is het principe beschreven voor een hele reeks, vaak neuro-degeneratieve ziekten. Het genetische defect werd eerst ontdekt bij het fragile-X syndroom (MENS nr. 31). In het bewuste FMR-gen bevindt zich een CGG-herhaling. Op normale chromosomen wordt de CGG 6 tot 50 keer herhaald. Een beperkte expansie (50 tot 200 herhalingen) leidt niet tot de ziekte maar verhoogt de kans op expansie in volgende generaties enorm. Bij aangetaste personen bedraagt het aantal herhalingen meer dan 200, soms meer dan 1000. Bij deze enorme expansie wordt het FMR-gen niet langer overgeschreven met het fragile-X syndroom tot gevolg. Expansies van bijvoorbeeld CAG-units liggen aan de basis van de ziekte van Huntington en een reeks andere ziekten.



Samenstelling van het menselijk genoom. Driekwart is extrageen DNA: het speelt vermoedelijk geen enkele rol bij de expressie van erfelijke kenmerken. Slechts zo'n 2 à 3% bestaat uit feitelijke code-elementen (exons). De rest bestaat uit regelementen, introns, genfragmenten en pseudo-genen.



Door middel van basensequencing kan een mutatie rechtstreeks opgespoord worden.

stukken geknipt en gecloneerd. Aan de hand van de informatie over de aparte fragmenten, zoals de aanwezigheid van genen of merkers, worden ze in de goede volgorde aan elkaar gepuzzeld. Gaandeweg ontstaat zo een gedetailleerde kaart van het chromosoom.

Basensequencing

Het lokaliseren van een gen is de eerste stap, maar het is nog een hele stap verder om de precieze basenopvolging te bepalen waaruit zo'n gen is samengesteld. Met DNA-sequencing kan niet alleen nauwkeurig bepaald worden hoe het normale gen is opgebouwd maar ook hoe de verschillende mutaties eruit

zien die eventueel tot een defect gen kunnen leiden. Er zijn hiervoor verschillende methoden ontwikkeld. Meestal wordt de 'chain termination' of de 'kettingbeëindigingstechniek' gebruikt. Het zou ons echter te ver leiden om deze techniek nu te bespreken. Waar het tot voor kort om een tijdrovende en dure bezigheid ging, kan door automatisatie de DNA-sequentie nu sneller bepaald worden. Dit is nodig want er zijn 3 miljard basenparen te gaan.

Deze ontwikkeling heeft ook zijn impact op het werk van zeer veel wetenschappers die reeds jaren de exacte basensequentie van het hele genoom van levende wezens pogen te ontcijferen. Voor lagere wezens zoals virussen, bacteriën en schimmels is men daar al aardig in geslaagd. Voor hogere wezens, in het bijzonder de mens, is dit een heel complexe aangelegenheid.

Onderzoekers in verschillende laboratoria, verspreid over heel de wereld, hebben het werk onder elkaar verdeeld en komen regelmatig samen in congressen om hun onderzoeksresultaten uit te wisselen. Samen werken ze aan het Human Genome Project (HGP), een gigantische onderneming die ons binnen enkele jaren (begin volgende eeuw) een volledig overzicht van de 3 miljard basenparen van het menselijke genoom moet opleveren. Het eerste doel is om alle genen op de 22 chromosomenparen en X en Y te lokaliseren (genemapping) en vervolgens de volgorde van de basen te bepalen (sequencing). Het uiteindelijke doel van het project is het sequencen van al het

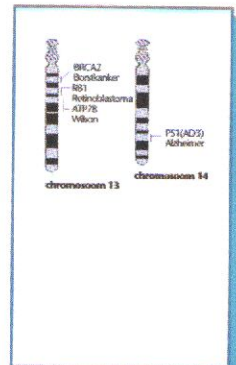
Het genoom van diverse organismen vergeleken met een telefoonboek of een reeks telefoonboeken van elk 1000 blz. Deze vergelijking laat toe ons een voorstelling te maken van de immense opdracht van het humane genoom project.

chromosomaal DNA, inclusief de niet-coderende en niet-gekende delen. Het handboek van het menselijke leven zal dus uit twee delen bestaan. Een eerste deel met de kaarten van het genoom waarop de locaties van alle genen, het andere deel met de volgorde van de basen van het DNA van elk chromosoom. De snelheid waarmee genen posities op de genenkaart krijgen toegewezen, neemt steeds toe.

Het totaal aantal 'gemapte' genen ligt nu rond de 600. Dat moeten er dus 50.000 à 100.000 worden. Sommigen vragen zich wellicht af van wie het

genetisch materiaal wordt ontcijferd? Eigenlijk maakt het niet uit wiens genoom hiervoor gebruikt wordt.

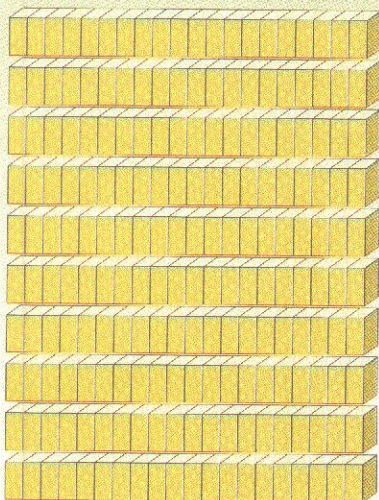
Van de 3 miljard basenparen zijn er immers maar 2 tot 10 miljoen basenparen die verschillen tussen mensen, dit is minder dan 1 procent van het totale menselijke DNA. Dus de map van het menselijke genoom kan samengesteld worden uitgaande van materiaal van diverse personen. Men maakt dus een soort referentie.



The chips are coming...

Eén van de grootste uitdagingen is de ontwikkeling van technieken die de DNA-sequencing nog sneller laten verlopen. De kruisbestuiving tussen informatica en biotechnologie biedt hier wellicht een uitweg. Het gaat hier om de zogenaamde DNA-chip-techniek, die in 1996 voor het eerst werd ingevoerd. Hierbij worden op vierkante siliciumplaatjes van nauwelijks 1,6 cm²

Menselijk genoom
200 telefoonboeken (1000 pagina's elk)



Drosophila
(fruitvlieg)
10 boeken

- gist
1 boek
- E. coli* (bacterie)
300 pagina's
- gist chromosoom 3
14 pagina's

meerdere honderdduizenden verschillende stukjes enkelstrengig DNA (met welbepaalde gekende DNA-sequenties) bevestigd op vooraf vastgelegde coördinaten. Het te onderzoeken genetisch materiaal, een ongekende sequentie (of een stukje DNA van een patiënt) wordt gemerkt met een fluorescerende kleurstof en wordt vervolgens op zo'n geprepareerde chip gebracht. Na spoelen blijven de fluorescerende

DNA-stukjes alleen daar zitten waar ze een complementair stukje vinden. Een computer met een fluorescentiescanner kan detecteren in welk vakje er een signaal is en koppelt de locatie van het signaal onmiddellijk aan de gekende sequentie. Wat anders een week kost in een modern laboratorium,

krijgt de chip klaar in een paar uur. Sommigen noemen de DNA-chip de stoommachine van de genetische revolutie.

Hoe maak ik een gezonde mens?

Eens een gen gelokaliseerd op zijn chromosoom en de DNA-sequentie gekend, is de zaak echter nog niet rond. Om echt bruikbaar te zijn moeten wetenschappers immers nog uitzoeken voor welk eiwit dit gen codeert en wat dit genproduct in het lichaam doet. Dit is een eerste ver-
eiste om het mechanisme van een

genetische ziekte te begrijpen en een eventuele behandeling voor te stellen. Ondanks een hele set van technieken blijft het geen gemakkelijke opgave de fysiologische functie van een gen te ontcijferen. In deze gevallen is de studie van diermodellen zeer waardevol. Voor vele ziekten zijn er echter geen spontaan voorkomende diermodellen beschikbaar. Nieuwe technologieën zijn beschikbaar voor de ontwikkeling van transgene muizen. MENS nr. 31 gaat hier uitgebreid op in. Transgene muizen vormen vaak een goed model om de functie van een gen te bestuderen. Door het functionele gen bijvoorbeeld uit te schakelen kan men bij 'knock-out' muizen de ontstane ziekteverschijnselen bestuderen. Ook kan men een gemuteerd gen inbrengen om aldus het genproduct en zijn werking te onderzoeken. Tevens kunnen transgene dieren ook gebruikt worden als model om experimentele therapieën zoals medicamenteuze behandeling, heelkunde of gentherapie op uit te testen.

Op zoek naar een naald in een hooiberg...

Momenteel zijn er meer dan 5500 menselijke erfelijke ziekten beschreven, die het gevolg zijn van een afwijking in één enkel gen en dus monogenisch genoemd worden. Men is reeds in staat meer dan 200 van deze erfelijke ziekten rechtstreeks in het DNA op te sporen.

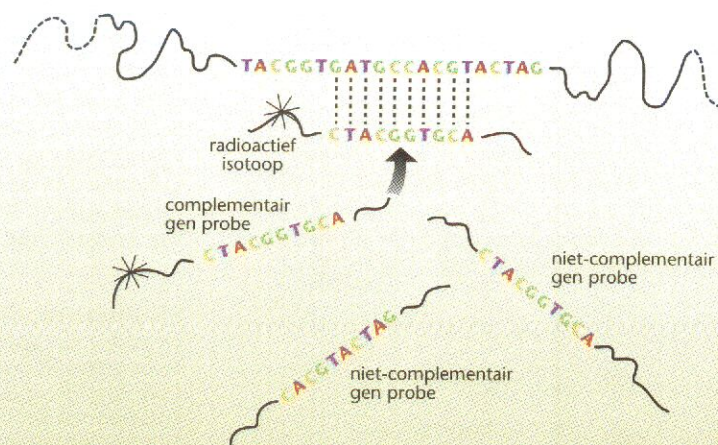
Naarmate onze kennis van het menselijke DNA toeneemt (waarbij het HGP een belangrijke rol speelt) zal dit aanbod

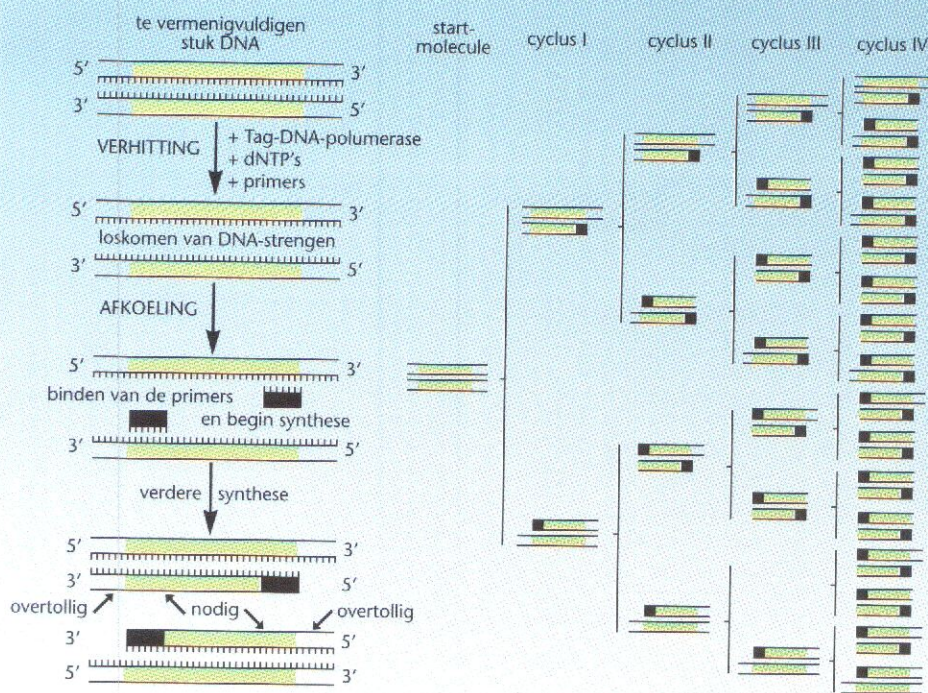
nog flink toenemen. Nu reeds zijn er verscheidene testkits beschikbaar voor routinematig uitvoeren van diagnostische tests o.a. voor mucoviscidose. De DNA-chip waarvan eerder sprake, betekent ook hier een enorme vooruitgang. Deze techniek wordt namelijk ook gebruikt om op een zeer snelle en efficiënte manier mutaties op te sporen en hun desbetreffende lokalisatie te signaleren. Op dit moment zijn er nog maar een paar chips op de markt maar op korte termijn zullen er chips voor de meeste voorkomende aandoeningen beschikbaar zijn. Binnen afzienbare tijd zullen dragers van een mutatie van één van de borstkankergenen ermee geïdentificeerd worden en mutaties in het AIDS-virus gevolgd worden in het kader van een resistentietherapie.

Ook het vroegtijdig opsporen van niet-erfelijke aandoeningen zoals sommige infectieziekten en kanker behoort heden tot de mogelijkheden. Andere toepassingen situeren zich onder meer in de gerechtelijke sfeer, in het onderzoek naar familiale verwantschap en in het vinden van gepaste donors voor orgaantransplantaties.

Vermits het DNA in alle lichaamscellen van een individu dezelfde samenstelling heeft, kan alles waar DNA in zit, dus in principe elk weefsel worden gebruikt voor diagnostisch onderzoek. Routinematig wordt de voorkeur gegeven aan een bloedstaal (witte bloedcellen) maar ook wangslimvlies of haren zijn bruikbaar. Voor prenataal onderzoek gebruikt men vruchtwatercellen of zelfs stukjes van de placenta (vlokkentest) om de aanwezigheid van defecte genen op te sporen. In de toekomst zal men wellicht ook foetale bloedcellen in de bloedbaan van de moeder gebruiken voor genetische diagnostiek. Zelfs zeer kleine hoeveelheden DNA zijn voldoende.

Bij allerlei toepassingen wordt heel frequent gebruik gemaakt van zogenaamde probes of sondes, dit zijn gemarkeerde stukjes DNA of RNA die men aan het te onderzoeken DNA toevoegt om te zien of een welbepaald fragment al of niet aanwezig is. De werking is gebaseerd op het fenomeen van hybridisatie, het verschijnsel waarbij twee enkelstrengige DNA-ketens spontaan de neiging vertonen om zich via hun complementaire basen (C-G en A-T) aan elkaar vast te hechten. Als twee zulke kettingen maar weinig complementaire stukken bezitten, dan is de binding meestal zeer onstabiel. Wanneer ze onderling volledig complementair zijn, zoals dit onder meer het geval is bij een dubbelstrengig DNA-molecule, dan ontstaat er een zeer stevige binding. Hetzelfde geldt voor twee RNA-ketens of voor een verbinding van een DNA- met een RNA-keten. Het interessante is nu dat zo'n hybridisatie ook gebruikt kan worden als onderdeel van een diagnostische techniek, bijvoorbeeld om de aanwezigheid van een bepaalde DNA-sequentie 'te verklijken' in een grotere hoeveelheid DNA. Voorwaarde is dat men beschikt over een specifiek stukje DNA (of RNA), een probe of een sonde genoemd, dat complementair is aan het te zoeken DNA-fragment. Om als verklikker te kunnen functioneren moet de probe nog wel voorzien worden van een radioactief of fluorescerend element. Het aanmaken van een goede probe is dikwijls een zaak van veel geduld en van een dosis geluk. De uiteindelijke bedoeling is om zo'n probe bijvoorbeeld toe te voegen aan het DNA van een persoon van wie men wil onderzoeken of hij drager is van een bepaald gen.





Met de PCR-techniek (polymerase-kettingreactie), geïntroduceerd in 1985, kan een specifiek DNA-fragment bijzonder snel en selectief machinaal vermenigvuldigd worden. In feite zou men de techniek kunnen vergelijken met het telkens opnieuw fotokopiëren van eerder gemaakte fotokopieën. Aldus bekomt men al snel gigantische aantallen, omdat er telkens een verdubbeling plaatsvindt van de hoeveelheid die men voordien had.

De mogelijkheid die de polymerase-kettingreactie biedt om bepaalde DNA-fragmenten tussen miljarden bouwstenen op te sporen en gericht te vermeerderen, heeft al talloze praktische toepassingsmogelijkheden.

"Zit het in de familie?"

Wanneer iemand vermoedt drager te zijn van een bepaald defect gen, dan kan hij naar één van de centra voor menselijke erfelijkheid stappen in ons land en vragen om een genetisch onderzoek. Afhankelijk van de kennis die men heeft over de erfelijke ziekte en de bijhorende defecte genen, wordt er eventueel een test uitgevoerd. Op het niveau van de diagnostiek maakt men onderscheid tussen een directe of een indirecte test.

Indirect testen

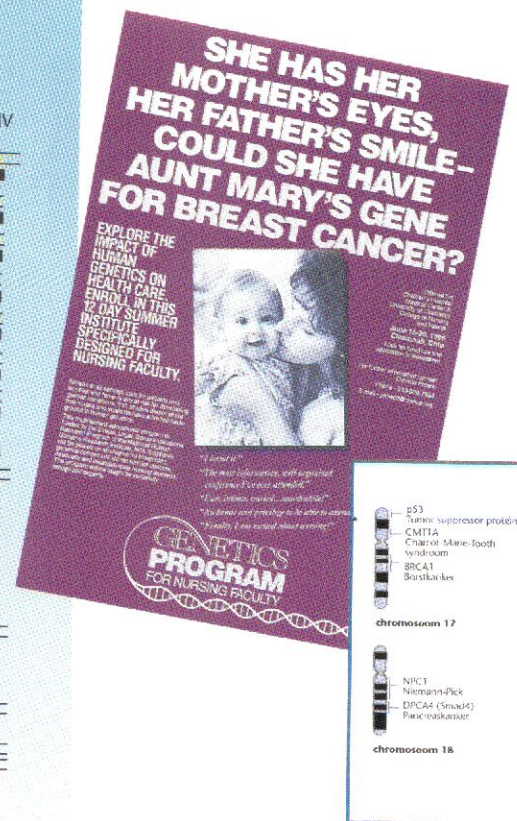
Wanneer men kan aantonen dat er een koppeling bestaat tussen twee genen (of tussen een gen en een bepaalde merker) dan kan op die manier soms met grote mate van waarschijnlijkheid worden aangegeven of iemand al dan niet drager is van een bepaald defect. Het volstaat dus dat de ziekte in kaart is gebracht opdat de overerving ervan zou kunnen gevolgd worden in een familie. Bij indirect testen heeft men wel DNA van familieleden nodig, zowel ziek als gezond om na te gaan met welke merker men het zieke gen samen overerft.

Gelukkig wordt indirect testen op dragerschap minder en minder benut omdat er steeds meer mutaties rechtstreeks op te sporen zijn.

Indirect testen voert men bijvoorbeeld uit wanneer men bij benadering weet waar op een bepaald chromosoom het gen gelegen is, terwijl het nog niet gekloond is (de exacte positie is nog niet gekend). Anderzijds is het bij gekende grote genen door allerlei praktische beperkingen niet steeds mogelijk alle mutaties te zoeken, laat staan te vinden. Bijvoorbeeld bij de ziekte van Duchenne. Wanneer de directe test negatief is, kan er toch nog een mutatie aanwezig zijn omdat nog niet alle mutaties gekend zijn. Een indirecte test gaat dan na welke familieleden hetzelfde X-chromosoom dragen als de patiënt.

Direct testen

Bij de directe test wordt het genetische defect bij de patiënt (of vermoedelijke patiënt of drager) rechtstreeks opgezocht. Dit kan voor mucoviscidose, Huntington, familiale borstkanker,... In tegenstelling met de indirecte test, heeft men enkel het DNA nodig van de adviesvrager.



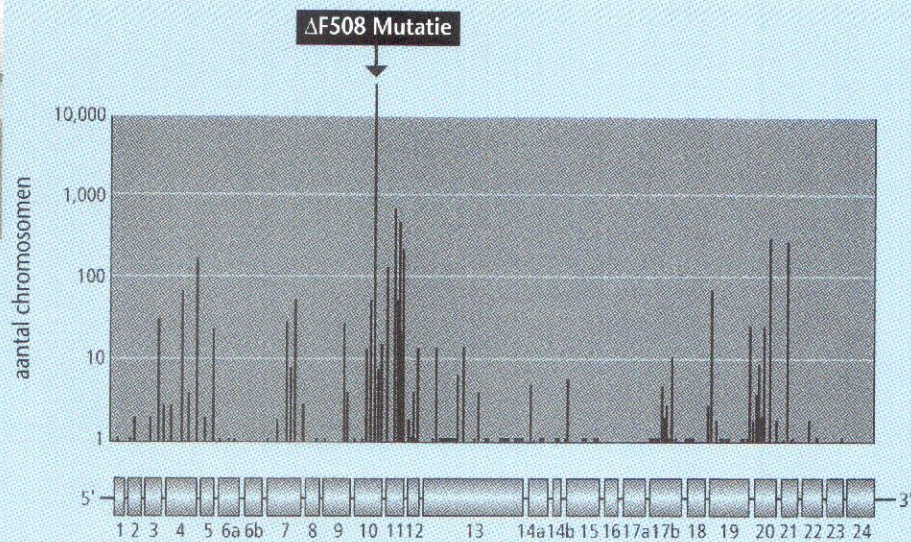
Het soort mutatie dat typisch optreedt bij een aandoening zal bepalen welke techniek bij voorkeur gebruikt kan worden in de genetische test. Voorwaarde is dat de sequenties van het normale, niet gemuteerde gen gekend zijn. Een techniek die veelvuldig gebruikt wordt is de 'southern blotting' waarbij gebruik wordt gemaakt van restrictie-enzymen die het DNA in stukken knippen. De bekomen fragmenten worden vervolgens met elektroforese geordend volgens lengte. Dit geeft het bekende bandenpatroon waaruit men dan kan afleiden of het defecte gen al dan niet aanwezig is.

Een screening op alle gekende mutaties bij een bepaalde ziekte is vaak niet haalbaar en te duur! Bijvoorbeeld het gen verantwoordelijk voor mucoviscidose, vertoont zeer veel verschillende mutaties, meer dan 600. In de routine-test wordt daarom in een eerste fase getest op de meest voorkomende mutaties. Zodra een welbepaalde mutatie gevonden is, kunnen indien nodig de familieleden worden onderzocht op dragerschap voor deze mutatie.

Rechtstreeks de sequentie bepalen van het mogelijke defecte gen is natuurlijk dé gouden standaard. Hierbij wordt het DNA van het betrokken gen, base na base, afgelezen en worden de verschillen met de normale sequentie in het licht gesteld. De toepasbaarheid van deze sequencer is nu nog beperkt gezien de kostprijs. Maar dit zal allicht veranderen met de verdere ontwikkeling van de DNA-chip.



Voor cystic fibrosis zijn er al 300 verschillende mutaties gevonden. De mutatie $\Delta F508$ is verantwoordelijk voor de ziekte in 75% van de gevallen.



Zeg op: welk defect heb ik?

De mogelijkheid (defecte) genen te identificeren, heeft de weg geopend naar de DNA-screening maar er blijven enkele belangrijke (technische, economische en ethische) obstakels. Willekeurig screenen van een gans genoom is namelijk zoeken naar een naald in een hooiberg. Nemen we het voorbeeld van mucoviscidose. Het gen ligt op chromosoom 7 en kan zeshonderd verschillende defecten hebben. Technieken om op een snelle en goedkope manier het ganse gen te screenen op alle mutaties zijn (nog) niet beschikbaar. Momenteel kan men slechts een eenvoudige test aanbieden met een detectie van ongeveer 90%. Voor wie negatief scoort in deze test, verlaagt dus het risico op dragerschap (en op een kind met mucoviscidose) met een factor 10.

Naast deze problematiek is er ook nog het feit dat vele mutaties spontaan optreden, dit hoort bij het leven. Eén derde van alle patiënten met de ziekte van Duchenne heeft bijvoorbeeld geen familiale voorgeschiedenis van de aandoening. Meer dan de helft van alle gevallen van achondroplasie (dwerggroei) worden veroorzaakt door 'de novo' mutaties. Men kan dus onmogelijk alle defecten voorspellen. Het ganse genoom gaan screenen op mogelijke defecten is dus zeker niet mogelijk. DNA-diagnostiek van erfelijke aandoeningen is nog steeds een gericht onderzoek (een gerichte vraagstelling) en geen screeningonderzoek.

Wanneer zijn genetische testen dan wel zinvol?

1. Als diagnostische test

Wanneer de patiënt duidelijk symptomen van een ziekte vertoont en indien het oorzakelijke gen voor de aandoening gekend is, kunnen defecten in dat gen opgespoord worden. Vele genen hebben echter een brede waaier aan mutaties en al deze mutaties opsporen is niet doenbaar. Een ander probleem is dat de beschikbare DNA-testen zeer specifiek zijn maar vaak niet gevoelig genoeg. 15 tot 20% van de Duchenne-patiënten is negatief in de huidige test. Omgekeerd heeft het geen zin om bij alle patiënten met een spieraandoening de Duchenne test uit te voeren.

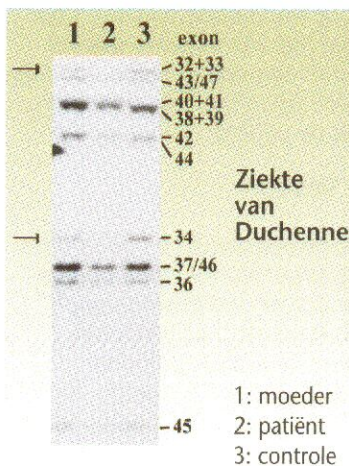
Bij testen moet men ook rekening houden met de genetische achtergrond van de persoon: de mucoviscidose-test die 95% van de mutaties detecteert in

België, is niet geschikt voor testen van de zwarte Amerikaanse bevolking (45% detectie).

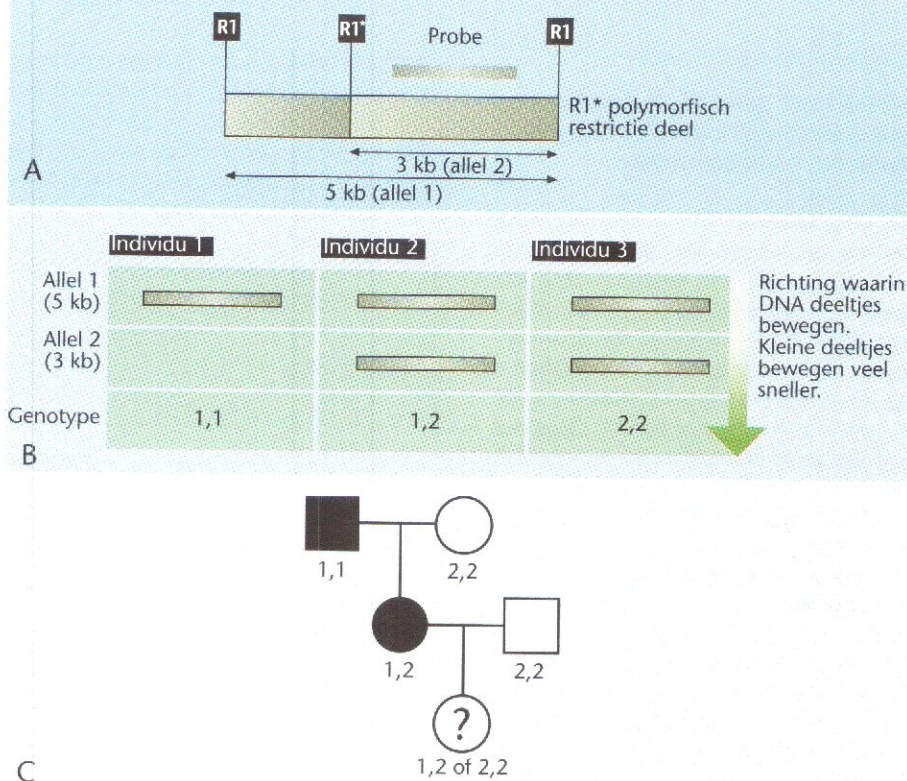
2. Bij dragerschapsonderzoek

In families waar een recessieve aandoening voorkomt, kan een DNA-test uitsluitel geven over dragerschap bij familieleden. Een veralgemeende 'carrier-screening' op afwijkende genen bij een frequente aandoening zoals mucoviscidose is voorlopig maatschappelijk, ethisch en economisch niet haalbaar. Wie zich toch wil laten testen, mag dit natuurlijk.

Soms kan het zinvol zijn om toch een hele populatie te screenen op een zeer veel voorkomende afwijking. De eerste ervaringen werden opgedaan bij de Ashkenazi-Joden in Noord-Amerika. Met een relatief eenvoudige en inmiddels geautomatiseerde bloedtest kan dragerschap van het gen voor de zeer



De ziekte van Duchenne wordt veroorzaakt door een defect in het DMD (Duchenne Muscular Dystrophy) gen op het X-chromosoom. De meeste patiënten vertonen een deletie van een stuk van het gen. In dit geval werd een deletie van exon 32 tot 34 van het gen aangetoond dmv. southern blot bij een jongen met de aandoening. De probe herkent fragmenten afkomstig van een gedeelte van het gen, nl. exon 32 tot 47. Bij het patiëntje vindt men de bandjes die overeenkomen met de exons 32, 33 en 34 niet terug: het overeenkomstige stuk DNA ontbreekt. Omdat de jongen slechts één X-chromosoom heeft, heeft hij dus geen intact DMD gen meer. De moeder is draagster van de deletie (let op de intensiteit van de banden die bij haar zoon afwezig zijn, en vergelijk met de controle). Ze vertoont de aandoening niet, omdat zij op haar andere X-chromosoom een goede kopie van het DMD gen heeft.



Het basisprincipe in dit voorbeeld berust op het gebruik van restrictie-enzymen die het DNA op specifieke plaatsen doorknipt. De mutatie heeft de extra knipplaats (R1*) doen wegvallen. Hierdoor ontstaat een groot fragment van 5 kb waarmee de probe hybridiseert. Wanneer het gen niet defect is (restrictieplaats aanwezig) dan ontstaat er een kleiner fragment van 3 kb. Door middel van elektroforese kunnen de verschillende fragmenten gescheiden worden op basis van hun lengte. Indien allebei de fragmenten voorkomen (individu 2) betekent dit dat één van de twee allelen gemuteerd is. In dit voorbeeld is deze persoon ziek, dus gaat het om een dominante aandoening. Met klassieke stamboomanalyse kan men voorspellen dat de kans op een zieke kleindochter 50% is. De huidige DNA-analyse kan met 100% zekerheid uitmaken of de kleindochter de mutatie overgeërfd heeft van haar moeder.

ernstige Tay-Sachs ziekte (incidentie van 1/3600 geboorten) aangetoond worden. Ondertussen is het aantal patiënten met deze ziekte sterk gedaald. Dit mede door de beslissing van de religieuze leiders van de joodse gemeenschap om de screening te verplichten voor alle jonge volwassenen die willen huwen. Wanneer blijkt dat ze allebei drager zijn van het defecte gen, wordt een huwelijk sterk afgeraden. Dit is een voorbeeld van hoe genetisch dragerschapsonderzoek de frequentie van een zeer ernstige ziekte drastisch kan doen verminderen.

Een andere ervaring is opgedaan met dragerschapsonderzoek voor erfelijke anemie (b-thalassemie) in verschillende gebieden rond de Middellandse Zee. Daar is het gelukt om het aantal patiënten sterk te reduceren mede doordat door middel van DNA-diagnostiek prenatale diagnostiek mogelijk werd. Genetisch bevolkingsonderzoek kan dus in sommige gevallen zinvol zijn maar is sterk afhankelijk van de bevolkingsgroep. Zo zou de huidige test op mucoviscidose bij de blanke bevolking toch nog te veel dragers "missen" waardoor er kinderen met muco zouden blijven geboren worden.

Een andere factor bepaalt ook waarom screening van ganse bevolkingsgroepen momenteel niet haalbaar is: DNA-testen zijn (nog) te duur.

3. Voor prenataal onderzoek

Een belangrijk voordeel van genetisch testen, is dat een gekende mutatie tijdens de zwangerschap opgespoord kan worden, bijvoorbeeld na een vlokkentest. Prenataal onderzoek naar afwijkingen gebeurt voor die bevolkingsgroep waarvoor het risico hoog is, bijvoorbeeld bij zwangerschappen boven de 35 jaar, bij bepaalde familiale aandoeningen of wanneer echografisch onderzoek afwijkingen aantoonst.

4. Voor presymptomatisch onderzoek

Vele multifactoriële aandoeningen zijn niet meteen zichtbaar, maar treden pas veel later op. Voor een reeks dominante aandoeningen laat de DNA-test toe het defect aan te tonen nog vóór de ziekte zich manifesteert. Dit kan voor Huntington, familiale borstkanker en darmkanker. Het onderzoek gebeurt in

een genetisch centrum met de grootste omzichtigheid omwille van het impact dat zo'n resultaat heeft op de geteste persoon en zijn verwanten.

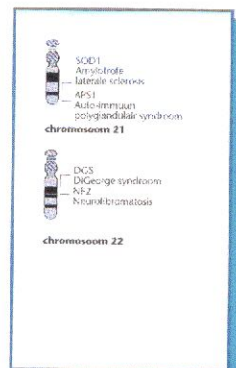
Diagnose van infectieziekten

De PCR-techniek laat toe snel DNA (RNA) op te sporen van bacteriën en virussen in menselijke weefsels, onder meer in het bloed, waardoor deze ziekteverwekkers vrijwel onmiddellijk geïdentificeerd kunnen worden. Men kan het bacteriële of het virale DNA (RNA) immers zeer snel vermenigvuldigen en er nadien aangepaste probes op toepassen die de aanwezigheid van de ziekteverwekker ondubbelzinnig aantonen. Dit veronderstelt wel dat men ten minste een deeltje van het genoom van deze organismen kent om er specifieke probes aan vast te maken. Daarenboven moet dit stukje DNA uniek zijn in vergelijking met het menselijke DNA of van andere contaminerende organismen. Voor veel micro-organismen zijn DNA-probes reeds commercieel verkrijgbaar, vaak in de vorm van kits waarin alle benodigdheden en oplossingen om een DNA-test uit te voeren aanwezig zijn.

Het doel van het opsporen van ziekteverwekkers ligt voor de hand: als de oorzaak van de ziekte gekend is, weet men ook of de ziekte met antibiotica te bestrijden is. Besmettingen kunnen momenteel vlugger aangetoond worden. Zo kan men bijvoorbeeld reeds besmettingen met het AIDS-virus aantonen nog vóór er afweerstoffen zijn gevormd, zelfs al is er nog maar 1 op 10.000 witte bloedcellen besmet.

Cellen op drift

Kanker is een ziekte die ontstaat na genetische schade in een cel. In de meeste gevallen zijn de mutaties niet overgeërfd. Ze ontstaan doorgaans in de lichaamscellen (somatische mutaties), als gevolg van blootstelling aan omgevingsfactoren die het genetische materiaal kunnen beschadigen. Slechts 5 à 10% van de kankers hebben een familiale voorgeschiedenis zoals sommige



borstkankers en darmkanker.

De genen die informatie bevatten om de celdeling en celdifferentiatie op gecontroleerde wijze te laten doorgaan, zijn de proto-oncogenen. Mutaties in deze genen leiden tot een actiever eiwit waardoor de cel meer gaat delen. Het is dus voldoende dat één van de twee goede versies van het proto-oncogen gewijzigd wordt tot een oncogen opdat de cel zich op ongecontroleerde wijze gaat vermenigvuldigen. In dit geval spreekt men van een dominante wijziging.

Tumor-suppressorgenen zijn ook cruciaal voor de controle op celdeling en celdood maar vervullen in dit proces een rol als negatieve regulator. Tumorsuppressorgenen zijn vooral

betrokken bij het tegengaan van de celcyclus en bij het bevorderen van celdood. Wijzigingen in deze tumor-suppressorgenen zijn dus eveneens belangrijk bij de ontwikkeling van kanker. De aanwezigheid van één goede versie van het gen is voldoende om deze normale functie te garanderen. Wanneer het tweede gen geïnactiveerd wordt door mutatie, is echter het hek van de dam. Dit vormt een belangrijk verschil met oncogenen. Bij tumorsuppressorgenen moeten de twee correcte versies van het gen beschadigd worden vooraleer het systeem ontspoord. Op dit ogenblik zijn er een 50-tal genen bekend die als tumorsuppressorgenen beschouwd worden en die in de normale cel celdeling en celdood controleren. De bekendste zijn het p53 en het retinoblastoma-gen.

In familiale kankersyndromen erft men een voorbeschiktheid op kanker. Concreet wil dit zeggen dat een individu in zo'n familie reeds één gemuteerde tumorsuppressorgen bezit. Maar zelfs wanneer de genetische fout reeds vanaf de geboorte aanwezig is, zal het nog lang duren vooraleer de persoon echt kanker krijgt. Dit komt omdat de andere kopie van het gen geïnactiveerd moet worden door een mutatie vooraleer de cel op hol slaat. Kanker is ook een meerstapsproces waarbij verschillende gemuteerde genen samenwerken. Bij darmkanker bijvoorbeeld zijn er op zijn minst vier genetische veranderingen nodig. Dezelfde mechanismen treden ook op bij sporadische kankers. Hoe ouder men wordt, hoe meer kans dat

twee of meer spontane mutaties in eenzelfde cel optreden. Kanker is dus vooral een ouderdomsziekte.

Het diagnosticeren van de precieze soort mutatie die tot een bepaald type kanker leidt staat nog in zijn kinderschoenen, maar de zaken evolueren ook hier zeer snel. Men ontdekt immers steeds meer genen die kanker kunnen veroorzaken. Dit biedt ook betere perspectieven voor de behandeling, aangezien de diagnose veel preciezer en vooral veel vroeger kan worden gesteld zodat een eventuele behandeling ook sneller en doelgerichter ingesteld kan worden. Bekijken we het voorbeeld van familiale borst- en eierstokkanker.

Van alle erfelijk bepaalde borst- en/of eierstokkanker wordt meer dan de helft veroorzaakt door afwijkingen (mutaties) in het BRCA1-gen en BRCA2-gen. De overige erfelijke borst- en eierstokkankers worden waarschijnlijk veroorzaakt door andere, nog niet gekende genen. Een vrouw die een afwijking heeft in het BRCA1-gen of het BRCA2-gen, heeft een sterk verhoogd risico nl. 50 tot 90% om voor haar 80ste verjaardag borstkanker te krijgen. Het afwijkende gen dat aanleiding geeft tot de kanker, kan zowel van de moeder als van de vader geërfd zijn. Als één van de ouders het afwijkende gen heeft, hebben de kinderen 50% kans om dit gen over te erven. Bij de man leidt een dergelijk afwijkend gen zelden tot borstkanker, maar zijn kinderen hebben 50% kans dit gen te erven. Zijn dochters hebben dus een sterk verhoogd risico op borst- en eierstokkanker.

Functie van het p53-gen

Wanneer DNA-schade optreedt door bv. UV straling, zal p53 de aanmaak van eiwitten, die de celcyclus stopzetten, bevorderen. Na stopzetting van de celcyclus wordt de schade hersteld of, bij te grote schade, sterft de cel af. Op die manier voorkomt p53 dus dat cellen mutaties kunnen opstapelen en zich zo tot een tumor ontwikkelen. Bij een groot aantal kwaadaardige tumoren werd reeds aangetoond dat de uitschakeling van het p53-gen een nefaste rol speelt.

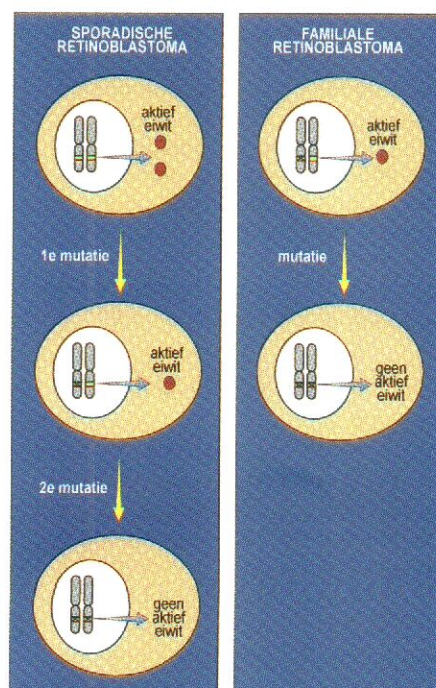
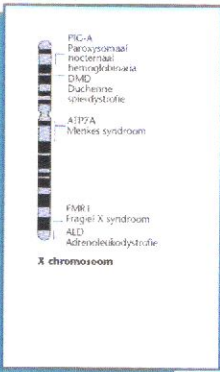
Wanneer de familiegeschiedenis wijst in de richting van een erfelijke vorm van borstkanker, kan naar de afwijking in het BRCA1-gen het BRCA2-gen gezocht worden via DNA-diagnostiek. Eens de mutatie gevonden, dan kunnen ook niet-aangetaste familieleden zich predictief laten testen op drager van deze afwijking.

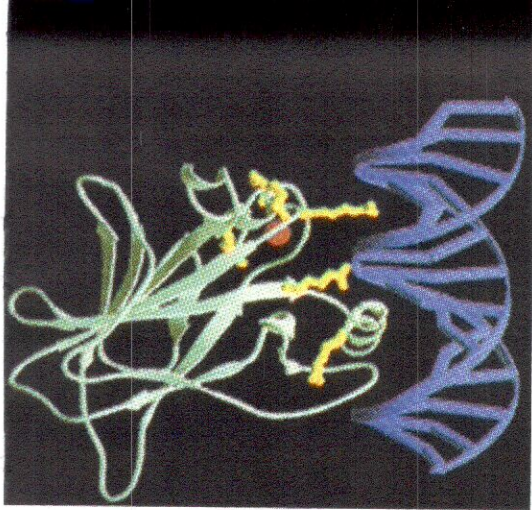
Een vrouw die drager is van een afwijking in één van de BRCA-genen heeft een sterk verhoogd risico. Daarom is het belangrijk dat de vrouw regelmatig zelf-onderzoek van de borsten uitvoert en zich medisch goed laat volgen. Een vroege opsporing is immers belangrijk: de kansen op genezing zijn dan groter. Er bestaat ook een veel ingrijpendere optie: borstamputatie en/of verwijdering van de eierstokken. Ook al bieden deze ingrepen geen absolute zekerheden, toch wordt het risico op borst- en eierstokkanker heel klein. Vrouwelijke familieleden bij wie aangetoond werd dat ze geen drager zijn van de afwijking, hebben hetzelfde risico als een willekeurige vrouw uit de algemene bevolking op een 'sporadische' borst en/of eierstokkanker te krijgen, dus toch nog 10 % risico voor borstkanker en 1% voor eierstokkanker.

De beslissing om een predictieve test te laten uitvoeren kan verregaande gevolgen hebben en is sterk emotioneel geladen. Om mensen te helpen zelf een verantwoorde beslissing te nemen, om hen voor te bereiden op het testresultaat en hen deskundig te begeleiden, is het daarom van groot belang dat aanvragen voor predictieve testen door een multidisciplinair team behandeld worden.

Testen op gevoeligheid

Geneesmiddelen werken niet bij iedereen even effectief. Ook dit raadsel is ondertussen gedeeltelijk opgelost. Elk individu bezit namelijk genen die de gevoeligheid bepalen voor bepaalde geneesmiddelen. Als men nu deze genen kan opsporen, kan een veel





efficiëntere behandeling voorgeschreven worden.

Zo ontdekte men reeds het gen dat bepaalt of cholesterolverlagende medicijnen (die het dichtgroeien van bloedvaten verhinderen en een hartinfarct kunnen voorkomen) effect hebben. Een arts kan nu met een eenvoudig testpakket uitmaken of de cholesterolverlagende medicijnen bij zijn patiënt al dan niet zullen werken. Dit bespaart een hele hoop geld. In de toekomst zullen er meer en meer genen worden ontdekt die bepalen of het ene geneesmiddel werkt of het andere. Dankzij de DNA-chip zal het screenen op deze genen uiterst vlug kunnen gebeuren waardoor er dramatische veranderingen zullen komen in het voorschrijfgedrag van een arts.

De realiteit

Momenteel blijft genetisch onderzoek nog steeds een arbeidsintensieve en bijgevolg een dure bezigheid. De beschikbaarheid van nieuwe technieken voor mutatie-onderzoek zal echter de mogelijkheid voor screening (van grote genen) uitbreiden, het onderzoek zversnellen en goedkoper maken.

Met de identificatie van steeds meer genen, ook voor multifactoriële aandoen-

ningen, kan men over afzienbare tijd wellicht het genetisch profiel van een individu opstellen (genetisch paspoort!). De technische middelen voor screening op grote schaal (gebaseerd op chip-technologie) staan op stapel en er is duidelijk veel geld mee gemoeid. Maar is dit ethisch, maatschappelijk en economisch wel verantwoord? Een volgend dossier i.v.m. 'biomedische ethiek' gaat hier dieper op in.

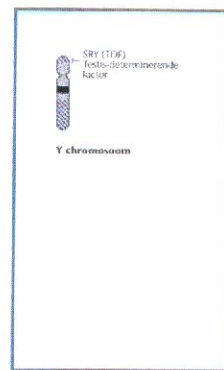
Gentherapie

Het principe van gentherapie houdt in dat men een nieuw gen in de cel inbrengt, hetzij een correct gen ter vervanging van een defect gen, hetzij een gen dat de cel nieuwe eigenschappen geeft. Op dit ogenblik is het nog niet mogelijk om een nieuw, correct gen in het genoom in te brengen waarbij het ook fysisch de plaats inneemt van het defecte gen. Gelukkig is dit meestal niet nodig en wordt gewoon een correcte versie van het gen in de cel ingebracht op een willekeurige plaats in het genoom. Bij erfelijke ziekten ligt het nut van gentherapie dus voor de hand. Hemofiliepatiënten bijvoorbeeld missen een correct exemplaar van één bepaald gen waardoor ze één bepaald bloedstollingseiwit niet kunnen aanmaken. Een correct exemplaar van dit gen inbrengen of het defecte gen herstellen lijkt dus een logische oplossing. Deze nieuwe therapie biedt naast de behandeling van erfelijke ziekten ook toepassingen bij de behandeling van hart- en vaatziekten, reuma, AIDS en kanker.

Hoewel het defect corrigeren in de voortplantingscellen zelf, de 'germline gentherapie' een zeer efficiënt resultaat zou geven, staan de meeste onderzoekers hier omwille van ethische redenen erg huiverig tegenover. Wereldwijd zijn

er dan ook afspraken gemaakt om gentherapie enkel uit te voeren op lichaamscellen, de somatische gentherapie. De kans dat de nieuwe ingebrachte genen in de voortplantingscellen terecht komen en aldus aan het nageslacht zouden worden doorgegeven, is dan zo goed als onbestaand. Ondertussen zijn reeds de eerste experimenten bij mensen uitgevoerd, zij het voorlopig slechts met matig succes. De technieken zijn evenwel in volle ontwikkeling en in de nabije toekomst staan ons ongetwijfeld meer succesvolle resultaten te wachten.

In een volgend dossier gaan we uitgebreider in op deze gentherapie met al zijn fascinerende mogelijkheden. 'Genezen met gentherapie' is echter niet compleet zonder de ethiek en veiligheid van deze nieuwe medische behandelingen te bespreken. We vervolledigen dit drieluik 'genezen met gentherapie' dan ook met een overzicht van de meest gestelde ethische vragen, bedenkingen, overwegingen, kritieken, ... alsook de regelgeving.



Referenties

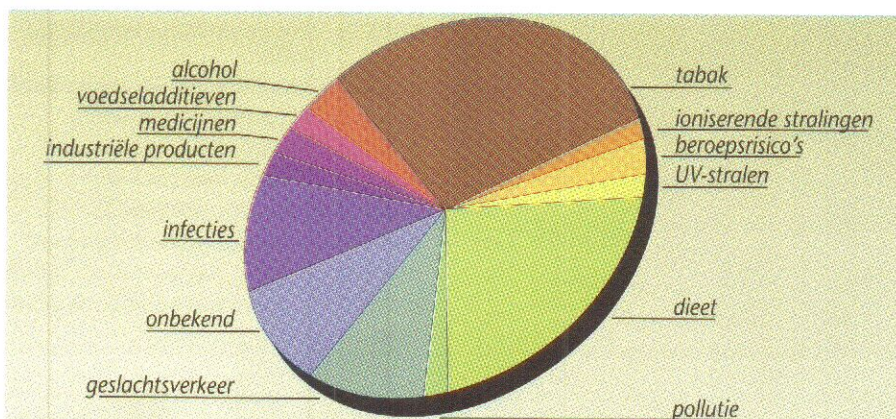
Boeken

- 'Onze genen, handboek Menselijke erfelijkheid', Marnix Cokelaere en Pol Craeynest, Acco
- 'Mag ik uw genenpaspoort?', G.M.W.R. de Wert en M.A.A. de Wachter, Ambo
- 'Genetic engineering: dreams and nightmares', Russo and Cove, Spektrum
- 'Molecular Biology in Medicine', Timothy Cox and John Sinclair, Blackwell Science
- 'DNA technology', Edward Alcamo, WCB
- 'The Biology of Disease', Jonathan Phillips, Paul Murray, John Crocker, Blackwell Science

Interessante websites:

- <http://www.mc.vanderbilt.edu/gere/gene/inherpul.htm>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/disease/>
- <http://www.natx.com/Corrado.html>
- http://www.who.int/home/map_ht.html
- <http://www.eibe.reading.ac.uk:8001/EIBE/unitindex.html>

Een uitgebreide referentielijst wordt u op aanvraag toegestuurd.



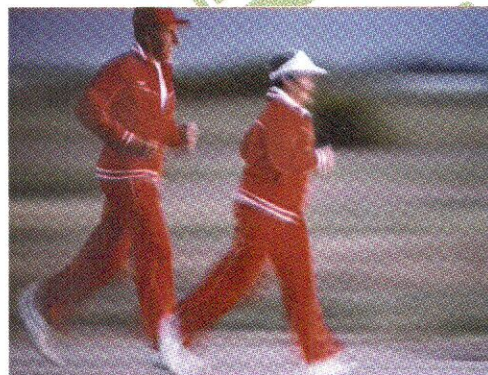
Relatief aandeel van de verschillende soorten carcinogenen in het ontstaan van kanker.

Dit boek zet de huidige stand van kennis op een systematische en overzichtelijke manier uiteen. Alle belangrijke thema's komen aan bod, ook de meer hedendaagse technieken van erfelijkheidsdiagnose en genetische manipulatie, evenals enkele psychologische aspecten van erfelijkheidsvoorlichting en gedragsgenetica. De tekst richt zich voornamelijk tot studenten en afgestudeerden in medische, psychosociale en pedagogische studierichtingen. Maar omdat er geen specifieke voorkennis wordt verondersteld, zullen ook andere geïnteresseerden er heel wat nuttige inzichten kunnen uithalen.



Dossier op komst:

Voeding en fysieke activiteit



Microsurgical Developments presenteert PVC-rat: gebruik proefdieren wordt drastisch beperkt.

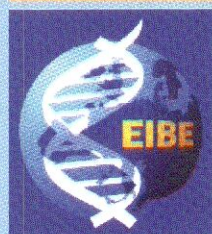
Het eerste exemplaar van de PVC-rat van Microsurgical Developments is einde maart, bij Solvay Pharmaceuticals (Weesp, NL), officieel overhandigd aan de heer Joop van der Reijden, voormalig Nederlands Staatssecretaris en initiatiefnemer van het Platform "Alternatieven voor Dierproeven". Deze kunst-rat

op ware grootte is gemaakt van PVC. Het is een praktisch hulpmiddel waarmee microchirurgische operatietechnieken kunnen worden geoefend door studenten, micro-chirurgen, bio-technici en andere onderzoekers.

Het trainen in microchirurgische technieken is traditiegetrouw vaak op proefdieren gebaseerd. In de eerste opleidingsfase hebben studenten veel moeite om de aandacht te verdelen tussen het aanleren van een nieuwe techniek en het goed verzorgen van het dier. Tijdens de ingreep kan gebrek aan aandacht voor het dier gemakkelijk leiden tot een vroegtijdige dood. Dat heeft tot gevolg dat in de eerste opleidingsfase een verhoogd aantal proefdieren nodig zijn. Door het oefenen met de PVC-rat wordt het gebruik van echte proefdieren drastisch beperkt.

Microsurgical Developments is een Nederlandse Stichting die aan het eind van de jaren '80 werd opgericht om het vervangen, het verminderen en verfijnen van dierproeven na te streven. Vermindering wordt gezocht bij het aantal proefdieren dat gebruikt wordt bij de opleiding van wetenschappers en biotechnici, samen met het uitsluiten van onnodige duplicatie technieken. Bovendien zal de overschakeling naar kleinere dieren ook het gebruik van grotere dieren verminderen, maar dit vereist dan weer dat microchirurgische technieken meer worden onderwezen en vooral geoefend.

Het initiatief van Microsurgical Developments met de PVC-rat wordt volledig gesteund door de Solvay Groep, Solvay Pharmaceuticals en Solvay Plastics (de leverancier van het gebruikte PVC). Drie jaar lang zullen ze de helft van de kost van elke rat financieren. Het project met de PVC-rat werd aanvankelijk opgestart met een subsidie van het Nederlandse Platform "Alternatieven voor Dierproeven".



The European Initiative for Biotechnology Education (EIBE)

seeks to promote skills, enhance understanding and facilitate informed public debate through improved biotechnology education in schools and colleges throughout the European Union (EU).

Waar kan je voor een genetische raadpleging terecht?



Universitaire Instelling Antwerpen
Centrum medische Genetica
Universiteitsplein 1
gebouw T, 6de verdieping
2610 Wilrijk
03/820.25.70

Academisch Ziekenhuis Vrije Universiteit Brussel
Dienst Medische Genetica
Laarbeeklaan 101
1090 Brussel
02/477.60.71

Universitair Ziekenhuis Gasthuisberg
Centrum voor Menselijke Erfelijkheid
Herestraat 49
3000 Leuven
016/34.59.03

Universitair Ziekenhuis Gent
Centrum voor Medische Genetica, OKS
De Pintelaan 185
9000 Gent
09/240.36.03

"MENS" in retrospectie

Reeds verschenen dossiers, nog verkrijgbaar zolang de voorraad strekt:

- MENS 1: "Wie is bang voor dioxinen?"
- MENS 2: "Leven en sterven met chloorfenolen"
- MENS 3: "Zware problemen met zware metalen?"
- MENS 4: "De aardbol op hol"
- MENS 5: "Over kruid en onkruid"
- MENS 6: "Verpakking of ballast?"
- MENS 7: "Snijden in eigen vlees"
- MENS 8: "In de schaduw van AIDS"
- MENS 9: "Kat en hond in het leefmilieu"
- MENS 10: "Water, bron van leven... en dood"
- MENS 11: "Chloor: pro en contra"
- MENS 12: "Verpakking: een zegen voor het leefmilieu?"
- MENS 13: "Kanker & Milieu"
- MENS 14: "Plastiek: pro en contra"
- MENS 15: "Wees goed jegens dieren"
- MENS 16: "Hoe ontstaat een geneesmiddel?"
- MENS 17: "Moet er nog mest zijn?"
- MENS 18: "Bronnen van energie"
- MENS 19: "Milieubalansen"
- MENS 20: "Mens en verslaving"
- MENS 21: "Afval inzamelen: een kunst"
- MENS 22: "Wees goed jegens proefdieren"
- MENS 23: "Risico's van kankerverwekkende stoffen"
- MENS 24: "Duurzaam bouwen met kunststoffen"
- MENS 25: "Recycleren moet je leren"
- MENS 26: "Gentechnologie op ons bord"
- MENS 27: "Chemie: basis van leven"
- MENS 28: "Vlees, een probleem?"
- MENS 29: "Beter voorkomen dan genezen"
- MENS 30: "Biocides, een vloek of een zegen?"
- MENS 31: "Genezen met gentechnologie" deel 1

