

## Herprogrammeren van alveesklieercellen

Diabetes mellitus (suikerziekte) is een ernstige ziekte die op termijn kan leiden tot aandoeningen aan de nieren, ogen, voeten en hart en bloedvaten. Er zijn verschillende typen diabetes te onderscheiden. Bij type-1 diabetes maakt de alveesklieer geen of zeer weinig insuline aan ten gevolge van een uitgebreide vernietiging van  $\beta$ -cellen. De huidige behandeling is erop gericht de symptomen van type-1 diabetes te bestrijden met insuline-injecties, maar deze geeft geen genezing. Endocrinologen van de Harvard universiteit onderzoeken of ze exocriene alveesklieercellen, die verteringsenzymen maken, kunnen 'herprogrammeren' tot endocriene  $\beta$ -cellen. Als de veranderde cellen insuline gaan produceren, zou dit de diabetespatiënt kunnen genezen.

- 2p **24** Een van de symptomen van diabetes is de productie van zoete urine. Verklaar waardoor bij diabetespatiënten zoete urine wordt gevormd.

Een ander symptoom is dat de adem ruikt naar aceton of een ander ketozuur, als gevolg van keto-acidose. Dat is een teken dat er voor de energievoorziening van cellen overgeschakeld is op een ander proces dan aerobe dissimilatie van glucose.

- 2p **25** Welk ander proces?
- A** aerobe dissimilatie van vetzuren
  - B** anaerobe dissimilatie van aminozuren
  - C** melkzuurgisting

- 1p **26** De alveesklieer bevat behalve endocriene cellen ook exocriene cellen. Wat is het onderscheid tussen endocriene en exocriene cellen?

Voor het herprogrammeren van exocriene alveeskliercellen moeten genen worden aangeschakeld of moeten genen worden uitgeschakeld in deze cellen. Het aan- en uitzetten van genen wordt geregeld door transcriptiefactoren. Door combinaties van transcriptiefactoren te gebruiken die kenmerkend zijn voor de endocriene  $\beta$ -cellen, probeerden de onderzoekers de exocriene cellen van muizen te herprogrammeren tot  $\beta$ -cellen.

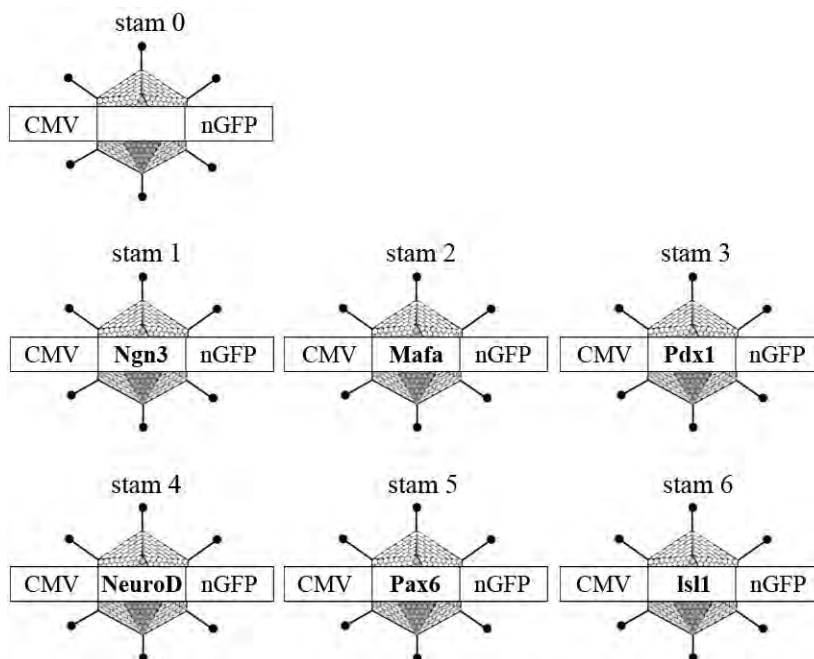
Voor het experiment maakte de onderzoeksgroep eerst (zie afbeelding 1) genconstructen bestaande uit een virale promotor (CMV), een gen coderend voor één van de zes transcriptiefactoren (TF) en een gen voor een groen fluorescerend proteïne (nGFP).

afbeelding 1



De gebruikte transcriptiefactoren waren: Ngn3, Mafa, Pdx1, NeuroD, Pax6 en Isl1. De onderzoekers brachten de genconstructen in het DNA van adenovirussen en creëerden zo zes verschillende virusstammen. Ook werd een virusstam (stam 0) gemaakt zonder transcriptiefactor (zie afbeelding 2).

afbeelding 2



- 2p 27 Wat is de functie van de virale promotor (CMV) in het genconstruct?
- A De promotor dient als bindplaats voor DNA-polymerase.
  - B De promotor dient als bindplaats voor reverse-transcriptase.
  - C De promotor dient als bindplaats voor RNA-polymerase.

- 1p 28 Wat is de functie van het gen voor het groen fluorescerend proteïne (nGFP) in het genconstruct?

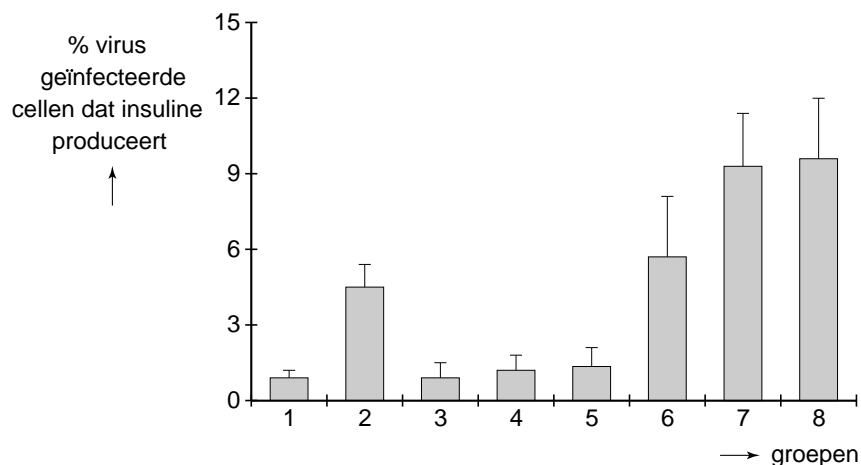
De gebruikte virusstammen werden geïnjecteerd in de alvleesklier van muizen met een verzwakt immuunsysteem.

De muizen werden in acht groepen verdeeld en kregen de volgende injecties:

- groep 1   alleen virusstam 0
- groep 2   een mengsel van alle virusstammen 1 tot en met 6
- groep 3   alle virusstammen, behalve stam 1 (Ngn3)
- groep 4   alle virusstammen, behalve stam 2 (Mafa)
- groep 5   alle virusstammen, behalve stam 3 (Pdx1)
- groep 6   alle virusstammen, behalve stam 4 (NeuroD)
- groep 7   alle virusstammen, behalve stam 5 (Pax6)
- groep 8   alle virusstammen, behalve stam 6 (Isl1)

Vervolgens bepaalden de onderzoekers welk percentage van de geïnfecteerde alvleeskliercellen als gevolg van de nieuw ingebrachte transcriptiefactoren insuline ging aanmaken. De resultaten hiervan zijn weergegeven in afbeelding 3.

**afbeelding 3**



Uit de resultaten van dit experiment kan afgeleid worden wat de meest effectieve combinatie van transcriptiefactoren is om exocriene alvleeskliercellen te herprogrammeren zodat ze insuline gaan aanmaken.

- 2p **29** Wat is de meest effectieve combinatie?
- A** de combinatie van Isl1 en Pax6
  - B** de combinatie van Isl1, Pax6 en NeuroD
  - C** de combinatie van Ngn3, Mafa, en Pdx1
  - D** de combinatie van alle zes transcriptiefactoren

- 2p **30** Bij dit experiment werden muizen met een verzwakt immuunsysteem gebruikt. Leg uit dat het resultaat van dit experiment hierdoor beter zal zijn dan wanneer muizen met een normaal functionerend immuunsysteem worden gebruikt.

Normaal liggen de insulineproducerende  $\beta$ -cellen geclusterd in de eilandjes van Langerhans. De geherprogrammeerde exocriene cellen, die door de transcriptiefactoren insuline zijn gaan produceren, liggen echter verspreid tussen de normale exocriene cellen. Ze zijn te herkennen aan de kleine blaasjes met insuline, naast de grotere blaasjes met pro-enzymen in het cytoplasma.

- 2p **31**
- Geef de naam van een enzym dat als pro-enzym door de exocriene kliercellen van de alvleesklier wordt afgegeven.
  - Waarom wordt dit enzym als pro-enzym afgegeven?

Rond de succesvol geherprogrammeerde exocriene cellen in de alvleesklier nam het aantal bloedvaatjes sterk toe. Waarschijnlijk werd dit veroorzaakt doordat deze cellen een bepaalde groeifactor produceerden.

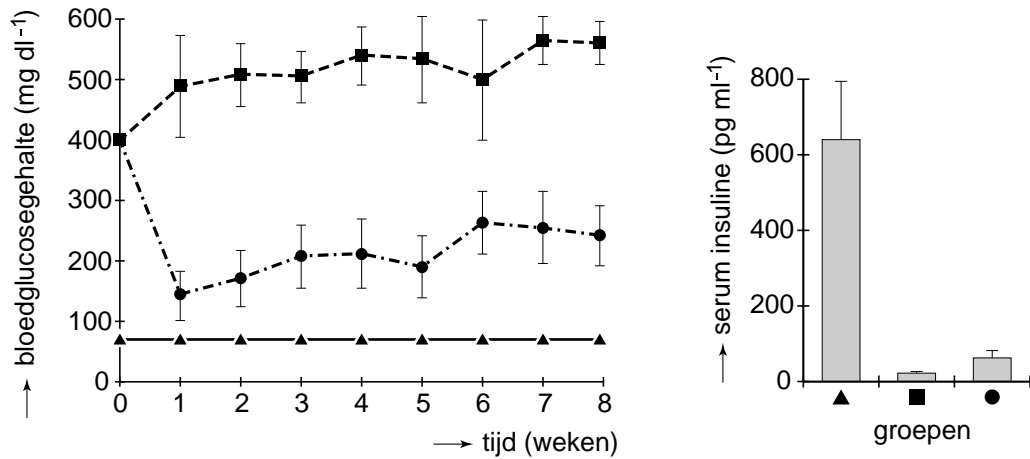
Door het grote aantal bloedvaatjes kunnen de cellen makkelijker stoffen opnemen en afgeven.

- 1p **32**
- Leg uit waarvoor het nog meer van belang is dat geherprogrammeerde alvleeskliercellen van een diabetespatiënt in contact staan met bloedvaatjes.

Om de effectiviteit van de gentherapie te testen gebruikten de onderzoekers muizen zonder  $\beta$ -cellen in de alvleesklier (diabetes-muizen). Deze muizen werden geïnjecteerd met een virus zonder een gen voor transcriptiefactoren (stam 0) of met een mengsel van virussen met genen voor bepaalde transcriptiefactoren (stam 1 t/m 6) (zie afbeelding 2). Vervolgens werd het bloedsuikergehalte van de behandelde diabetes-muizen en van normale muizen gedurende acht weken regelmatig gemeten. Ook werd zes weken na de inspuiting van de virusdeeltjes bepaald hoeveel insuline er in het bloed van de muizen circuleerde.

In afbeelding 4 zijn resultaten van deze proef te zien. Daaruit blijkt dat de herprogrammeringstherapie onvoldoende effectief is.

afbeelding 4



Legenda:

--■-- diabetes-muizen, ingespoten met adenovirus stam 0

-●- diabetes-muizen, ingespoten met adenovirus stammen 1 t/m 6

▲-▲- onbehandelde, gezonde muizen

Vier verklaringen voor de tegenvallende resultaten van de herprogrammerings-therapie zijn:

- 1 Er ontstaan te weinig geherprogrammeerde cellen;
- 2 De geherprogrammeerde cellen produceren te weinig insuline;
- 3 De insuline die wordt geproduceerd door geherprogrammeerde cellen bereikt het bloed onvoldoende;
- 4 De insuline die door geherprogrammeerde cellen wordt geproduceerd is onvoldoende werkzaam.

2p 33 Welke van deze verklaringen kan of kunnen de tegenvallende resultaten van de herprogrammeringstherapie verklaren?

- A alleen 1
- B alleen 2
- C alleen 1 en 3
- D alleen 2 en 4
- E alleen 1, 2 en 3
- F alleen 2, 3 en 4