

## Bloedziekte verhelpen met huidcellen

Een internationaal team van stamcelonderzoekers rapporteert een doorbraak in de behandeling van Fanconi anemie, een erfelijke bloedziekte. De onderzoekers verwachten dat met behulp van omgeprogrammeerde huidcellen de ziekte kan worden verholpen.

Fanconi anemie (bloedarmoede) wordt veroorzaakt door een sterke daling van het aantal bloedstamcellen. Patiënten hebben onder andere minder rode bloedcellen in het bloed. Bij de meeste Fanconi patiënten wordt de ziekte veroorzaakt door een mutant FANCA-gen. Als gevolg van dit gendefect verloopt herstel van DNA-schade minder goed, onder andere in bloedstamcellen.

Onderzoekers proberen al jaren het genetisch defect dat de oorzaak is van Fanconi anemie te repareren. Slechts een deel van de Fanconi patiënten kan geholpen worden door een bloedstamceltransplantatie. Daarbij worden bloedstamcellen uit een donor geïsoleerd en geïnjecteerd in het bloed van de patiënt.

Het mislukken van gentherapie is grotendeels te wijten aan het geringe aantal bloedstamcellen dat uit de patiënt is te isoleren. De stamcelonderzoekers omzeilen nu dit probleem door eerst het genetisch defect in huidcellen van de patiënt te repareren. De gerepareerde huidcellen worden vervolgens omgeprogrammeerd tot pluripotente stamcellen, die ze in schaaltes laten differentiëren tot bloedstamcellen.

2p **18** Leg uit hoe een FANCA-gendefect kan leiden tot anemie.

Een meisje van 10 jaar heeft de ziekte van Fanconi. Zij heeft niet alleen last van anemie, ook andere functies van het bloed zijn bij haar verminderd.

Enkele functies van bloed zijn:

- 1 bloedstolling;
- 2 cellulaire afweer;
- 3 humorale afweer;
- 4 vervoer van zuurstof.

2p **19** Welke van deze functies is of zijn ook verminderd bij dit Fanconi patiëntje?

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

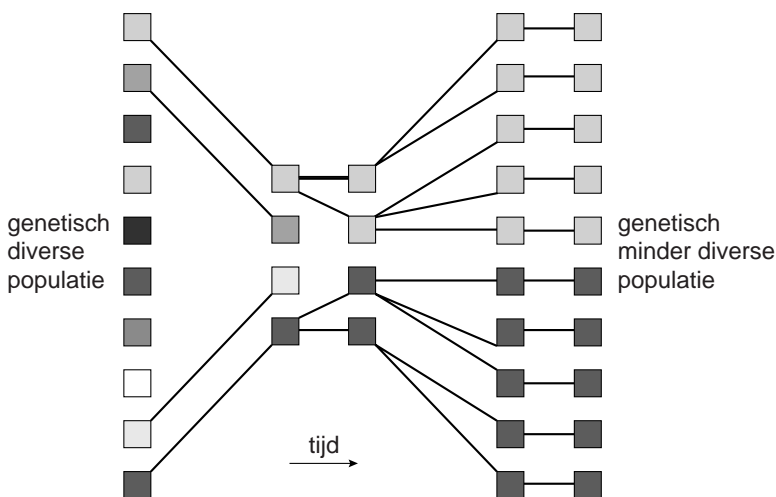
Het meisje behoort tot de joodse Ashkenazi bevolkingsgroep. De grootste populatie Ashkenazim is tegenwoordig te vinden in de Verenigde Staten. De frequentie van Fanconi anemiepatiënten is in de Ashkenazi bevolkingsgroep groter dan die in andere bevolkingsgroepen.

Als mogelijke verklaring hiervoor worden twee theorieën genoemd.

- 1 Na een catastrofe groeit een populatie weer aan; na verloop van tijd blijkt dat bepaalde allelfrequenties verschillen van die van de oorspronkelijke populatie (bottleneck of flessenhals effect).
- 2 Een subpopulatie vestigt zich in een nieuw gebied; na verloop van tijd blijkt dat bepaalde allelfrequenties verschillen van die van de oorspronkelijke populatie (founder of stichter effect).

Beide mogelijkheden zijn schematisch in afbeelding 1 weergegeven.

**afbeelding 1**



- 2p **20** Beredeneer aan de hand van één van deze twee theorieën hoe de verhoogde frequentie van Fanconi anemie bij de Ashkenazi bevolkingsgroep te verklaren is.

Als gevolg van het recessieve mutantgen FANCA-type FAC heeft 2,3 op de 100.000 Ashkenazi de ziekte Fanconi anemie.

- 2p **21** Wat is op basis van dit gegeven de frequentie dragers van het mutantgen FANCA-type FAC in de Ashkenazi populatie ongeveer?
- A ongeveer 1 op 100
  - B ongeveer 1 op 200
  - C ongeveer 1 op 1000
  - D ongeveer 1 op 4.500
  - E ongeveer 1 op 45.000

Het Fanconi patiëntje komt in aanmerking voor stamceltransplantatie.

Onderzocht kunnen onder andere worden:

- 1 de bloedgroepen van het meisje en haar familieleden;
- 2 de HLA-factoren van het meisje en haar familieleden.

- 2p **22** Welk van deze onderzoeken moet of welke moeten worden uitgevoerd om onder haar familieleden de meest geschikte donor uit te kiezen?
- A alleen 1
  - B alleen 2
  - C beide onderzoeken

Een maand na de stamceltransplantatie wordt bekeken waar de getransplanteerde stamcellen in haar lichaam terecht zijn gekomen.

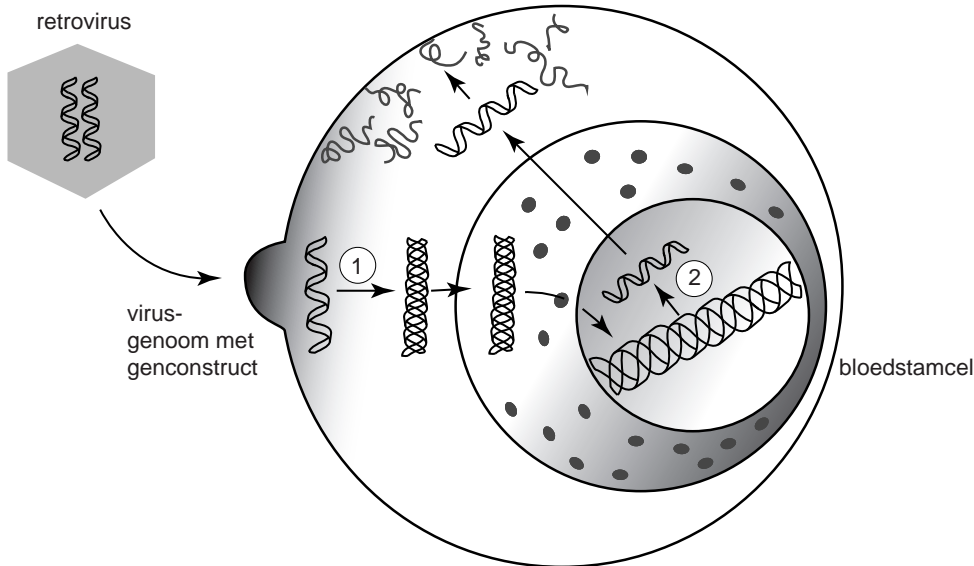
- 2p **23** Waar zullen de getransplanteerde bloedstamcellen zich in haar lichaam hebben gevestigd als de transplantatie geslaagd is?
- A in haar beenderen
  - B in haar lymfeklieren
  - C in haar milt
  - D in haar thymus
  - E in al haar organen

De onderzoekers zochten de oplossing voor de slecht functionerende bloedstamcellen in gentherapie. Daarvoor gebruikten ze een retrovirus dat zich ook in niet-delende cellen kan vermenigvuldigen. In het virus werd het wild-type FANCA-gen gebracht. Dit transgene virus werd als vector gebruikt om het FANCA-genconstruct in geïsoleerde bloedstamcellen van de patiënt te brengen (transfectie). De op deze manier 'gerepareerde' bloedstamcellen zouden ze vervolgens weer terugbrengen in de Fanconi patiënt.

Na een gelukte transfectie wordt in de bloedstamcel het FANCA-genconstruct met behulp van een bepaald enzym (enzym 1) gerepliceerd tot een dubbelstrengs DNA-molecuul, dat op een willekeurige plaats in het genoom van de bloedstamcel wordt opgenomen.

Vervolgens kan het FANCA-gen met behulp van een ander enzym (enzym 2) in deze bloedstamcel tot expressie gebracht worden. In afbeelding 2 zijn beide processen schematisch weergegeven.

afbeelding 2



2p 24 Wat zijn de namen van enzym 1 en enzym 2?

enzym 1

enzym 2

- |   |                       |                       |
|---|-----------------------|-----------------------|
| A | DNA polymerase        | reverse transcriptase |
| B | DNA polymerase        | RNA polymerase        |
| C | reverse transcriptase | DNA polymerase        |
| D | reverse transcriptase | RNA polymerase        |
| E | RNA polymerase        | DNA polymerase        |
| F | RNA polymerase        | reverse transcriptase |

Helaas overleefden weinig bloedstamcellen de behandeling met het virus. Bepaalde delende huidcellen (fibroblasten) overleefden de behandeling wél, alleen hebben de patiënten niets aan gerepareerde huidcellen. De onderzoekers rapporteren nu een doorbraak in het wetenschappelijk tijdschrift Nature. Door bepaalde transcriptiefactoren in deze fibroblasten te brengen veranderen deze in pluripotente stamcellen (iPS-cellen). Hieruit kunnen vervolgens bloedstamcellen worden gekweekt met het wild-type FANCA-gen.

Pas nadat de fibroblasten veranderd waren in iPS-cellen, konden ze voor het onderzoek naar de behandeling van Fanconi anemie worden gebruikt.

1p 25 Wat is in het kader van deze behandeling het belangrijkste verschil tussen een fibroblast en een iPS-cel?

Bij de verandering van fibroblasten in iPS-cellen zijn transcriptiefactoren nodig.

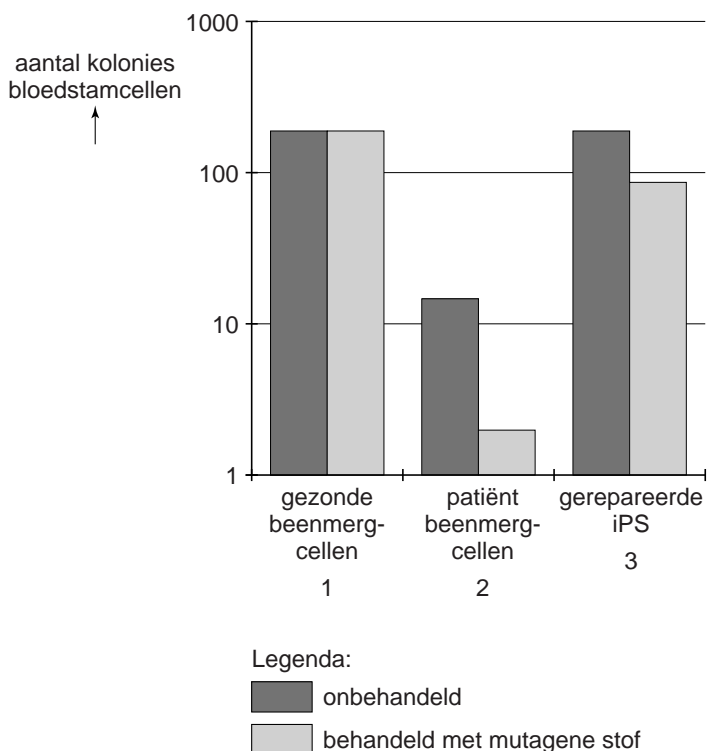
1p 26 Wat is de rol van transcriptiefactoren?

Bloedstamcellen en iPS-cellen kunnen (na behandeling met cytokines) in een kweek celkolonies vormen. In een proef naar de functionaliteit van iPS-cellen werden onder andere de volgende drie groepen celkweken gebruikt:

- 1 bloedstamcellen afkomstig van gezonde donoren;
- 2 bloedstamcellen afkomstig van Fanconi patiënten;
- 3 gerepareerde iPS-cellen afkomstig van Fanconi patiënten.

Deze celkweken werden ook uitgevoerd nadat bij elk een mutagene stof toegevoegd was. Na enige tijd werd bij alle kweken het aantal celkolonies geteld. In afbeelding 3 zijn de resultaten te zien.

**afbeelding 3**



Uit de resultaten van het experiment (zie afbeelding 3) kan geconcludeerd worden in hoeverre het gerepareerde FANCA-gen functioneel is in het reageren op mutagene stoffen.

- 2p **27** Beredeneer in welke mate het FANCA-gen in de gerepareerde iPS-cellen afkomstig van Fanconi patiënten functioneel is tegen mutagene invloeden en geef daarbij aan op welke resultaten welke conclusie gebaseerd is.

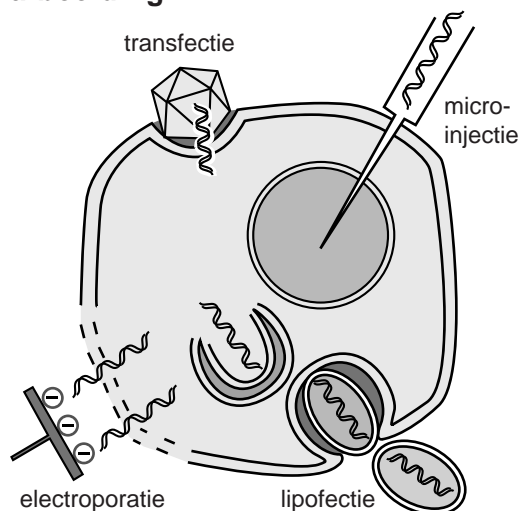
Voordat iPS-cellen of dochtercellen daarvan bij mensen worden ingespoten, wordt een laatste check uitgevoerd, onder andere door het bestuderen van een DNA-fingerprint van de cellen.

- 2p **28** Leg uit waarom een check aan de hand van een DNA-fingerprint van belang is.

“We hebben cellen genezen, maar nog geen mens,” zegt hoofdonderzoeker Juan-Carlos Izpisua Belmonte. Belmonte heeft nog geen gerepareerde iPS-cellen in patiënten ingespoten, omdat het niet zeker is dat het voor transfectie gebruikte virus ongevaarlijk is. Eerst wil hij onderzoeken of er veiligere manieren zijn om het intacte FANCA-gen in huidcellen te brengen. Een aantal andere mogelijkheden (zie afbeelding 4) voor een in vitro behandeling van huidcellen zijn:

- 1 Micro-injectie van het wild-type FANCA-gen in de kern van de huidcel;
- 2 Electroporatie, waarbij huidcellen onder stroom worden gezet in een oplossing met het wild-type FANCA-gen. Door tijdelijke openingen in het celmembraan kan DNA de cellen in;
- 3 Lipofectie: membraanblaasjes met daarin het wild-type FANCA-gen laten fuseren met huidcellen.

afbeelding 4



Er moet nog onderzocht worden welke manier het meest geschikt is om in de toekomst met behulp van iPS-cellen Fanconi patiënten te genezen. Er is een verschil in effectiviteit (doelmatigheid) van de verschillende methoden.

- 2p **29**
- Beredeneer wat een voordeel is van micro-injectie ten opzichte van lipofectie.
  - Beredeneer wat een nadeel is van micro-injectie ten opzichte van electroporatie.