



POD Wetenschapsbeleid

Studiedag
30 oktober 2003
ITUH - Brussel

Inzet van genetische susceptibiliteit in het werksmilieu

**Eenvoud en complexiteit van de genetische susceptibiliteit
in het werksmilieu.**

Micheline KIRSCH-VOLDERS, Noomi LOMBAERT
Annelies VANHAUWAERT, Ilse DECORDIER
Laboratorium voor Cellulaire Genetica - VUB

Eenvoud en complexiteit van de genetische susceptibiliteit in het werkmilieu.

M. Kirsch-Volders, N. Lombaert, A. Vanhauwaert, I. Decordier.

VUB - Laboratorium voor Cellulaire Genetica

mkirschv@vub.ac.be

Inleiding.

Hoe verschillend is het antwoord van een bepaald individu op chemische stress? Hoe belangrijk is het opvolgen van deze genetische susceptibiliteit bij beroepsblootstelling? Kan het bepalen van een genotype en/of fenotype daar een duidelijk antwoord op geven? Dat zijn de vragen die we zullen trachten te beantwoorden. Als inleiding zal de eenvoud en de complexiteit van het menselijk genoom besproken worden. Vervolgens zal een vergelijking gemaakt worden tussen de voor- en nadelen en het belang van genotyperen en fenotyperen. Ten slotte zal een studie van het laboratorium voor Cellulaire Genetica voorgesteld worden waar het DNA-repairgenotype en -fenotype werden onderzocht bij werkmilieu blootgesteld aan gamma-straling om het belang van beide methoden te illustreren.

Eenvoud en complexiteit van het menselijk genoom.

Tijdens de bevruchting versmelten een oöcyte en spermatozoïde met elk 23 chromosomen tot een bevruchte eicel of zygote waar het menselijk lichaam zich zal uit ontwikkelen. De cellen van het menselijk lichaam bevatten dezelfde genetische informatie, nl. het DNA (deoxyribonucleic acid), dat vervat zit in de 23 paren chromosomen. De ene helft van een chromosomenpaar is afkomstig van de moeder, de andere van de vader. Het DNA zit opgewonden en opgevouwen rond proteïnes in een complex patroon dat de chromosomen zal vormen. Elke DNA molecule bestaat uit 2 complementaire strengen die een dubbele helix-structuur vormen. Elke streng bevat vier basen: Adenine (A), Thymin (T), Cytosine (C), en Guanine (G). Deze vier basen vormen de genetische code, "het alfabet" van het genoom. Deze "letters" kunnen "woorden" vormen die op hun beurt de code zullen bevatten voor een aminozuur, de bouwsteen van de proteïnes. Dit wordt het "centraal dogma" genoemd: uit het DNA wordt via transcriptie mRNA gevormd dat op zijn beurt via translatie zal aanleiding geven tot een proteïne. Dit verklaart hoe we van genotype tot fenotype komen. Het genotype komt overeen met de genetische eigenschappen van een individu; het fenotype is het geheel van waarneembare eigenschappen. Het genotype verwijst ook naar het koppel allelen aanwezig op een locus op het chromosoom. Op overeenstemmende loci dragen de chromosomenparen informatie voor eenzelfde kenmerk. Elk kenmerk wordt dus bepaald door twee allelen. Een bepaald genotype, of gen bestaande uit twee allelen zal aanleiding geven tot een bepaalde proteïne (of enzyme). Afhankelijk van de activiteit van deze proteïnes (enzymen) zal dan een bepaald fenotype ontstaan. Dit kan men als volgt verklaren: van de genen die coderen voor de enzymen kunnen verschillende varianten bestaan (genetische polymorfismen) die dan ook zullen coderen voor verschillende varianten van deze enzymen. Dit betekent dus ook dat er een verschillende enzyme-activiteit kan optreden. Daarom kan men zich afvragen of men eerder het genotype of het fenotype moet gaan onderzoeken bij de studie van beroepsziekten.

Toch is het menselijk genoom veel complexer dan tot hier werd beschreven. Deze complexiteit wordt door verscheidene factoren bepaald: de lengte van een DNA-molecule in de cel bedraagt 2.2 m; uit 30.000 genen ontstaan 100.000 verschillende proteïne-functies, waarvan 80% nog niet gekend is; de complexiteit van de gen- en proteïne-structuur; overerving die monogeen of polygeen kan zijn, verschillende processen kunnen één ziekte bepalen, de interactie tussen genen en de omgeving die het fenotype zal bepalen. Dit laatste

betekent dus dat zowel erfelijke factoren als niet erfelijke factoren, bv. omgevingsfactoren de gevoeligheid van een individu voor een beroepsziekte kunnen beïnvloeden.

Waarom genotyperen en/of fenotyperen?

In de volgende tabel worden de eigenschappen en dus ook de de voor- en nadelen van genotypering en fenotypering vergeleken.

GENOTYPE en/of FENOTYPE

<i>Niveau</i>	<i>DNA</i>	<i>Functionele proteïnes</i>
Methode	Genotypering	<i>In vitro</i> challenge/proteomics
Kost en technisch karakter	Laag, gemakkelijk, eenvoudige respons	Hoog (micro arrays), complex
Relatie tot de oorzaak van een ziekte	Eerder klein	Groter
Verwachte sterkte van associatie	Zwakker	Sterker
Omgevingsfactoren	Niet geïntegreerd	Geïntegreerd
Monogenetisch proces	Ja	Ja
Multi-gen etisch proces	Ja, maar met moeilijkheden	Ja
Tijdelijke stabiliteit van de meting	Stabiel	Minder stabiel
Overdracht van persoon tot persoon	Toepasbaar	Niet toepasbaar
Ethische overwegingen	Hoger	Lager

Uit deze vergelijking kan men concluderen dat beide belangrijk zijn. Een argument om het belang van het genotyperen te staven is zijn rol in het bepalen van blootstellingslimieten om aan te tonen dat individuele genetische verschillen in rekening dienen gebracht te worden. Belangrijk is ook de functionele variatie in genen die een subtiel effect blijkt te hebben op het kankerrisico voor een individu, maar die een grotere populatie-impact kan hebben omdat de relevante polymorfismen hoogst overwegend kunnen zijn. Zo zal bv. een polymorfisme dat het risico met slechts 50 % verhoogt maar ook aanwezig is in de helft van een populatie, voor 20% van alle gevallen gelden. Dit onderlijnt het belang van een voldoende aantal individuen in een studie.

Voorbeeldstudie: “Kan genotypering van DNA repairenzymen en/of fenotypering een betere kankerpreventie toelaten bij arbeiders beroepsmatig blootgesteld aan een lage dosis ioniserende stralen (?-stralen)?”

In het laboratorium voor Cellulaire Genetica werd een studie uitgevoerd in het kader van een DWTC-programma waarbij gebruik gemaakt werd van zowel genotypering als fenotypering om een antwoord te vinden op de volgende vraag: “Bestaat er een functionele relatie tussen polymorfismen in DNA-repair genen en DNA-repairfenotype in arbeiders blootgesteld aan lage dosis gamma-straling in een Belgische kerncentrales en een controle groep?”

Gamma stralen induceren oxidatieve schade in het DNA die resulteert in de accumulatie van 8-oxoguanine. hOGG1 codeert voor de 8-oxo-guanine-DNA glycosylase bij de mens, die de 8-oxoguanine van het DNA verwijdert als een deel van de base excision repair (BER) pathway die geactiveerd wordt na DNA-schade door ioniserende stralen. DNA breuken ontstaan door repair of herstel worden gemeten met de comet assay. Met de studie van het genotype wordt een onderscheid gemaakt tussen de verschillende genetische polymorfismen die bestaan voor een bepaald gen. De studie van het repair fenotype bestaat erin dat men via de comet assay het verwijderen van DNA schade, en dus de repair, volgt van cellen *in vitro* blootgesteld aan

een schadelijk agens. Op die manier kan men de mogelijkheid nagaan of de DNA-repaircapaciteit door genetische verschillen of epigenetische invloeden verschilt tussen individuen. In deze studie werden bloedculturen *in vitro* blootgesteld aan 2 Gy ⁶⁰Co daarna werd de repaircapaciteit gemeten onmiddellijk na *in vitro* bestraling (0 min), na 5 min, na 60 min en na 120 min met behulp van de comet assay. Van dezelfde bloedstalen werd het genotype bepaald voor hOGG1, de mogelijke genotypes waren: Ser/Ser, Ser/Cys en Cys/Cys.

Aan de hand van multi-variabele statistische analyse werd de associatie tussen genotype en fenotype geanalyseerd.

Uit deze analyse kon men besluiten dat 1) het HOGG1 genotype predictief kan zijn voor de repaircapaciteit van DNA-schade geïnduceerd door ioniserende stralen en dat 2) de *in vitro* DNA-breuk repairfenotype ook een geschikte assay kan zijn voor het inschatten van de genetische susceptibiliteit voor ioniserende stralen. Aanvullende studies zijn nodig om dit te kunnen bevestigen op grotere schaal en om te kunnen vergelijken met andere polymorfismen.

Referenties:

Touil, N., Aka, P. V., Buchet, J. P., Thierens, H., and Kirsch-Volders, M. Assessment of genotoxic effects related to chronic low level exposure to ionizing radiation using biomarkers for DNA damage and repair. *Mutagenesis*, 17: 223-32, 2002.

Kirsch-Volders, M., De Boeck, M. And Lison, D. Génotoxicité et activité professionnelle. *Encycl. Méd-Chir*, 16-537-C-10, 2002, 9 p.

Dankwoord:

'Federale Diensten voor Wetenschappelijke, Technische en Culturele aangelegenheden' (DWTC).
Project PS:03/035: Genotypische en fenotypische variabiliteit, individuelesusceptibiliteitsfactoren en industriële genotoxische/ neurotoxische agentia in arbeidsgeneeskunde (Wet . ondersteuningprogr. vr gezondheidsbescherming v/d werknemer 99-2003)

* *

*