

Moleculair gereedschap tegen erfelijk oedeem

In 2022 behandelde Danny Cohn als eerste arts in Nederland een patiënt met erfelijk oedeem met crispr-cas. De patiënt kon dezelfde dag al het UMC te Amsterdam verlaten.

Hereditair angio-oedeem type 1 (HAE-1) is een zeldzame erfelijke aandoening. De aandoening veroorzaakt aanvallen van zwellingen bij stress of infectie. Deze zwellingen kunnen op allerlei plaatsen ontstaan, bijvoorbeeld in het gezicht, de handen, of de darmen. Afbeelding 1 laat zien hoe een aanval rond de mond zich ontwikkelt. Zo'n aanval duurt gemiddeld drie dagen.

afbeelding 1



Oedeem kan ook andere oorzaken hebben. Hieronder staan drie situaties.

- 1 een lage bloeddruk
- 2 een hoge colloïd-osmotische waarde van het bloed
- 3 een verstopping van de lymfevaten

2p **23** Schrijf de nummers 1, 2 en 3 onder elkaar. Noteer erachter of de bijbehorende situatie **wel** of **geen** oorzaak van oedeem kan zijn.

Als het darmslijmvlies is opgezwollen, ontstaan aanvallen van ernstige buikpijn. De patiënt heeft dan ook last van diarree (waterige ontlasting).

2p **24** Beredeneer aan de hand van een factor uit de wet van Fick hoe de zwelling van het darmslijmvlies leidt tot verminderde opname van water.

HAE-1 erft autosomaal dominant over.

De frequentie van het allel dat HAE-1 veroorzaakt, is in Nederland 0,000028. Ga ervan uit dat de wet van Hardy-Weinberg van toepassing is en dat Nederland 18 miljoen inwoners heeft.

2p 25 Hoeveel mensen in Nederland zullen dan HAE-1 hebben?

- A 0
- B 504
- C 1008
- D 95.247
- E 190.494

Bij HAE-1 is er een mutatie in het gen voor C1-esteraseremmer. Hierdoor is er een verminderde activiteit van C1-esteraseremmer. Deze stof is een remmer van het kininesysteem, en wordt geproduceerd door levercellen. Het kininesysteem beïnvloedt de vorming van weefselvloeistof.

In een kwart van de gevallen is er sprake van een spontane mutatie. Hieronder staan uitspraken over deze spontane mutaties.

- 1 Een puntmutatie die HAE-1 veroorzaakt, leidt tot een verandering in de primaire structuur van het eiwit.
- 2 Een mutatie in één allel is voldoende om een verminderde activiteit van C1-esteraseremmer te krijgen in de betreffende cel.
- 3 Het ontstaan van een spontane mutatie in een volledig gedifferentieerde levercel leidt bij een volwassen persoon tot HAE-1.

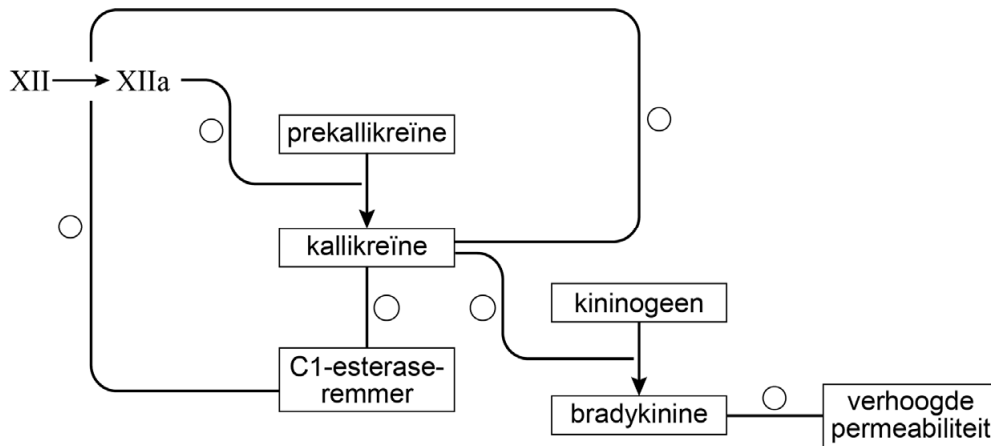
2p 26 Schrijf de nummers 1, 2 en 3 onder elkaar. Noteer erachter of de bijbehorende uitspraak **juist** of **onjuist** is.

Bij de vorming van weefselvloeistof zijn ook de stoffen factor XII, prekallikreïne en kininogeen betrokken. In het bloedplasma vinden verschillende omzettingen plaats:

- Een prikkel, zoals stress of een infectie, activeert factor XII.
- Geactiveerde factor XII zet prekallikreïne om in kallikreïne.
- Kallikreïne knipt kininogeen waarbij het eiwit bradykinine ontstaat.
- Bradykinine bindt zich vervolgens aan bradykinine-receptoren op endotheelcellen. Hierdoor wijken deze cellen uiteen en lekt vocht vanuit het bloedvat naar het omliggende weefsel.
- Kallikreïne activeert factor XII waardoor uiteindelijk meer bradykinine wordt aangemaakt.

In gezonde mensen leidt bradykinine tot zwelling bij ontstekingsreacties. Een C1-esteraseremmer laat de zwelling weer afnemen. Deze remmer stopt de omzetting van factor XII en remt de activiteit van kallikreïne.

Hieronder is de regulatie die leidt tot de vorming van weefselvloeistof in een schema weergegeven. Het schema is niet compleet.



In de uitwerkbijlage staat hetzelfde schema.

- 2p 27 Maak dat schema compleet door
- pijlen te maken van de zes lijnen, om de richting van de invloed aan te geven;
 - in de cirkels bij deze pijlen aan te geven of het effect stimulerend (+) of remmend (–) is.

Sommige mensen maken geen prekallikreïne aan. Dit blijkt geen effect te hebben op hun gezondheid. Cohn kwam zo op het idee om patiënten met HAE-1 te behandelen door de productie van het prekallikreïne-eiwit te verhinderen. Hij ontwikkelde een speciaal stukje enkelstrengs DNA: een AON (antisense oligonucleotide). Na toediening bindt deze AON in het grondplasma van levercellen aan het mRNA voor prekallikreïne. Het DNA-mRNA-complex dat dan ontstaat, is het substraat voor een enzym dat het mRNA doorknipt. Door deze AON-therapie wordt de translatie geremd.

Hieronder staat een deel van de coderende streng van het prekallikreïne-gen waarop de AON is gebaseerd.

5' – TGTTTGCCAAGAGACTTGGCA – 3'

- 2p 28 Wat is de sequentie van de AON?
- A** 5' – ACGG TTCAGAGA ACCGTTTGT – 3'
- B** 5' – ACGGUUCAGAGAACCGUUUGU – 3'
- C** 5' – TGCCAAGTCTCTTGGCAAACA – 3'
- D** 5' – TGTTTGCCAAGAGACTTGGCA – 3'
- E** 5' – UGCCAAGUCUCUUGGCAAACA – 3'
- F** 5' – UGUUUGCCAAGAGACUUGGCA – 3'
- 1p 29 Bindt de AON aan een deel van een exon of aan een deel van een intron?
Licht je antwoord toe.

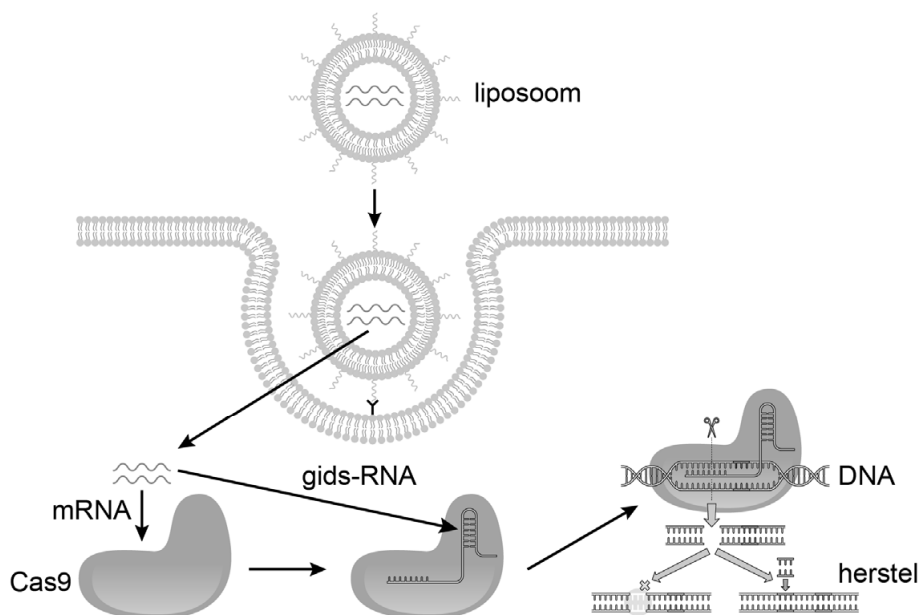
Bij AON-therapie moet de toediening van AON's regelmatig worden herhaald.

- 1p 30 Licht toe waarom de toediening herhaald moet worden.

Om HAE-1 effectiever te behandelen, ontwikkelde Cohn een therapie met behulp van de crispr-cas-techniek. De HAE-1-patiënt kreeg deze therapie door middel van een infuus in de bovenarm. De crispr-cas-techniek schakelt het gen voor prekallikreïne uit, waardoor de aanmaak van het eiwit niet meer mogelijk is.

Hieronder staat een beschrijving van de techniek. Zie ook afbeelding 2. Het infuus bevat liposomen waarvoor alleen de levercellen receptoren hebben. De liposomen bevatten een stukje mRNA dat codeert voor het Cas9-eiwit (crispr-associated nuclease) en een stukje gids-RNA. Na opname door de cel wordt met het mRNA het Cas9-eiwit gevormd. Het gids-RNA leidt het eiwit vervolgens naar een specifieke plaats op het prekallikreïne-gen. Daar knipt het Cas9-eiwit het DNA door. De cel zal proberen de breuk in het DNA te herstellen. Hierbij ontstaan vaak mutaties waardoor er geen werkend prekallikreïne meer kan worden gevormd.

afbeelding 2



- 1p 31 Noteer de naam van het transportproces waarmee een liposoom wordt opgenomen in de levercel.

Hieronder staan uitspraken over de beschreven AON-therapie en de beschreven crispr-cas-therapie.

- 1 De AON-therapie is een vorm van RNA-interferentie.
- 2 De crispr-cas-therapie zorgt ervoor dat de aandoening niet kan worden overgedragen aan de volgende generatie.
- 3 De crispr-cas-therapie is een vorm van recombinant-DNA-techniek.

- 2p 32 Schrijf de nummers 1, 2 en 3 onder elkaar. Noteer erachter of de bijbehorende uitspraak **juist** of **onjuist** is.