Een genoom in beweging

Vossiuspers UvA is een imprint van Amsterdam University Press.
Deze uitgave is totstandgekomen onder auspiciën van de Universiteit van Amsterdam.

Omslag: Colorscan, Voorhout
Opmaak: JAPES, Amsterdam
Foto omslag: Carmen Freudenthal, Amsterdam

ISBN 90 5629 284 6
© Vossiuspers UvA, Amsterdam, 2003

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Voorzover het maken van kopieën uit deze uitgave is toegestaan op grond van artikel 16B Auteurswet 1912 j^{o} het Besluit van 20 juni 1974, St.b. 351, zoals gewijzigd bij het Besluit van 23 augustus 1985, St.b. 471 en artikel 17 Auteurswet 1912, dient men de daarvoor wettelijk verschuldigde vergoedingen te voldoen aan de Stichting Reprorecht (Postbus 882, 1180 AW Amstelveen). Voor het overnemen van gedeelte(n) uit deze uitgave in bloemlezingen, readers en andere compilatiewerken (artikel 16 Auteurswet 1912) dient men zich tot de uitgever te wenden.

Een genoom in beweging

Rede

uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van
hoogleraar in de neurogenetica
aan de Universiteit van Amsterdam
op 30 oktober 2002

door

Frank Baas

Vossiuspers UvA

Mijnheer de Rector Magnificus,
Mevrouw de Decaan van de Faculteit Geneeskunde,
Hoogleraren van de Universiteit van Amsterdam en Zusterfaculteiten,
Dames en Heren,

In deze openbare les wil ik met u, aan de hand van enige voorbeelden, een paar van de enorme ontwikkelingen die de erfelijkheidsleer heeft doorgemaakt, bespreken. Ik wil u laten zien dat natuurlijke variatie in ons erfelijk materiaal een belangrijke invloed op het beloop van een ziekte kan hebben.

Als eerste voorbeeld wil ik scheurbuik met u bespreken. De symptomen van scheurbuik werden al 1500 jaar voor Christus door de Grieken en Romeinen beschreven. De oorzaak en therapie waren toen natuurlijk nog niet bekend. Zelfs in de zeventiende eeuw tastte men nog in het duister over deze vreemde ziekte. Dat het een groot probleem was, mag duidelijk zijn uit het volgende citaat en bijbehorende getallen: 'Armies have been supposed to lose more of their men by sickness than by the sword. But this observation has been much more verified in our fleets and squadrons where scurvy alone, during the last war, proved a more destructive enemy, and cut off more valuable lives, that the united efforts of the French and Spanish arms.'[1]

De Britse regering maakte er in die tijd melding van dat in een periode van twintig jaar zo'n tienduizend zeelieden aan deze vreemde ziekte hadden geleden; een behandelmethode was toen niet bekend. Het was ook opmerkelijk dat op de zeilschepen alleen de bemanning klachten kreeg. Waarom werden de dieren die ook aan boord waren niet ziek? Was er een verschil tussen mens en dier? Als men geen inzicht heeft in de achtergronden van een ziekteproces is het kiezen van een mogelijke therapie een kwestie van 'trial and error'.

Een van de meest opzienbarende pogingen tot behandeling van patiënten met scheurbuik vond plaats in Hongarije aan het begin van de achttiende eeuw.[2] Dr. Kramer, een arts van het Oostenrijkse leger dat in Hongarije in een oorlog verwikkeld was, behandelde vierhonderd soldaten die de verschijnselen van scheurbuik hadden. Op advies van de ons alom bekende Leidse arts Boerhaave werd hun calomelpillen, een kwik bevattend preparaat, gegeven. Dit preparaat werd in die tijd toegepast om bijvoorbeeld de speekselsecretie aan te zetten. Het effect was opzienbarend: alle soldaten overleden. Zelfs voor die tijd was een mortaliteit van 100% uitzonderlijk. Uit dit experiment zou men kunnen concluderen dat de combinatie van calomel en scheurbuik levensgevaarlijk is.

Een beter experiment werd uitgevoerd door de Engelse arts James Lind.[1] Om een behandeling voor scheurbuik te vinden, voer deze in 1747 mee met het Engelse zeeschip de Salisbury. Hij wachtte tot de zeelieden ziek werden en selecteerde twaalf mannen met ongeveer dezelfde symptomen: zij hadden alle bloedend tandvlees, rode vlekken op de huid, waren mat en zwak ter been. Om de effecten van zijn verschillende behandelingen zo goed mogelijk met elkaar te kunnen vergelijken, kregen alle mannen hetzelfde ontbijt, lunch en avondeten. Per groep van twee werden de volgende medicijnen uitgetest: twee kregen een kwart liter cider, twee kregen driemaal daags 25 druppels vitrioolelixer, twee kregen driemaal daags 2 lepels azijn, twee kregen iedere dag een flinke dosis zeewater, twee een kruidenmengsel en de laatste groep van twee kregen 2 sinaasappelen en 1 citroen per dag. De uitwerking van de citrusvruchten was enorm en wonderbaarlijk positief: reeds na zes dagen was een van de mannen die citrusvruchten hadden gegeten voldoende hersteld om zijn werk weer te kunnen hervatten en de andere man al sterk om de resterende mannen te verplegen. Dr. Lind concludeerde dat er iets in de citrusvruchten zat wat de symptomen van scheurbuik kon onderdrukken. Gedurende dit experiment is men achter de juiste behandeling gekomen. Het is waarschijnlijk de eerste klinische *trial* die ooit uitgevoerd is.

Het verhaal van dokter Kramer en zijn calomelpillen laat zien dat een verkeerde combinatie van geneesmiddelen zeer gevaarlijk kan zijn. In de afwezigheid van scheurbuik zou het kwikpreparaat, dat als geneesmiddel tot zelfs halverwege de vorige eeuw nog gebruikt werd, lang niet zo'n desastreuze uitwerking hebben gehad.

Dit verhaal illustreert dat systematisch onderzoek van patiëntengroepen snel kan leiden tot het vinden van een passende therapie. Waarom de therapie werkzaam was, bleef onduidelijk.

Wij weten nu dat vitamine C een essentiële voedingsstof is voor de mens en niet voor heel veel andere dieren. Dit moet wel betekenen dat er een groot verschil bestaat tussen de stofwisseling van de mens en dier. Na uitgebreid onderzoek werd duidelijk dat scheurbuik toch niet alleen bij de mens voorkomt. Ook apen, de cavia en de Indiase vliegende hond kunnen scheurbuik krijgen. Pas in de tweede helft van de twintigste eeuw werd de oorzaak van dit verschil duidelijk. Het bleek dat de mens een verandering in zijn erfelijk materiaal had, waardoor een van de vier enzymen die nodig zijn om glucose om te zetten in vitamine C afwezig was. Er zat een fout in het erfelijk materiaal. De mens, de aap, de cavia en de vliegende hond hebben gedurende de evolutie deze capaciteit verloren. Dankzij het inzicht in de erfelijke basis van het onderliggende defect kon het verschil tussen de mens en andere dieren dus verklaard worden. Wat eerst slechts een waarneming was, is geworden tot een biochemische verklaring van een erfelijke stoornis in de stofwisseling.

Gelukkig is de therapie van deze ziekte heel eenvoudig: het nuttigen van een sinaasappeltje per dag is voldoende. Omdat het hier om een defect in ons erfelijk materiaal gaat, kan het feit dat wij géén en de meeste andere dieren wel vitamine C kunnen maken een aangeboren stofwisselingsziekte genoemd worden. Maar wij zijn niet ziek. Pas als wij gedurende een lange tijd te weinig vitamine C binnen krijgen, worden we ziek.

Dankzij de kennis over deze ziekte en zijn behandeling komt scheurbuik niet vaak meer voor. Deze is in de westerse wereld zo zeldzaam geworden dat het lang niet altijd herkend wordt. De ziekte is dus niet verdwenen, maar wij hebben ons goed aangepast aan het defect. Wij moeten nog wel oppassen dat wij hem niet krijgen. Niet lang geleden werd scheurbuik pas na langdurig onderzoek herkend bij een zeer hardwerkende onderzoeker op een laboratorium in Leiden. Zou het toeval zijn dat dit in Leiden gebeurde? Heeft men daar na het calomeldrama in Hongarije het feit dat scheurbuik bestaat, verdrongen?

Als we nu een soortgelijke ziekte, met alleen al tienduizend zieke Britten in twintig jaar, zouden onderzoeken, zouden de patiëntengroepen groter zijn, zouden we toestemming nodig hebben van ethische commissies, zouden de resultaten statistisch verantwoord zijn en gepresenteerd in een vooraanstaand wetenschappelijk tijdschrift. Het feit dat een populatie met een heel frequent voorkomend defect geïdentificeerd was, zou mogelijk ook de televisie hebben gehaald. Er bestaat zelfs de kans dat iemand dan zou hebben voorgesteld met gentherapie te gaan behandelen wat gepresenteerd zou worden als een voorbeeld van de kracht van het onder-

zoek in de *genomics*. De toevalsbevinding dat de ziekte met een bestanddeel van onze voeding behandeld kan worden, zou gepresenteerd worden als *nutrigenomics*, de leer van voeding en erfelijke factoren, en de sterke toxiciteit van kwik in het geval van een vitamine C-deficiëntie zou men vervolgens *pharmacogenomics*, de leer van de interacties van geneesmiddelen en genetica, noemen. Zoals u begrijpt is het toevoegen van *-omics* de toverformule van de moderne onderzoeker. Het gaat in feite om niets meer dan oude wijn in nieuwe zakken.

Toch krijgt deze erfelijke ziekte tegenwoordig niet al die aandacht. Dit komt omdat het onvermogen om vitamine C te maken bij de mens gezien wordt als normaal. Het feit dat wij dit niet kunnen, lijkt de norm te zijn. Opvallend is dat we bij de rat, die gewoonlijk wél in staat is om vitamine C uit glucose te maken, het defect in de synthese van vitamine C wel een ziekte noemen. Bij de shionogirat, die niet in staat is om vitamine C te synthetiseren, spreekt men van een scheurbuikmutant. Het referentiekader, in dit geval de normale rat die wel in staat is om vitamine C uit glucose te synthetiseren, zet hier de norm. Eigenlijk gaat het bij de mens niet anders. Dat wat het vaakst voorkomt wordt als norm gesteld.

Het tweede geval dat ik aan u wil voorleggen, gaat over een familie met een neurologische ziekte; amyotrofische lateraal sclerose, ook wel ALS genoemd. Dit is een zeer ernstige progressieve verlamming die meestal binnen een paar jaar tot de dood leidt. Bij de meeste patiënten met deze ziekte word deze tussen hun vijftigste en zeventigste levensjaar gediagnostiseerd. Dit was ook het geval in de familie die ik u nu ga beschrijven. Reeds drie leden van deze familie waren rond hun vijftigste jaar gediagnostiseerd. Alledrie overleden ze binnen een paar jaar na het stellen van de diagnose. [3] Dit gold echter niet voor een zoon van een van deze patiënten. Ook hij werd ziek, maar kreeg de verschijnselen van ALS al op zijn vijfentwintigste levensjaar. Hij overleed binnen een jaar. Wat was hier aan de hand? Had deze jonge man een andere ziekte dan zijn drie overleden familieleden? De diagnose ALS op iemands vijfentwintigste levensjaar is zeer zeldzaam en paste niet bij de familiegeschiedenis. Genetisch onderzoek liet zien dat in deze familie ALS veroorzaakt werd door een erfelijke afwijking. Er was een verandering in het DNA wat codeert voor het eiwit SOD-1. Dit is een zeldzame oorzaak van ALS en leidt meestal tot een ziektebeeld waarvan het beloop goed te voorspellen is. Toen de oorzaak van de erfelijke ALS in deze familie bekend was, konden ook andere familieleden onderzocht worden. Het bleek dat ook de 35-jarige zuster van de jonge ALS-patiënt de erfelijke verandering

in het SOD1-gen bij zich droeg, maar zij was op haar vijfendertigste nog vrij van klachten. De vraag is waarom deze man veel eerder ziek werd dan zijn familieleden. Vervolgonderzoek liet zien dat de jonge ALS-patiënt ook een ander erfelijk defect had, namelijk een erfelijke stoornis in de synthese van een groeifactor voor zenuwcellen. Deze deficiëntie leidt op zich niet tot een ziekte, maar in combinatie met ALS lijkt de deficiëntie het ziektebeloop te beïnvloeden.

De overeenkomst tussen de twee gevallen die ik u beschreven heb, wordt nu duidelijk. In beide gevallen gaat het om een erfelijk defect in de synthese van een factor. Op zich leidt het hebben van zo'n defect niet tot ziekte, alleen in combinatie met een andere factor uit deze zich. Het onvermogen om vitamine C te maken is een defect dat ieder mens bij zich draagt. In het geval van de jonge ALS-patiënt gaat het om een minder frequente afwijking, een stoornis in de synthese van een groeifactor voor zenuwcellen. Eén op de veertig mensen heeft deze afwijking, maar toch zijn zij niet ziek. Alleen als deze erfelijke afwijkingen voorkomen met andere erfelijke of niet erfelijke factoren, dan wordt het effect van de deficiëntie duidelijk. In het eerste geval is het een tekort aan vitamine C waardoor iemand ziek wordt, en in combinatie met het kwikpreparaat calomel leidt dat tot 100% mortaliteit. In het tweede geval is het de erfelijke ziekte ALS, die er in combinatie met het onvermogen om een groeifactor te maken voor zorgt dat iemand ongeveer vijfentwintig jaar eerder dan gebruikelijk ziek wordt. Het bestuderen van deze interacties is een belangrijk onderdeel van het vakgebied van de geneticus.

Hoe heeft de mens deze erfelijke veranderingen opgelopen?

De informatie die nodig is voor de opbouw van een organisme ligt opgeslagen in DNA, ons erfelijk materiaal, ook wel het genoom genoemd. Voor de mens zijn dit 46 chromosomen. Het genoom bevat dus de blauwdruk van het organisme. De volgorde van de DNA-bouwstenen codeert voor eiwitten. Deze eiwitten hebben wij nodig om ons lichaam te vormen en onze lichaamsfuncties in stand te houden. Een stuk DNA dat de informatie bevat voor de vorming van één eiwit wordt een gen genoemd.

Gedurende de laatste vijftien jaar is er een enorme vooruitgang geboekt op het gebied van DNA-onderzoek. Van vele organismen is de volgorde van het genoom bepaald.

Een vergelijking van het genoom van verschillende bacteriën laat zien dat er grote verschillen zijn, zowel in grootte als samenstelling van het genoom. Een bacterie met een heel klein genoom, een mycobacterie, heeft slechts 468 genen, terwijl een Hemophilus- bacterie meer dan 1000 genen heeft die voor een eiwit coderen. Een vergelijking van het genoom van deze twee bacteriën laat zien dat ze maar 250 genen gemeenschappelijk hebben.[4] Deze 250 genen worden wel de 'minimal set required for cellular life' genoemd. Met dit minimum kan natuurlijk geen één organisme bestaan, maar het geeft wel aan wat het minimum aantal genen is dat noodzakelijk is om heel essentiële functies te verrichten.

Natuurlijk heeft een organisme ook eiwitten nodig voor de interactie met zijn omgeving. Aangezien de eisen waar de omgeving aan moet voldoen sterk verschillen, zal ook de grootte van het genoom sterke verschillen vertonen.

Dat het genoom van de mens meer informatie moet bevatten dan dat van een bacterie ligt voor de hand. Het genoom van bacteriën is zeker duizend keer kleiner dan dat van de mens. Wij zijn een meercellig organisme, dus niet alleen de informatie voor die ene cel, maar ook de informatie die noodzakelijk is voor de interactie van de cellen onderling moet gecodeerd worden. Voor zoogdieren bestaat het DNA uit zo'n 3 miljard DNA-bouwstenen, die volgens de laatste schattingen voor minimaal 40.000 genen coderen. Daarentegen heeft een mycobacterium slechts 468 genen. Gedurende de evolutie heeft er dus een enorme groei plaatsgevonden.

In 1970 stelde Ohno in zijn evolutietheorie dat er drie mechanismen de drijvende kracht zijn.[5] Dit zijn het ontstaan van mutaties, het optreden van duplicaties en het ontstaan van chromosomale re-arrangementen. Mutaties zijn veranderingen in de DNA-basevolgorde waardoor een verandering in het door het gen gecodeerde eiwit kan ontstaan. Onder duplicaties verstaan wij het verdubbelen van delen van ons genoom waardoor de diversiteit in genen kan toenemen. Door de chromosomale re-arrangementen kunnen delen van de genen uitgewisseld worden, waardoor een nieuw gen met een nieuwe functie kan ontstaan. Het is aannemelijk dat een belangrijk deel van de groei van het genoom van de oerbacterie tot aan de mens verklaard kan worden door het veelvuldig dupliceren van delen van het genoom.

Mijn onderzoek richt zich op de relatie tussen veranderingen in het erfelijk materiaal en ziekte. Vroeger had de geneticus een ongecompliceerd wereldbeeld. Erfelijke ziekten werden geclassificeerd als monogeen en polygeen. Een monogene ziekte wordt veroorzaakt door een verandering in één gen, en een polygene ziekte, ook wel multifactoriële ziekte genoemd, door een scala van genen en mogelijk ook

externe factoren. De monogene ziekten worden overgeërfd volgens de wetten van Mendel. Zij waren onderverdeeld in dominant, recessief of geslachtsgebonden. Bij een dominante ziekte wordt het defect van een van de aangedane ouders doorgegeven aan het nageslacht. Bij een recessieve ziekte openbaart de ziekte zich alleen als het individu van beide ouders een defecte kopie van een gen heeft gekregen. Voor een geslachtsgebonden ziekte hangt het er vanaf of het nageslacht man of vrouw is. Deze beperkte visie op de genetica was jarenlang voldoende om vele wetenschappers zinvol aan het werk te houden. Het onderzoek naar monogene ziekten heeft de genetica gedurende de laatste vijfentwintig jaar gedomineerd. De laatste tien jaar daarvan werd het duidelijk dat de wereld niet zo eenvoudig in elkaar zit. Veel ziekten met een mogelijke erfelijke component hielden zich niet aan de wetten van Mendel. In sommige families nam de ernst van de ziekte in opeenvolgende generaties toe en in andere families waren niet alle patiënten even ernstig aangedaan. Wat eerst als een uitzondering op de wetten van Mendel werd gezien, blijkt nu voor het merendeel van de erfelijke afwijkingen te gelden. Het lijkt erop dat de verschijningsvorm van een eenvoudige monogene ziekte in de meeste gevallen beïnvloed wordt door andere factoren. Een Mendeliaanse, monogene ziekte is nu een ziekte geworden die door meerdere factoren wordt bepaald. Een belangrijk deel van deze factoren is erfelijk. Om aan te geven dat er toch een verschil is met de polygene ziekten, noemt men zo'n monogene ziekte die beïnvloed wordt door andere erfelijke factoren een 'oligogene afwijking'.

Wat is nu de oorzaak van deze variatie in de expressie van een ziektebeeld? Is het altijd een externe factor, zoals het gebruik van een bepaald voedingsbestanddeel, of kan het ook erfelijk zijn? De jonge man met ALS laat zien dat een erfelijke factor een belangrijke determinant kan zijn. In de genetica noemen we de erfelijke factoren die een invloed hebben op een ziekteproces 'modificeergenen'. Als de andere factor extern is, spreken we van gen-omgevinginteracties.

Hoe zijn modificerende factoren ontstaan?

Deze drie mechanismen, mutatie, duplicatie en re-arrangementen, hebben niet alleen gezorgd dat wij ons hebben kunnen ontwikkelen tot wie wij zijn, maar zijn ook verantwoordelijk voor het ontstaan van allerlei erfelijke ziekten. Wat dus goed is voor de evolutie kan ook in ons nadeel werken. Deze foutjes van de evolutie kunnen

ons meer leren over de biologische processen van ons lichaam en zijn een ware schatkamer voor de geneticus.

Evolutie is volgens de theorie van Ohno voor een groot deel mogelijk gemaakt door DNA duplicaties. Steeds werden er stukjes van het genoom verdubbeld. Deze DNA-duplicaties bieden het organisme de mogelijkheid om te experimenteren met zijn genetisch materiaal. Immers, na een duplicatie van een deel van het genoom zijn er extra kopieën van genen aanwezig. Er is dan dus een reserve opgebouwd. Hiermee kan naar hartelust geëxperimenteerd worden. Mutaties in de DNA-volgorde kunnen leiden tot nieuwe genen die coderen voor eiwitten met nieuwe, meer gespecialiseerde, functies. Selectie voor zo'n functie kan leiden tot het ontstaan van een groep binnen deze populatie. Dit proces kan versneld worden door bijvoorbeeld een wijziging in de levensomstandigheden. Een voordelig effect van de nieuwe functie voor het organisme kan tot sterke selectiedruk leiden. Op deze manier ontwikkelt een organisme zich verder. Uit één oergen kunnen op deze manier verschillende nieuwe genen, ieder met een verbeterde functie ontstaan. Voorbeelden hiervan zijn de grote diversiteit aan genen in het afweersysteem, de genen betrokken bij ontgiftiging van schadelijke stoffen en de vele genen die betrokken zijn bij groei en ontwikkeling. Deze nieuwe groepen genen worden genfamilies genoemd, omdat zij allemaal volgens een basispatroon zijn opgebouwd. De nieuwe leden van de genfamilie kunnen samen veel meer dan het ene gen waaruit zij geëvolueerd zijn.

U kunt zich voorstellen, dat in het geval van het mislukte experiment van de evolutie, een gen zijn functie verliest. Het meedragen van deze genen biedt geen voordelen. Zolang er geen nadelig effect voor het organisme is, zal er geen selectie optreden. Hetzelfde geldt voor genen die coderen voor functies die wij niet meer nodig hebben. Dit kan zijn omdat een nieuw geëvolueerd gen een deel van deze functie kan overnemen of als er door verandering van onze levensomstandigheden of voeding geen gebruik meer wordt gemaakt van de functie van het gen. Op deze manier kunnen wij functionele genen waar geen selectie voor is uiteindelijk verliezen. Dit is een langzaam, maar onomkeerbaar proces. Zolang de omgeving hetzelfde blijft, zal het organisme geen hinder ondervinden van het feit dat het sommige functies verloren heeft. Pas als de omgeving weer verandert, kan dit nadelige gevolgen hebben voor het organisme. Het verlies van het vermogen om vitamine C te maken, is een voorbeeld van zo'n mislukt experiment waarin een defect gen is ontstaan. Gedurende de evolutie hebben de mens, de aap, de cavia en de Indiase vliegende hond – ook wel fruit-bat genoemd – genoeg vitamine C binnen gekregen zo-

dat dit niet tot selectiedruk heeft geleid. De ziekte ontstaat pas bij extreme veranderingen van de omgeving, zoals een hele lange zeereis met een sterk verlaagde inname van vitamine C.

Het gen voor de groeifactor voor zenuwcellen, dat bij de jonge ALS-patiënt verloren is gegaan, is een voorbeeld van een gen dat kennelijk bij gezonde mensen overbodig is geworden. Deze groeifactor, genaamd 'ciliary neurotrophic factor' (afgekort tot CNTF) is een interessant voorbeeld van hoe het kan lopen in de wetenschap. CNTF werd in 1984 voor het eerst beschreven als essentiële factor voor de groei van zenuwcellen in het laboratorium.[6] Het leek een hele interessante factor te zijn met mogelijk een grote therapeutische toekomst. Misschien kon deze factor gegeven worden aan mensen met ziekten van het zenuwstelsel en kon verval daarmee worden tegengegaan. De verwachtingen raakten nog hoger gespannen toen CNTF in een diermodel, waarin verval van zenuwcellen optreedt, een belangrijk effect op het ziekteproces had.[7] Na behandeling met CNTF bleven meer zenuwcellen in leven dan bij de niet-behandelde muizen. Maar zoals het vaak in de wetenschap gaat, worden niet alle beloftes waargemaakt. CNTF verloor veel van zijn glorie toen in 1994 bekend werd dat 1 op de 40 individuen geen functioneel CNTF-gen heeft.[8] De frequentie van dit defect bleek bij gezonde mensen net zo hoog te zijn als bij patiënten met neurologische afwijkingen.[9] Er leek dus geen relatie te bestaan tussen CNTF-deficiëntie en neurologische ziektes. Het CNTF-gen is dus nog een voorbeeld van een gen dat zijn essentiële rol heeft verloren. Onder normale omstandigheden hebben wij het niet meer nodig. Mogelijk hebben andere genen delen van de functie van CNTF overgenomen. Aangezien slechts 1 op de 40 mensen het defect in de CNTF-synthese bij zich draagt, betekent dit dat het pas recent in de evolutie is ontstaan. Nu hebben we in het geval van vitamine C-gebrek gezien dat de deficiënte alleen onder bepaalde omstandigheden een ongunstig effect kan hebben. In dit geval is het niet anders. Gewoonlijk kunnen we zonder CNTF, maar in combinatie met ALS lijkt de CNTF- deficiëntie hele ernstige gevolgen te hebben. Toch moeten we niet al te snel conclusies trekken. De identificatie van één patiënt met een ernstiger beloop van ALS in combinatie met een CNTF deficiëntie is natuurlijk geen bewijs voor een direct verband tussen deze twee afwijkingen. Gedegen vervolgonderzoek door de groep van Sendtner heeft laten zien dat niet alleen bij de erfelijke ALS, maar ook bij sporadische ALS een CNTF-deficiëntie correleert met een vroeger ontstaan van de ziekte.[3] Ook in een diermodel voor ALS werd aangetoond dat er een relatie bestaat tussen CNTF-deficiëntie en een op vroege leeftijd ontstaan van ALS. Uit al

dit werk kan dus worden geconcludeerd dat het CNTF-gen een belangrijke *modifier* is voor het verloop van ALS. Afwezigheid van CNTF leidt tot een vervroegd optreden van het ziekteproces.

Beide gevallen zijn voorbeelden van erfelijke defecten die pas zichtbaar worden als een tweede factor aanwezig is. Een belangrijke vraag is natuurlijk: 'Hoe vaak komt zoiets voor?' Heb ik u nu twee hele zeldzame gevallen voorgespiegeld of heeft een groot deel van de populatie een kans om door een ongelukkige combinatie van erfelijke en omgevingsfactoren ziek te worden?

Om hier een weloverwogen antwoord op te geven, moeten we weten hoeveel variatie er in DNA-volgorde tussen de mensen is? Als iedereen bijna dezelfde DNA-volgorde heeft dan zullen *modifiers* zeldzaam zijn. De laatste jaren werd duidelijk dat er veel variatie is in de DNA-volgorde binnen een bepaalde soort. Dankzij de enorme ontwikkeling van de genoomtechnologie kon de DNA-volgorde van grote stukken DNA van verschillende mensen met elkaar vergeleken worden. Deze studies hebben laten zien dat tussen twee individuen ongeveer 1 op de 1000 basen variabel is. Bij een genoom van drie miljard basen zijn dit drie miljoen verschillen tussen de mensen onderling. Niet alle verschillen zullen leiden tot veranderingen in eiwitstructuur, omdat niet elke variant voorkomt in een gen.

Om een beter inzicht te krijgen in de mate van variatie in genen die onder selectiedruk staan, hebben wij 22 evolutionair oude genen waarvan 19 in de 'minimal set required for cellular life' voorkomen, onderzocht. Zelfs deze genen vertoonden variatie in DNA- sequentie.[10] Echter de frequentie die men aantrof in variatie is iets lager dan die men vond in eerdere studies waarbij voornamelijk gekeken werd naar genen die niet essentieel zijn voor de cel. Zelfs in deze belangrijke genen die honderden miljoenen jaren oud zijn, worden varianten door de natuur getolereerd. De natuur is dus heel flexibel. Concluderend kan worden gezegd dat al dit onderzoek heeft laten zien dat er veel variatie mogelijk is in de DNA-volgorde en dus ook in eiwitstructuur. Niet ieder mens is gelijk, of zelfs beter: iedereen is uniek.

De bevinding dat er veel variatie in onze genomen zijn, heeft geleid tot de hypothese dat de variatie in ons DNA een belangrijke factor kan zijn bij het bepalen van het verloop van een ziekteproces. Dit hoeft niet alleen te gelden voor zeldzame erfelijke ziekten, maar ook voor veelvoorkomende ziekten als hoge bloeddruk, dementie en suikerziekte: ook deze kunnen door deze varianten beïnvloed worden. Deze volksziekten zouden wel eens voor een belangrijk deel verklaard kunnen worden door de aanwezigheid van een bepaalde DNA-sequentievariant in ons genoom.

In het Engels wordt deze hypothese 'common disease – common variant' ofwel CD-CV genoemd. De hypothese is dat wij goede en minder goede genen bij ons dragen, en als we de verkeerde combinatie hebben dan ontwikkelen wij een ziekte. Hoe vaker een bepaalde slechte variant voorkomt, hoe groter de kans is dat hij een rol gaat spelen bij een bepaald ziekteproces. Het erfelijk defect waardoor wij geen vitamine C kunnen maken, is het ultieme voorbeeld van een slecht gen met een hoge populatiefrequentie. Ieder mens draagt dit defect bij zich. Ook het geval van de CNTF-deficiëntie laat zien dat het voorgaande niet alleen hypothese is. Hier wordt het ziekteproces sterk negatief beïnvloed door een variant die met een frequentie van 1:40 in de populatie voorkomt.

Niet alleen de mate van variatie die binnen ons genoom getolereerd wordt is van belang, maar ook om te weten hoe stabiel ons genoom is. Met welke frequentie kunnen nieuwe variaties ontstaan? Uit het voorgaande blijkt dat variaties in DNA-sequentie getolereerd worden. Geldt dit ook voor duplicaties, het mechanisme dat volgens Ohno de tweede belangrijke factor is die de evolutie mogelijk maakt? Tot voor kort werd aangenomen dat duplicaties en deleties in ons genoom evolutionair zeer oude veranderingen zijn. Het genoomproject heeft hier nieuw licht op doen schijnen. Momenteel is de schatting dat zeker 5% van ons genoom uit recente duplicaties bestaat.[11] Deze duplicaties zouden geen 450 miljoen maar 'slechts' maximaal 45 miljoen jaar oud zijn. Het feit dat zo'n groot deel van ons genoom bestaat uit sterk op elkaar lijkende segmenten heeft consequenties. Met zo'n grote hoeveelheid duplicaties wordt een genoom instabiel. Segmenten met duplicaties kunnen makkelijk nogmaals verdubbelen of verloren gaan. Eichler en collega's rapporteerden dat het humane genoom minimaal 196 van deze potentieel instabiele segmenten heeft.[11] Van 24 hiervan is al bekend dat zij een rol spelen bij een erfelijke ziekte. Dat sommige gebieden minder stabiel zijn dan anderen is niet nieuw, maar dat het er zoveel zijn, had men niet verwacht. Het lijkt erop dat veel vaker dan gedacht delen van ons genoom zich verdubbelen of verloren gaan. Wij moeten aannemen dat ons genoom nog steeds in beweging is. De verklaring voor het feit dat deze instabiliteit, vooral het verlies van stukken DNA, niet veel eerder is opgemerkt, moet zijn dat veel veranderingen niet meteen tot een ziektebeeld leiden. Misschien kan het verlies van een gen gecompenseerd worden door een ander lid van de genfamilie.

Een voorbeeld van een ziekte die door een instabiel genoom wordt veroorzaakt, is de ziekte van Charcot-Marie-Tooth, een aandoening van de perifere zenuwen.

Deze ziekte, die aan het eind van de negentiende eeuw beschreven werd door de drie neurologen Charcot, Marie en Tooth wordt getypeerd door het toenemend verlies van spierkracht aan de handen, onderarmen, voeten en onderbenen. Het verloop van de ziekte is vaak mild: slechts weinig patiënten zullen in een rolstoel belanden. Deze dominante ziekte, met een frequentie van 1 op de 5000, wordt meestal veroorzaakt door een duplicatie van een stuk van het chromosoom 17.[12] Dit is zo'n geval van een instabiel stuk van het genoom. Dit gebied wordt begrensd door twee bijna identieke stukken DNA wat tot instabiliteit kan leiden.[13] Bij ongeveer de helft van de CMT-patiënten wordt een duplicatie van chromosoom 17p gevonden. Andere patiënten hebben mutaties.

Deze ziekte bestrijkt de hele scala van DNA-veranderingen die ik met u besproken heb. Zowel mutaties, duplicaties, genoominstabiliteit en *modifiers* spelen bij dit ziekteproces een rol. Misschien is het daarom wel mijn favoriete onderwerp.

Toen de moleculaire basis van de ziekte van Charcot-Marie-Tooth bekend was, kon een DNA-test worden ontwikkeld. Hiermee kan op eenvoudige wijze de diagnose Charcot- Marie-Tooth worden gesteld. Mijn laboratorium is het nationaal diagnostiekcentrum voor deze ziekte, en wij krijgen jaarlijks een paar honderd verzoeken voor diagnostiek. Bij de meeste patiënten bestond er een prima correlatie tussen de aanwezigheid van de duplicatie en de ziekte. Ook kwam de overerving overeen met de wetten van Mendel. Natuurlijk waren er ook uitzonderingen. Tijdens dit onderzoek hebben wij verschillende personen geïdentificeerd met de duplicatie van dat stukje chromosoom 17, terwijl deze afwijking bij hun ouders afwezig was.[14] het betrof nieuwe gevallen van een duplicatie, ook wel '*de novo*-duplicaties' genoemd. De duplicatie die wij bij deze patiënten aantroffen, is dus nieuw ontstaan. Dit is een voorbeeld van een zeer recente duplicatie, niet tientallen miljoenen jaren oud, maar slechts één generatie. Het gaat hier dus om een heel instabiel deel van ons genoom, waarin steeds dezelfde afwijking ontstaat. Alleen omdat deze fout van de evolutie tot een ziekte leidt, is hij zichtbaar geworden.

Een andere interessante groep patiënten waren mensen die wél de DNA- verandering hadden maar zich niet ziek voelden. Meestal was in deze gevallen de aanvraag voor diagnostiek ingediend omdat er in de familie iemand was die de ziekte had en de adviesvrager er zeker van wilde zijn dat hij of zij deze ook niet onder de leden had. Bij de ziekte van Charcot-Marie-Tooth komen dus symptoomvrije dragers voor, die ik voor het gemak maar even 'gezonde zieken' noem. Wat was hier aan de hand?

De 'gezonde zieken' bleken bij klinisch onderzoek wel afwijkingen te hebben aan hun zenuwen. Alleen de neurofysioloog kon dit meten. De 'patiënt' voelde zich echter niet ziek. Hier hangt de definitie van ziek zijn weer af van wat de norm is. Moeten wij hier uitgaan van de beleving van het individu of is DNA-diagnostiek zaligmakend? Vooralsnog zou ik deze mensen verklaren tot niet ziek.

Gedegen neurologisch onderzoek van een van de gezonde zieken, een metselaar, liet zien dat er wel degelijk verlies van spierkracht in de onderarmen was opgetreden. Tenminste, als er gekeken werd naar de spierkracht in de onderarmen ten opzichte van de bovenarmen. Dit was een hele sterke man. Dankzij de enorme overcapaciteit die hij had, belemmerde het verlies van spierkracht hem niet in zijn werk. Met één hand kon hij nog steeds makkelijk een baksteen op tillen. In dit geval werd het ziekteproces gecompenseerd door de toename aan spierkracht. Voor wat betreft de rest van dit verhaal moet ik u teleurstellen. Ik heb geen idee wat hier het compensatoire mechanisme veroorzaakt. Of dit een erfelijke factor, een *modifier*-gen is valt nog te bezien en is onderdeel van het huidige onderzoek op mijn laboratorium.

Het lijkt er dus op dat er mechanismen zijn die ervoor zorgen dat sommige mensen veel minder last hebben van een erfelijke afwijking dan anderen. Dit geldt niet alleen voor de ziekte van Charcot-Marie-Tooth. Dankzij de enorm snelle ontwikkeling die het genoomonderzoek de laatste jaren heeft doorgemaakt, is de genetische basis van heel veel monogene ziekten geïdentificeerd. Hierbij stuiten wij vaker op sterke variabiliteit in het beloop van ziekten die door één en dezelfde genetische variant veroorzaakt worden. Het identificeren van de factoren die het ziekteproces beïnvloeden, is een van de grote uitdagingen voor de genetici van deze tijd.

Hoe pakken wij dit nu aan?

Inzicht in ziekteprocessen heeft geleid tot de identificatie van externe factoren die de ziekte beïnvloeden. Voor erfelijke factoren ligt het wat moeilijker. Alleen als er binnen één familie een heel sterk effect is, wat bij verschillende patiënten voorkomt, zal dit als erfelijk herkend worden. Subtiele veranderingen zullen alleen zichtbaar worden na onderzoek van grote groepen patiënten. De eerste vraag die opkomt, is welke genen onderzocht moeten worden. Op grond van inzicht in het

ziekteproces kunnen potentiële *modifier*genen gekozen worden. Het is alleen de vraag of wij al genoeg kennis van de ziekteprocessen hebben om de belangrijkste *modifiers* op voorhand te kunnen voorspellen.

Welke lijnen worden nu voor de ziekte van Charcot-Marie-Tooth gevolgd?

Ten eerste moeten we goed klinisch onderzoek combineren met de genetische informatie. Om dit onderzoek goed te kunnen uitvoeren, moeten wij over goed gedocumenteerde patiëntenpopulaties beschikken. Ik ben daarom heel gelukkig dat ik in een Academisch Ziekenhuis mijn werk kan doen. Zeker binnen de afdeling Neurologie heeft het systematisch analyseren van patiëntengegevens grote opgang gemaakt. Het opbouwen van gestandaardiseerde informatiebanken met klinische gegevens is onontbeerlijk voor verder onderzoek. Een koppeling tussen de klinische data en de moleculair genetische informatie, zoals de aanwezigheid van DNA-varianten, kan leiden tot de identificatie van associaties tussen DNA-sequentievariant en ziektebeloop, de zogenaamde 'genotype-phenotype' correlatie. Omdat het in de meeste gevallen waarschijnlijk gaat om een interactie tussen meerdere factoren, die zowel erfelijk als extern kunnen zijn, is het essentieel dat het werk heel systematisch en minutieus wordt uitgevoerd. De identificatie van patiënten met een afwijkend beloop van het ziekteproces is essentieel. De jonge ALS-patiënt is hier een goed voorbeeld van. Slechts een oplettend onderzoeker die voorbereid is op de deviaties van het normale patroon zal in staat zijn deze zo interessante gevallen te identificeren. De uitspraak van Pasteur 'Dans les champs de l'observation le hasard ne favorise que les esprits préparés' (Het toeval begunstigt alleen de parate geest) vat dit heel mooi samen.

Stel dat na onderzoek zo'n potentiële *modifier* geïdentificeerd is, hoe tonen we dan aan dat dit een echte associatie is en geen toevalsbevinding? Hiervoor is een tweede, goed gecontroleerd onderzoek met grote patiëntenpopulaties noodzakelijk. Pas dan kan een indruk gekregen worden over de waarde van een nieuwe ontdekking. In dit kader moet ook gewaarschuwd worden voor te nauwe banden met de farmaceutische industrie. Een onderzoek naar de importantie van een nieuwe ontdekking moet volledig onafhankelijk kunnen worden uitgevoerd. Het onafhankelijkheid zijn van de financiële consequenties van een mogelijk negatieve uitslag

van het onderzoek en de bereidheid hebben om volgens vaste protocollen klinische studies te verrichten, is een zegen.

Natuurlijk kunnen we een onderzoekslijn niet geheel baseren op die ene afwijkende patiënt. Ook kunnen we er niet van uitgaan dat wij al genoeg kennis over het ziekteproces hebben dat we de potentiële *modifier*genen op voorhand kunnen voorspellen. De identificatie van CNTF als *modifier* moet eerder gezien worden als uitzondering dan als regel. Een systematische benadering is noodzakelijk.

Daarom wordt een tweede lijn van onderzoek gehanteerd, waarbij wij gebruik maken van een goed gedefinieerd diermodel. Dankzij de kennis van het genetisch defect bij de mens is ook een muis met de ziekte van Charcot-Marie-Tooth geïdentificeerd. Deze spontane mutant, Trembler, was al in 1976 door McLloyd beschreven. Later bleek dat deze dezelfde mutatie heeft als sommige patiënten met de ziekte van Charcot-Marie-Tooth.[15] Het was snel duidelijk dat dit ziektebeeld niet altijd volgens de wetten van Mendel overerfde. Als de Trembler-mutatie door middel van kruising in een andere muizenstam wordt ingebracht, dan is de ernst van het ziektebeeld afhankelijk van de muizenstam die gebruikt is. Sommige stammen hebben een nauwelijks zichtbare stoornis bij het lopen terwijl andere stammen sterk geïnvalideerd zijn. Dit verschijnsel werd in die tijd 'semi-dominant' genoemd. Nu kijken wij daar anders tegenaan en zien mogelijkheden voor genetisch onderzoek. Het lijkt erop dat er bij de muis net als bij de mens ook compensatoire mechanismen mogelijk zijn. Omdat het effect afhankelijk is van de muizenstam die gebruikt wordt en omdat er binnen één stam weinig variatie in het ziektebeeld optreedt, moet het hier om een genetisch defect gaan. Door middel van uitgebreide kruisingen en moleculair genetisch onderzoek bij de muizen verwacht ik dat we potentiële genetische *modifiers* zullen identificeren.

Waar leidt deze kennis nu toe?

Deze nieuwe kennis zal niet alleen leiden tot een beter inzicht in ziekteprocessen, maar het kan ook nieuwe mogelijkheden bieden voor de behandeling. Zodra namelijk de patiëntengroep met een *modifier* geïdentificeerd is, kan de aan- of afwezigheid van een *modifier* bij een patiënt als inclusiecriterium worden gebruikt. Op deze manier zal alleen die patiënt behandeld worden die mogelijk gevoelig is voor een factor. Een betere selectie van patiënten maakt het eenvoudiger om effecten aan te to-

nen die slechts binnen een subgroep voorkomen. Stel nu dat in het geval van de CNTF- deficiëntie een behandeling met een geneesmiddel dat de functie van de groeifactor overneemt mogelijk is, dan zou zonder kennis over de aan- of afwezigheid van een functioneel CNTF-gen slechts 1 op de 40 mensen het juiste geneesmiddel krijgen. Slechts 2.5 % van de patiënten zou hier dan positief op reageren. Als de individuen met de CNTF- deficiëntie op voorhand geïdentificeerd zouden kunnen worden dan zouden alleen zij behandeld worden en het potentiële effect bij 100% van de patiënten optreden.

Wat ik u zojuist beschreven heb wordt 'pharmacogenetica' genoemd: het laten meewegen van de genetische varianten die bij een persoon aanwezig zijn bij de keuze van geneesmiddelen. Dit geldt niet alleen voor potentieel goede effecten; op die manier kunnen namelijk ook toxische bijwerkingen worden voorkomen. De vraag is dan welke geneesmiddelen er bij een individu wél en welke niet gebruikt kunnen worden. Er zal persoonlijke geneeskunde ontstaan.

Behalve tot het ontwikkelen van individuele therapieën zal onderzoek naar *modifier*genen ook leiden tot een beter voorlichting aan de patiënten. Het belang van de diagnostiek bij erfelijke ziekten zit hem niet alleen in het kunnen geven van erfelijkheidsadvies. Wat daarbij bijvoorbeeld ook belangrijk is, is het inspelen op problemen die kunnen ontstaan bij minder gelukkige beroepskeuzes, het voorkómen van bijwerkingen van specifieke geneesmiddelen en het instellen van therapieën die de compensatoire mechanismen moeten stimuleren. Dit is een gebied waar ook veel meer aandacht aan moet worden besteed. Na het stellen van een diagnose door middel van het opsporen van een mutatie met behulp van DNA-diagnostiek is men er echter nog niet. Dan begint het werk pas. De verandering in het DNA van de patiënt moet bekeken worden in de context van modificerende factoren, zowel erfelijk als uit de omgeving. Niemand is gebaat bij een diagnose in de trant van: 'U heeft een mutatie, dus u bent ziek.' Een weloverwogen advies over het verloop van de ziekte en de effecten van omgevingsfactoren hierop dient gegeven te worden. Gezien de complexiteit van de interacties is het niet te verwachten dat één behandelaar al deze zaken zal kunnen overzien. Het advies moet daarom gegeven worden vanuit een multidisciplinair team, waarin naast artsen ook genetici, pathologen en paramedici vertegenwoordigd zijn. Het instellen van een erkende opleiding voor DNA-diagnostici is een stap in de goede richting.

Stel dat we in de toekomst een veel beter inzicht hebben in de erfelijke factoren die het ziekteverloop beïnvloeden, wat moeten we daar dan mee? Preventief het

DNA van iedereen onderzoeken, is geen goede optie, zolang het gaat om varianten die geen consequenties hebben voor het individu. Hier geldt niet: 'meten is weten.' Dit soort kennis is alleen nuttig als deze consequenties heeft. Pas als iemand in een situatie komt waarin het hebben van een genetische variant een effect heeft op het ziektebeloop of de gevoeligheid voor een externe factor, is het belangrijk deze informatie te hebben. Als voorbeeld kunnen we ALS nemen. Niemand wordt beter van de kennis dat hij of zij een defect CNTF-gen heeft, maar pas als de effecten van dit defect in combinatie met een andere ziekte bekend zijn, is het nuttige informatie. Dus zelfs in het geval van de CNTF-deficiëntie, waar de frequentie van de mutatie 1 op 40 is, hoeft een landelijke *screening* niet noodzakelijk te zijn. Pas als er een therapie voorhanden is, verandert de zaak. Dan geldt: 'voorkomen is beter dan genezen.'

Dit laat ook zien dat wij in het geval van de diagnostiek voor de aanwezigheid van *modifier*genen niet bang hoeven te zijn voor de informatie die verkregen wordt uit ons DNA-profiel. De angst dat het tegen ons gebruikt wordt, is ongegrond. Deze informatie geeft niet meer inzicht in de toekomstverwachting dan de meeste tot op heden volledig geaccepteerde testen. Een cholesterolbepaling en bloeddrukmeting zijn door het publiek geaccepteerd en zijn veel betere voorspellers voor de levensverwachting van een patiënt dan de informatie die we momenteel met behulp van DNA-diagnostiek kunnen krijgen. De analogie met *modifier*genen is duidelijk. Diagnostiek, of het nu gaat om een DNA-variant of de cholesterolwaarde, is nuttig als dankzij deze informatie een ziekteproces voorkomen kan worden. Het kennen van de zwakten van een individu is veel beter dan onwetend te zijn.

Alles wat ik u heb verteld, is niet zo nieuw als u misschien denkt. Interacties van verschillende factoren, met een effect op het ziekteproces, zijn al heel oud. Dit waren vroeger ziekten met een onbegrepen erfelijke component en in het geval dat er een reactie optrad op een externe factor heette het een bijwerking van een geneesmiddel. Als het verband met een andere ziekte of externe factor heel duidelijk was dan werd deze interactie onder de contra-indicaties geplaatst. Het belangrijke verschil met het verleden is dat we steeds meer gaan begrijpen. Binnen de geneeskunde die steeds meer moleculaire basis krijgt, vindt op dit moment een ware revolutie plaats. Voor de interacties die ooit bij toeval gevonden werden, begint men nu verklaringen te vinden. In de toekomst moet het mogelijk zijn om het beloop van een ziekte beter te kunnen voorspellen.

Zoals Pasteur in 1854 al zei: 'C'est le grain et le terrain.' De interactie van gen en omgeving is enorm belangrijk. Het is interactie tussen de factoren die het eindresultaat bepaalt.

Dankwoord

Geachte aanwezigen. Nu ik aan het eind van mijn rede ben gekomen, wil ik graag ook enige woorden van dank uitspreken. Het College van Bestuur van de Universiteit van Amsterdam en de Raad van Bestuur van het AMC dank ik voor het in mij gestelde vertrouwen.

Hooggeleerde Gunning-Scheper, beste Louise, en Hooggeleerde Urbanus, beste Niek, ik dank jullie voor het creëren van de leerstoel Neurogenetica. Jullie hebben oog gehad voor het belang van de genetica binnen de neurologie. De stimulans die het genoom onderzoek momenteel krijgt binnen het AMC zal zeker bijdragen tot het verbeteren van de mogelijkheden voor diagnostiek. Ook wil ik de Divisie Besturen Neurozintuigen en Laboratoria bedanken voor de mogelijkheden die ze mij hebben geboden om het Neurogenetica Lab uit te bouwen tot wat het nu is. Hooggeleerde Bosch, beste Andries, Hooggeleerde Sturk, beste Guus, ik hoop nog lang met jullie te kunnen samenwerken. Onze samenwerking is natuurlijk onmogelijk zonder de inzet van de beide directeuren Grift en De Haan. Vanuit de Neurologie wil ik al mijn collega's en in het bijzonder de hooggeleerden Vermeulen en De Visser bedanken. Beste Rien en Marianne, zonder jullie hadden we nooit zo'n goede onderzoekslijn kunnen opzetten. Hooggeleerde de Jong, beste Vianney, jij was een continue bron van nieuwe ideeën en ik bewonder je inzet waarmee je de patiëntenzorg combineert met het klinisch onderzoek. Het feit dat ik jou mag opvolgen, laat zien dat je duidelijk hebt gemaakt dat genetisch onderzoek essentieel is voor de neurologie. Ook ben ik veel dank verschuldigd aan hen die het mogelijk gemaakt hebben dat ik gegrepen werd door de moleculaire genetica. Hooggeleerde Borst, beste Piet, jij was mijn promotor en hebt heel lang als mijn mentor gefungeerd. Ik ben je hiervoor veel dank verschuldigd. Hooggeleerde van Ommen, beste Gert-Jan, je hebt mij de kneepjes van het moleculair biologisch onderzoek bijgebracht. Onze samenwerking begon op het Binnen-Gasthuis toen wij samen op het laboratorium van professor de Vijlder werkten. Natuurlijk zou al het onderzoek waarover ik u verteld heb niet mogelijk zijn geweest zonder de enorme inzet en goede samenwer-

king met de medewerkers en ex-medewerkers van het Neurogenetica laboratorium.

De samenwerking met hooggeleerde Housman van het Massachusetts Institute of Technology is een belangrijke stimulans geweest. Dear David, you are still a continuing source of inspiration. My stay in your lab provided the basis of my carrier in Neurogenetics.

Ten slotte zij die zo dicht bij mij staan. Rie, jij vertegenwoordigt nu mijn beide ouders en ik bedank jou voor de steun die ik altijd van jullie heb genoten. En natuurlijk Hennie, enorm bedankt voor de steun en het begrip dat jij altijd hebt voor mijn werk.

Ik heb gezegd.

Referenties

1. Lind J. A treatise of the scurvy. Edinburg 1753.
2. Kark R.A.P. Clinical and neurochemical aspects of inorganic mercury intoxication in: *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 64: p. 383. Ed. Wolff F.A. Series Ed. P.J. Vinken & W. Bruyn, Elsevier Science B.V., Amsterdam, 1994.
3. Giess R., Holtmann B., Braga M., Grimm T., Muller-Myhsok B., Toyka K.V. & Sendtner M. Early onset of severe familial amyotrophic lateral sclerosis with a SOD-1 mutation: potential impact of CNTF as a candidate modifier gene. *Am. J. Hum. Genet.* 70: 1277-1286, 2002.
4. Mushegian A.R. & Koonin E.V. A minimal gene set for cellular life derived by comparison of complete bacterial genomes. *Proc. Natl Acad. Sci U.S.A.* 93(19): 10004-10005, 1996.
5. Ohno S. Evolution by gene duplication, New York, Springer Verlag, 1970.
6. Barbin G., Manthorpe M. & Varon S. Purification of the chick eye ciliary neuronotrophic factor. *J. Neurochem.* 43: 1468-1478, 1984.
7. Sendtner M., Schmalbruch H., Stockli K.A., Carroll P., Kreutzberg G.W. & Thoenen H. Ciliary neurotrophic factor prevents degeneration of motor neurons in mouse mutant progressive motor neuronopathy. *Nature* 358: 502-504, 1992.
8. Takahashi R., Yokoji H., Misawa H., Hayashi M., Hu J. & Deguchi T. A null mutation in the human CNTF gene is not causally related to neurological diseases. *Nature Genet.* 7: 79-84, 1994.
9. Gelernter J., Van Dyck C., van Kammen D.P., Malison R., Price L.H., Cubells J.F., Berman R., Charney D.S. & Heninger G. Ciliary neurotrophic factor null allele frequencies in schizophrenia, affective disorders, and Alzheimer's disease. *Am. J. Med. Genet.* 74: 497-500, 1997.
10. ten Asbroek A.L.M.A., Olsen J., Housman D., Baas F. & Stanton Jr. V. Genetic variation in mRNA coding sequences of highly conserved genes. *Physiological Genomics,* 5: 113-118, 2001.
11. Bailey J.A., Bu Z., Clark R.A., Reinert K., Samonte R.V., Scheartz S., Adams M.D., Myers E.W. Li P.W. & Eichler E.E. Recent segmental duplications in the human Genome. *Science* 297:1003-1007, 2002.
12. Valentijn L.J., Bolhuis P.A., Zorn I., Hoogendijk J.E., van den Bosch N., Hensels G.W., Stanton V.P. Jr., Housman D.E., Fischbeck K.H., Ross D.A., Nicholson G.A., Meershoek E.J., Dauwerse H.G., van Ommen G.-J.B. & Baas F. The peripheral myelin gene PMP-22/GAS-3 is duplicated in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Nature Genet.* 1: 166-170, 1992.

13. Inoue K., Dewar K., Katsanis N., Reiter L.T., Lander E.S., Devon K.L., Wyman D.W. Lupski J.R. & Birren B. The 1.4-mb CMT1A duplication /HNPP deletion genomic region reveals unique genome architectural features and provides insight into the recent evolution of new genes. *Genome Res.* 11:1018-1033, 2001
14. Hoogendijk J.E., Hensels G.W., Gabreëls-Festen A.A.W.M., Gabreëls F.J.M., Jansen E.A.M., de Jonghe P., Martin J.J., Van Broeckhoven C., Valentijn L.J., Baas F., de Visser M. & Bolhuis P.A. *De novo* mutation in hereditary motor and sensory neuropathy type1. *The Lancet*, 339: 1081-1082, 1992.
15. Valentijn L.J., Bolhuis P.A., Zorn I, Hoogendijk J.E., van den Bosch N., Hensels G.W., Stanton V.P., Housman D.E., Fischbeck K.H., Ross D.A., Nicholson G.A., Meershoek E.J., Dauwerse H.G., van Ommen G-J.B. and Baas F. The peripheral myelin gene PMP-22/Gas-3 is duplicated in Charcot-Marie-Tooth disease type 1a. *Nature Genetics*, 1992, 1: 166-170.