

# Moleculaire krijgt steeds meer

Tot voor kort waren *hightech* moleculair-diagnostische methoden slechts voorbehouden aan laboratoria in academische ziekenhuizen en grote onderzoekscentra. Maar inmiddels beschikken ook steeds meer 'kleine' ziekenhuizen in ons land over de benodigde apparatuur, waardoor zij zélf complexere diagnostiek in eigen huis kunnen uitvoeren. Samenwerking tussen verschillende afdelingen brengt dat binnen handbereik, zo bewijst het Diakonessenhuis in Utrecht.

**L**aten we dit verhaal beginnen met een kort lesje uit de marketingwereld. Daar is het gesneden koek: een nieuw product wordt eerst aangeschaft door 'innovators', vervolgens door 'vroege volgers', daarna door een 'vroege' en 'late' meerderheid en tot slot door 'achterblijvers'. Theorie natuurlijk, maar in de praktijk blijkt het vaak te kloppen. Een voorbeeld uit de échte wereld? Diagnostiek met PCR, de polymerase kettingreactie waarmee je in korte tijd van één stukje DNA ontelbare kopieën kunt genereren. Toen PCR in de tweede helft van de jaren tachtig zijn opwachting maakte, was de techniek aanvankelijk alléén haalbaar voor de *happy few* – met name Amerikaanse researchlabs die als innovators fungeerden. Dankzij de enorme potentie van PCR volgden al snel de vroege volgers, waaronder de klinische labs en de onderzoeksafdelingen van academische ziekenhuizen in Nederland. Anno 2004 zijn zij echter lang niet meer de enigen, want de afgelopen jaren hebben tal van perifere (niet-

academische) ziekenhuizen PCR-apparatuur aangeschaft. Wat rest is een kleine groep met 'achterblijvers' die de techniek nog niet in huis hebben.

## Krachten bundelen

Volgens biologe Rianne Luderer, hoofd van de unit Moleculaire Diagnostiek in het Utrechtse Diakonessenhuis, is er sprake van een duidelijke trend: "Hoogwaardige diagnostische technieken komen steeds meer binnen handbereik van de periferie. Vroeger moesten wij hier voor bepaalde tests – zoals kwantitatieve bepalingen van virussen – nog een beroep doen op onze academische collega's, maar tegenwoordig kunnen we dat zelf. Een belangrijke doorbraak is de komst van *real-time* PCR geweest. Daarbij vindt de vermenigvuldiging en de detectie van DNA tegelijkertijd plaats, waardoor PCR-diagnostiek sneller is geworden en er minder kans bestaat op verontreiniging van monsters. Bovendien maakt *real-time* PCR het mogelijk om betrouwbare kwantitatieve bepalingen te doen."

Omdat de aanschaf van dergelijke apparatuur een flinke investering vergt, besloot men in Utrecht de krachten te bundelen. "Onze unit Moleculaire Diagnostiek is een samenwerkingsverband tussen de afdelingen Klinische Chemie, Pathologie en Microbiologie," vertelt Luderer. "Het idee daarachter is eigenlijk vrij simpel: de kosten van nieuwe apparatuur kunnen we nu uitsmeren over het budget van drie afdelingen in plaats van één. Bovendien worden de apparaten op deze manier intensiever – en dus efficiënter – gebruikt." Of dat in de praktijk problemen oplevert? "Nee hoor: de gezamenlijke apparatuur staat bij elkaar in ruimtes van onze unit Moleculaire Diagnostiek. Daar wordt de diagnostiek uitgevoerd door tien analisten die door de verschillende



DOE Human Genome Program (www.ornl.gov/hgmis)

**Met behulp van de DNA-chip technologie kan in één keer de activiteit van enkele duizenden genen worden geanalyseerd. Hiermee kunnen afwijkende genen worden opgespoord of kan een erfelijke aanleg voor ziekten worden aangetoond.**

afdelingen worden 'uitgeleend'. Daarnaast werkt er een *fulltime* moleculair-biologisch analist, die een belangrijke rol speelt bij het opzetten en valideren van nieuwe bepalingen. Dankzij deze opzet draait de unit uitstekend en zijn we goed ingebed in het ziekenhuis."

## Breed basispakket

Luderer beseft dat haar unit Moleculaire Diagnostiek qua omvang en mogelijkheden nooit zal kunnen tippen aan het scala diagnostische *tools* in de academische ziekenhuizen. "Maar daar streef ik ook niet naar. Mijn doel is om hier in eigen huis een zo breed mogelijk basispakket met moleculair-diagnostische tests aan te kunnen bieden."

Voor aandoeningen die veel voorkomen is dat niet zo'n probleem,

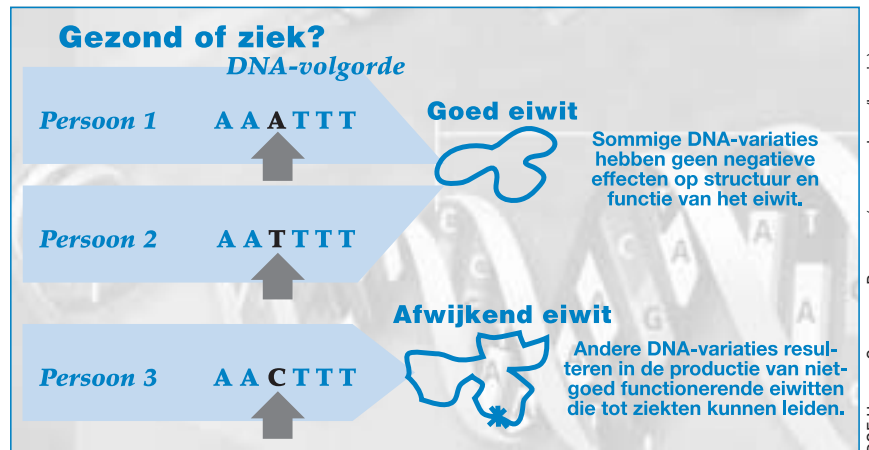


# diagnostiek voet aan de grond

aldus Luderer: "Die zijn commercieel interessant voor de industrie. Daardoor zijn er kant-en-klare *assays* of *kits* te koop voor de diagnostiek van bijvoorbeeld HIV, hepatitis B en C, factor V Leiden en seksueel overdraagbare aandoeningen (soa's) als chlamydia en gonorrhoe. Lastiger wordt het met aandoeningen die je minder vaak ziet. Daarvoor ontwikkelen wij zogeheten '*homebrew assays*', vaak op basis van protocollen die in academische centra zijn opgezet. Die protocollen vertalen wij naar onze eigen apparatuur, zodat we de diagnostiek zelf kunnen uitvoeren. Je moet daarbij denken aan de screening op bepaalde virussen – zoals het Epstein Barr-virus dat de ziekte van Pfeiffer veroorzaakt, of het Varicella zoster virus dat verantwoordelijk is voor waterpokken en gordelroos. Daarnaast ontwikkelen we ook eigen *real-time* PCR-bepalingen, bijvoorbeeld voor de screening op mutaties in genen die coderen voor stollingsfactoren als Factor V en Factor II."

## DNA-chips

Behalve over PCR beschikt het Diaconessenhuis ook over andere moderne moleculair-diagnostische technieken. Eén daarvan is FISH ofwel fluorescentie in situ hybridisatie, een gevoelige technologie waarmee afwijkingen in DNA opgespoord kunnen worden. Hiertoe worden bepaalde DNA-fragmenten gelabeld met een fluorescerende stof en vervolgens in contact gebracht met het DNA van een patiënt. Onder een fluorescentiemicroscopie lichten vervolgens de corresponderende DNA-regio's in het patiëntenmateriaal op, waar-



door afwijkingen te achterhalen zijn. "Deze techniek wordt elders onder meer toegepast voor prenatale diagnostiek," aldus Luderer. "Wij gebruiken FISH voor de afdeling Pathologie om afwijkingen in het DNA van tumorcellen op te sporen."

Inmiddels kijkt Luderer al met een schuin oog naar een andere techniek: zogeheten micro-arrays, waarbij gebruik wordt gemaakt van DNA-chips. Verschillende academische ziekenhuizen (waaronder het Rotterdamse Erasmus Medisch Centrum en het Amsterdamse AMC) beschikken al over deze recente technologie, waarmee in één keer de activiteit van enkele duizenden genen kan worden geanalyseerd. Op zo'n DNA-chip zitten bekende stukjes enkelstrengs-DNA van bepaalde genen. Bij een patiënt wordt vervolgens enkelstrengs *messenger-RNA* geïsoleerd uit bloed, wangslimvlies of tumorweefsel; nadat dit is vermenigvuldigd via PCR wordt er een fluorescerende kleurstof aan gehangen en wordt het op de DNA-chip aangebracht. Als er op die chip complementair DNA zit vindt koppeling plaats en licht de chip op die plaats op. Op deze manier valt te achterhalen of bij de patiënt een gen 'aan' of 'uit' staat – een actief gen produceert immers *messenger-RNA*.

"Op dit moment is dat voor ons helaas nog wat te hoog gegrepen," verzucht Luderer. "DNA-chips zijn domweg nog veel te duur. Zelfs de 'afgeslankte' minichips zijn voor ons momenteel nog geen haalbare kaart. Het zal wel even duren, maar ik ben ervan overtuigd dat we in de toekomst ook zélf over deze technieken zullen beschikken en dat we ze kunnen gebruiken voor de typering van tumoren of virussen."

## Wensenlijst

Het moleculair-diagnostische basispakket in het Diaconessenhuis breidt zich nog steeds uit, waarbij Luderer en haar collega's van de afdelingen Klinische Chemie, Pathologie en Microbiologie met name luisteren naar de wensen uit de kliniek. "Die wensenlijst is lang, dus we ontkomen er natuurlijk niet aan om tests uit te besteden aan andere laboratoria – al gebeurt dat nu veel minder vaak dan vroeger. Door nieuwe technische ontwikkelingen op moleculair gebied zullen de mogelijkheden blijven toenemen en zal ook onze wensenlijst blijven groeien. De moleculaire diagnostiek blijft voorlopig dus in beweging, waarbij academische en perifere ziekenhuizen ieder een eigen rol spelen." ●

Arthur van Zuylen

**DNA-diagnostiek is sneller geworden dankzij *real-time* PCR**