

DNA-schade, komeettest & micronucleus

Laatste update: 14/11/2019

Waarom willen we DNA-schade vaststellen?

DNA is een molecule die alle erfelijke informatie bevat. DNA zit in de celkern van iedere cel gerangschikt op 46 chromosomen. Fouten (mutaties) in het DNA kunnen verschillende gevolgen hebben, waaronder overerfbare aandoeningen, vroegtijdige veroudering of kanker.

Het is belangrijk te weten welke milieu-invloeden het DNA van onze cellen kunnen aantasten, welke bevolkingsgroepen gevoeliger zijn voor DNA-schade of meer DNA-schade vertonen. Bij biomonitoring in de mens kijken we naar schade ter hoogte van het DNA in witte bloedcellen. Bloed kan immers op een vrij eenvoudige manier bekomen worden. Bovendien circuleert bloed overal in het lichaam, en komt het daardoor ook in contact met schadelijke stoffen. Het aantonen van DNA-schade in witte bloedcellen is daarom heel geschikt als 'biomarker' om blootstelling aan zogenaamde DNA-beschadigende (genotoxische) stoffen aan te tonen.

In de humane biomonitoringscampagnes van het Steunpunt Milieu & Gezondheid worden de komeettest en de micronucleus test uitgevoerd op witte bloedcellen. Naast de biomarkers voor DNA-schade in bloed, wordt ook 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) in urine gemeten. Deze stof is een maat voor DNA-herstel, en meet dus onrechtstreeks ook de DNA-schade. Meer informatie over de biomarker 8-OHdG vind je in de factsheet 'oxidatieve stress'.

Waarom de komeettest?

De komeettest is een vrij eenvoudige, weinig tijdrovende en tegelijk gevoelige methode om schade aan het DNA aan te tonen. De komeettest geeft een beeld van DNA-schade die niet noodzakelijk blijvend is. DNA-schade bestaat voornamelijk uit tijdelijke, herstelbare fouten. De meeste, bijna alle, schade wordt correct hersteld. De komeettest geeft dus een maat voor herstelbare DNA-schade.

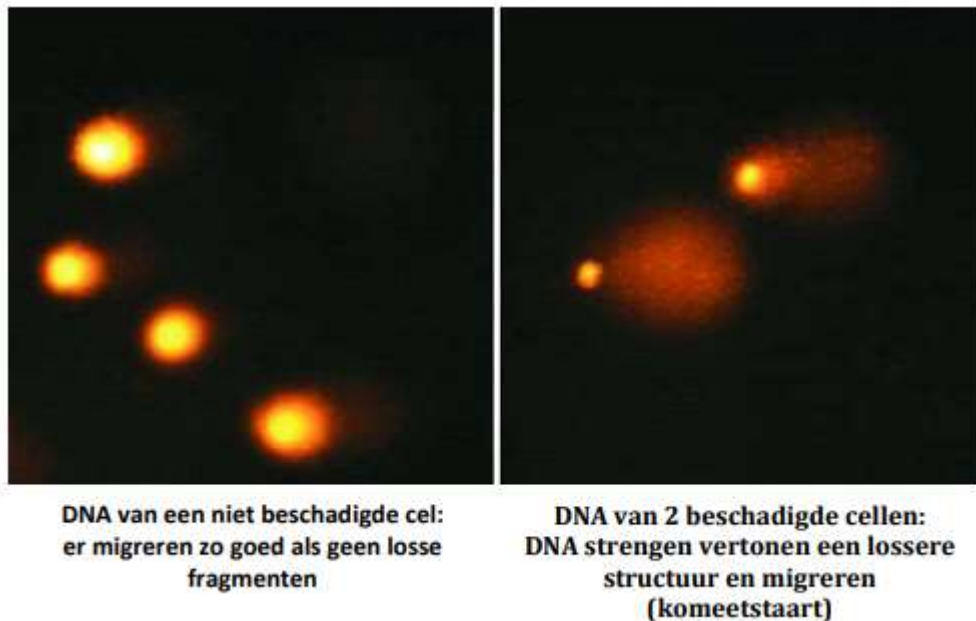
Omdat DNA-schade door verschillende factoren zoals voeding, infecties, gebruik van medicatie, temperatuur of het beoefenen van sport beïnvloed kan worden, kan er veel variatie zijn tussen verschillende personen (intervariabiliteit) en binnen één persoon (intravariabiliteit). M.a.w. niet enkel blootstelling aan genotoxische stoffen, maar ook andere omgevings- en leefstijlfactoren kunnen 'stress' geven ter hoogte van het DNA.

Hoe werkt de komeettest?

In de komeettest wordt het DNA, in dit geval uit witte bloedcellen, geïsoleerd en in een gel op een glaasje aangebracht. Vervolgens wordt de gel onder een elektrische spanning gebracht. Als DNA in een cel beschadigd is zijn er meer fragmenten of losse uiteinden

DNA-schade, komeettest & micronucleus

aanwezig, er is meer DNA-migratie als gevolg van de elektrische spanning. Na kleuring van het DNA kan men onder de microscoop, in het geval van DNA-schade in de cel, de lossere DNA-structuur als een 'DNA-komeetstaart' zien. De lengte en inhoud van de komeetstaart kunnen via automatische beeldanalysesystemen nauwkeurig worden gemeten. Het resultaat van de komeettest geeft aan hoeveel % van het DNA zich in de komeetstaart bevindt. Bij intact DNA vindt men zo goed als geen DNA-fragmenten of losse uiteinden en zal er weinig of geen komeetstaart zichtbaar zijn. Dit wordt in de onderstaande figuur geïllustreerd. Links zien we DNA van een niet-beschadigde cel; rechts DNA van twee cellen die DNA-schade hebben opgelopen. Hier is een aanzienlijke 'komeetstaart' zichtbaar. Na het beoordelen van de DNA-schade van 300 cellen van een persoon, wordt het mediaan percentage DNA-migratie berekend voor deze persoon. Gemiddeld meer cellen met toegenomen DNA-migratie kan wijzen op een verhoogde blootstelling aan stoffen die het DNA van onze cellen kunnen aantasten.



Waarom de micronucleus test?

Deze test wordt vaak gebruikt in moleculair epidemiologische studies om de aanwezigheid en de mate van schade aan de chromosomen (genotoxiciteit) in witte bloedcellen te bestuderen.

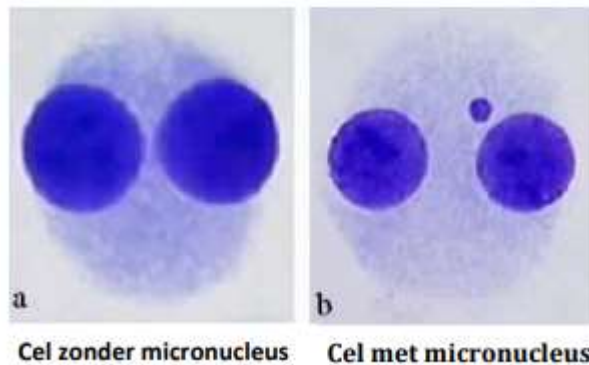
Micronucleï zijn, zoals de naam aangeeft, kleine 'extra' kernen die ontstaan ten gevolge van chromosoombreuken of verlies van gehele chromosomen die niet opgenomen worden in de dochtercellen tijdens de celdeling. Micronuclei komen voort uit chromosoomfragmenten, of soms volledige chromosomen, die bij een celdeling niet in de celkern van de dochtercel worden opgenomen en zijn dus een maat voor de chromosoombreuken en chromosoomverlies. De micronucleustest kan informatie geven over de cumulatieve DNA-schade. Omdat de frequentie van micronuclei bij

DNA-schade, komeettest & micronucleus

gezonde personen relatief stabiel blijft over een langere periode is de test betrouwbaar voor de DNA-schade die over een langere termijn werd opgelopen. Bij de interpretatie van de resultaten moet er rekening mee gehouden worden dat de achtergrondwaarden beïnvloed worden door de leeftijd, het geslacht en dieet; er is dus vaak veel variatie tussen verschillende personen (inter-individuele variatie). De micronucleustest heeft, in tegenstelling tot de komeettest, een voorspellende waarde voor aandoeningen zoals kanker.

Hoe werkt de micronucleus test?

In het cytoplasma van delende cellen (het celgedeelte buiten de celkern) worden DNA-fragmenten opgespoord die gegroepeerd zitten in een kleine afzonderlijke kern, een 'micronucleus'. De afbeelding rechts geeft een cel met micronucleus weer. Als er meerdere extra kleine kernen in de cel aanwezig zijn, wordt gesproken van micronuclei. Het opsporen van micronuclei gebeurt via microscopisch onderzoek. Het resultaat van de meting geeft het # micronuclei per 1000 cellen en is een maat voor opgestapelde DNA-schade over een langere periode



DNA-schade, komeettest & micronucleus

Referenties

- Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: state of the art. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210:201-28.
- Bonassi S, Znaor A, Ceppi M et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* 2007; 28:625-31
- Fenech M. Important variables that influence base-line micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes-a biomarker for DNA damage in human populations. *Mutat Res* 1998;404:155-65.
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*. 1988;175:184-91.
- Singh NP. Microgels for estimation of DNA strand breaks, DNA protein crosslinks and apoptosis. *Mutat Res* 2000; 455:111-27.