

BJT
8 73
- 1 -

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR PRAEVENTIEVE GENEESKUNDE

CURSUS GEZONDHEIDSZORG EN PREVENTIEVE GENEESKUNDE
(BASISOPLEIDING)

Genetica en
Stralengenetica

Prof.Dr. F.H. Sobels

04100/62

BIBLIOTHEEK - NEDERLANDS INSTITUUT
VOOR PRAEVENTIEVE GENEESKUNDE
WASSENAARSEWEG 55 - LEIDEN

Inhoud

I. Algemeen gedeelte

1. Inleiding
2. Wetmatigheden van de overerving
 - a) Monohybride kruising
 - b) Terugkruising
3. Segregatie van genen en chromosomen, de meiose
4. De onafhankelijkheidsregel van Mendel
5. Polymere factoren
6. Genotypische geslachtsbepaling
7. Geslachtsgekoppelde overerving
Non-disjunctie en chromosomale afwijkingen bij de mens
8. Koppeling en recombinatie door crossing-over
9. Speekselklierchromosomen
10. Structurele wijzigingen van de chromosomen
11. Multiële allelen
12. Letale genen
Letale mutaties bij de mens
13. Enige begrippen uit de genphysiologie
 - a) Penetrantie
 - b) Expressiviteit
 - c) Pleiotropie
 - d) Polygenie
 - e) Positie-effect
14. Biochemische werking van genen
15. Genetisch onderzoek bij de mens
16. Populatiegenetica

II. Mutatiegenetica

1. Mutatie
2. Het genetisch materiaal
3. Oorzaken van de spontaan optredende mutaties
4. Eigenschappen, die door mutatie gewijzigd kunnen worden
5. De manifestatie van mutaties
6. Het nadelig effect van mutaties
7. Mutaties in de populatie
8. Bepaling van de mutatiefrequentie
 - a) De directe methode bij de mens
 - b) De indirecte methode bij de mens
 1. Dominante mutaties
 2. Geslachtsgekoppelde recessieve mutaties
 3. Recessieve mutaties
 - c) Experimenteel toegankelijke organismen
9. De spontane per-locus mutatiefrequentie
10. De totale mutatiefrequentie per gameet
11. Berekening van de mutatiefrequentie gebaseerd op de totale mutatiebelasting

III. Stralengenetica

1. Het mutatiespectrum en enige algemene principes van de inductie van mutaties door ioniserende straling
2. Stralingsdosis en mutatiefrequentie
3. De treffertheorie
4. Indirecte effecten
5. Door bestraling veroorzaakte chromosoombreuken
6. De gevolgen van twee chromosoombreuken
7. Het verband tussen de stralingsdosis en de frequentie van chromosoomafwijkingen
8. Door bestraling geïnduceerde mutatiefrequenties
9. Gevoeligheid voor de mutagene werking van straling in verschillende types van cellen
10. Door bestraling geïnduceerde mutatiefrequenties bij de mens
 - a) Atombomoverlevenden
 - b) Amerikaanse radiologen
 - c) Verandering van de geslachtsverhouding
11. De verdubbelingsdosis
12. Natuurlijke stralingsdoses
13. De genetisch significante dosis
14. De genetische gevolgen van ioniserende straling voor de volksgezondheid
15. Een quantitative benadering van de totale mutatieschade

IV. Literatuur

I. ALGEMEEN GEDEELTE

1. Inleiding

Uit experimenteel onderzoek bij een verscheidenheid van dieren en planten is gebleken, dat blootstelling van de voortplantingscellen aan ioniserende straling overerfbare veranderingen, die wij mutaties noemen, teweegbrengt. Deze mutaties hebben overwegend nadelige effecten voor de nakomelingen, die de gemuteerde genen erven.

Ook bij de mens wordt verwacht, dat ioniserende straling mutaties zal verwekken, waarvan de effecten echter voornamelijk pas in latere generaties tot uiting zullen komen. De genetische beschadiging door ioniserende straling verschilt derhalve in zoverre van de andere, somatische effecten, die deze straling teweegbrengt, dat ons tegenwoordig stralingsbeleid verstrekkende gevolgen kan hebben voor de genetische constitutie en volksgezondheid van toekomstige generaties.

Voor een beoordeling van de genetische effecten van straling is een meer algemene genetische inleiding gewenst.

In alle hogere organismen is het genetische materiaal georganiseerd in draadvormige lichaampjes, de chromosomen. Deze komen voor in de kern van iedere cel en zij worden zichtbaar wanneer de cel zich gaat delen. In de chromosomen zijn de erfelijke eenheden, die wij genen noemen, in lineaire orde samengevoegd. Ieder kenmerk van een organisme wordt bepaald door één of meerdere genen. Chromosomen bestaan uit desoxyribose-nucleïnezuur (DNA) en proteïnen. Specifieke kleurstofbinding van het DNA maakt de chromosomen kleurbaar tijdens de celdeling. Het aantal chromosomen, die binnen een celkern voorkomen, is kenmerkend voor iedere soort. Zo bevatten lichaamscellen van de mens 46 chromosomen, die van de muis 40, van hoenders + 80 en van het pananenvliegje *Drosophila* 8.

In de lichaamscellen komen de chromosomen paarsgewijze voor, d.w.z. één partner is afkomstig van de vader en één van de moeder. De bij elkaar behorende chromosomen van een paar noemt men homologe chromosomen. Bij de delingen, die voorafgaan aan de vorming van de geslachtscellen of gameten wordt het aantal chromosomen gehalveerd, zodat de gameten maar de helft van het aantal chromosomen bevatten, dat in somatische cellen aanwezig is. Het aantal chromosomen in de bevruchte eicel, of zygote wordt het diploïde aantal ($2n$) genoemd. Gameten bevatten het haploïde (n) aantal chromosomen.

Kenmerkend voor chromosomen is hun vermogen tot autoreproductie. Bij iedere kerndeling of mitose wordt van alle genen een exacte copie aan de dochtercellen meegegeven.

Kort samengevat, verloopt de mitose in de volgende fasen:

Prophase

De chromosomen worden zichtbaar; dehydratie, condensatie en groei spelen hierbij een rol. Ieder chromosoom is reeds in twee chromatiden gesplitst, welke op één punt, het centromeer, bij elkaar worden gehouden.

Prometaphase

De kernmembraan verdwijnt en een klievingsspoel wordt gevormd.

Metaphase

De chromosomen zijn nu dikker en duidelijk verkort door sterkere spiralisatie; zij zijn gerangschikt in het equatoriale vlak van de spoel. Spoeldraden verbinden de centromeren met de polen.

Anaphase

De centromeren zijn gesplitst en de chromosomen worden aan de centromeren naar de polen getrokken.

Telophase

De twee stellen chromosomen wijken verder terug naar de polen. Een nieuwe kern- en celmembraan worden gevormd.

Interphase

Hydratatie van de chromosomen; het vermogen tot kleurbaarheid gaat verloren.

Erfelijkheid in algemene zin berust in feite op de continuïteit tussen de verschillende generaties. Deze continuïteit ligt besloten in de celkernen van de gameten, want door middel hiervan wordt het gehele overerfbare materiaal, verpakt in een gecomprimeerd volumen, de chromosomen, op de volgende generatie overgedragen. Uit de zygote ontwikkelt zich dan in samenhang met het milieu het nieuwe organisme.

Het geheel van genen noemt men het genotype. De waarneembare manifestatie hiervan noemt men het phenotype. Onder invloed van het milieu kan hetzelfde genotype tot verschillende phenotypes leiden. Deze niet-erfelijke veranderingen noemt men modificaties.

Een gen bepaalt dus niet een standaard-phenotype, maar een reactienorm, om onder gelijke omstandigheden een overeenstemmend phenotype te vormen.

heersende werking noemen we dominant; het andere onderdrukte gen recessief. Dominante genen worden dikwijls met een hoofdletter aangegeven. Recessieve genen met een kleine letter.

Zijn de beide allele genen aan elkaar gelijk, dan noemt men het individu in kwestie homozygoot voor deze genen (CC en cc). Zijn de beide allele genen verschillend, als in de bastaard Cc, dan spreken we van heterozygotie.

b) Terugkruising

De methode om na te gaan of een individu heterozygoot is voor een bepaalde factor, bestaat uit een terugkruising met individuen homozygoot voor de recessieve factor. Dus Cc x cc. Omdat de bastaard Cc twee soorten gameten vormt, nl. C en c, zullen dan nl. twee klassen van nakomelingen worden gevormd, d.w.z. Cc en cc. De fenotypisch op Cc individuen gelijkende CC homozygoten zullen echter maar één soort gameten vormen en dus een uniforme nakomelingschap geven.

3. Segregatie van genen en chromosomen, de meiose

De opvallende overeenstemming tussen het gedrag van de genen bij de overerving en dat van de chromosomen bij de vorming van de geslachtscellen en de bevruchting leidde tot de conclusie, dat genen in de chromosomen moeten liggen en dat de allele genen in een heterozygoot individu van elkaar worden gescheiden, omdat de chromosomen zich van elkaar scheiden voorafgaande aan de vorming van de gameten. Deze halvering van het aantal chromosomen vindt plaats in de reductiedelingen of meiose. Hierdoor blijft dus het aantal chromosomen constant. Kort samengevat is het volgende kenmerkend voor de meiotische delingen.

In afwijking van de mitose is de profase zeer lang; hierin worden de volgende stadia onderscheiden:

Leptoteen

Lange draadvormige chromosomen, die niet in chromatiden gesplitst zijn, als bij de mitotische profase.

Zygoten

De homologe chromosomen paren, door aantrekking van allele genen. Een dergelijk geconjugeerd paar homologe chromosomen noemt men een bivalent. Het aantal bivalenten is dus de helft van het diploïde aantal chromosomen.

Pachyteen

De chromosomen verdikken zich en splitsen zich in de loop van dit stadium in chromatiden.

Diploteen

De homologe chromosoomparen beginnen elkaar af te stoten, maar worden op bepaalde punten, de chiasmata, bij elkaar gehouden. Deze chiasmata zijn kruisvormige figuren. Zij zijn de zichtbare manifestatie, dat een uitwisseling tussen vaderlijke en moederlijke chromosoomgedeelten heeft plaatsgevonden, het genetisch crossing-over verschijnsel.

Diakinese

De chromosomen verdikken zich.

In de hierop volgende metaphase scheiden zich de centromeren van de oorspronkelijke vaderlijke en moederlijke partners van een bivalent. Hier treedt, in tegenstelling tot een gewone mitotische metaphase, geen deling van de centromeren op.

De eigenlijke reductie vindt dus plaats door een halvering van het aantal centromeren. Na een korte rustperiode vindt een tweede deling plaats, waarbij zich de centromeren splitsen en nu dus vier cellen met het haploïde aantal chromosomen gevormd worden.

4. De onafhankelijkheidsregel van Mendel

Hierbij wordt een kruising van Mendel beschreven, waarbij de ouderplanten in twee kenmerken van elkaar verschillen. De ene P_1 plant heeft ronde, gele erwten, de andere groene, gerimpelde erwten.

De gehele F_1 generatie is geel en rond, zodat deze factoren dominant zijn over die, welke een groene kleur en gerimpelde zaadhuide bepalen. Bij onderlinge kruising van de F_1 planten werd in de F_2 een 3:1 verhouding gevonden, voor groen versus geel en voor rond versus gerimpeld. De essentiële vraag is nu of beide kenmerken onafhankelijk van elkaar gesplitst worden of op enigerlei wijze gekoppeld worden overgeërfd. Mendel stelde in de F_2 generatie een verhouding vast van 9 geel rond, 3 geel gerimpeld, 3 groen rond, 1 groen gerimpeld, welke op volledige onderlinge onafhankelijkheid van de twee factorenparen wijst. In een schema kan dit als volgt worden uitgedrukt:

P_1	YY	RR	x	yy	rr
Phaenotypisch	geel	rond		groen	gerimpeld
Gameten	YR			yr	
F_1		Yy Rr			
Phaenotypisch		geel rond			

F_2 Wat betreft Y versus y:

	$\frac{1}{4}$ YY	$\frac{2}{4}$ Yy	$\frac{1}{4}$ yy
Phaenotypisch		$\frac{3}{4}$ geel	$\frac{1}{4}$ groen

F_2 Wat betreft R versus r:

	$\frac{1}{4}$ RR	$\frac{2}{4}$ Rr	$\frac{1}{4}$ rr
Phaenotypisch		$\frac{3}{4}$ rond	$\frac{1}{4}$ gerimpeld

Daar in de F_1 bastaard YyRr, Y en y onafhankelijk gesplitst worden van R en r, zullen individuen, die een kans $\frac{3}{4}$ op geel hebben, onafhankelijk hiervan weer een kans van $\frac{3}{4}$ hebben om rond en van $\frac{1}{4}$ om gerimpeld te worden.

Hetzelfde geldt mutatis mutandis voor groen en rond en groen en gerimpeld. Phaenotypisch zullen de F_2 combinaties dus worden:

$\frac{3}{4}$ geel	x	$\frac{3}{4}$ rond	=	$\frac{9}{16}$ geel rond
$\frac{3}{4}$ geel	x	$\frac{1}{4}$ gerimpeld	=	$\frac{3}{16}$ geel gerimpeld
$\frac{1}{4}$ groen	x	$\frac{3}{4}$ rond	=	$\frac{3}{16}$ groen rond
$\frac{1}{4}$ groen	x	$\frac{1}{4}$ gerimpeld	=	$\frac{1}{16}$ groen gerimpeld

Op soortgelijke wijze kunnen de 9 genotypische combinaties uitgerekend worden.

Het zal hierbij duidelijk zijn, dat ieder F_1 individu vier types gameten kan vormen:

$$\frac{R}{r} \ ; \ \frac{Y}{y} \ , \text{ nl.} : \begin{array}{ccc} RY & \text{en} & Ry \\ & & \text{of} \\ rY & \text{en} & ry \end{array}$$

Bij terugkruising van de dihybride $RrYy$ plant met het dubbel recessieve genotype $rryy$ zal deze verhouding duidelijk worden en $RrYy$, $Rryy$, $rrYy$, $rryy$ planten in een 1:1:1:1 verhouding gevonden worden.

Het gedrag van de chromosomen bij het uiteenwijken in de meiose vormt de cytologische basis voor Mendels genetische onafhankelijkheidsregel, want ook hierbij is immers de kans gelijk, dat R met Y en r met y samen gaat aan de kans, dat R met y en r met Y samen gaat.

5. Polymere factoren

Bij sommige types van overerving is een groot aantal verschillende genen betrokken, die alle meer of minder hetzelfde effect hebben en elkaars werking kunnen versterken. Wij spreken dan van quantitatieve overerving. Lichaamslengte, huidskleur en intelligentie bij de mens zijn hier voorbeelden van. Een meer eenvoudig voorbeeld is de splitsing in de huidskleur, die onder de nakomelingen van huwelijken tussen mulatten optreedt.

Als we ter vereenvoudiging aannemen, dat een neger 4 P genen bezit, die verantwoordelijk zijn voor de donkere huidskleur bij dit ras en dat blanken 4 p genen hebben, die de huid blank maken, kan de overerving van de huidskleur als volgt worden weergegeven:

$$\begin{array}{ccc}
 P_1 & P_1 P_1 P_2 P_2 & x \\
 \text{neger} & & P_1 P_1 P_2 P_2 \\
 & & \text{blanke} \\
 \\
 F_1 & P_1 P_1 P_2 P_2 & \\
 & \text{mulat} &
 \end{array}$$

vrijwel geen dominantie, huidskleur intermediair tussen neger en blanke.

Huwelijk tussen twee F_1 mulatten $P_1 p_1 P_2 p_2$
segregatie van P_1 versus p_1 geeft:

$$\begin{array}{ccc}
 P_1 P_1 & P_1 p_1 & p_1 p_1 \\
 \frac{1}{4} & \frac{2}{4} & \frac{1}{4} \\
 \text{en van } P_2 \text{ versus } p_2 \\
 P_2 P_2 & P_2 p_2 & p_2 p_2 \\
 \frac{1}{4} & \frac{2}{4} & \frac{1}{4}
 \end{array}$$

F_2	1/16	P_1P_1	P_2P_2	1 met 4 P genen, als neger grootmoeder
	2/16	P_1P_1	P_2P_2	4 met 3 P genen, donkerder dan mulatten
	2/16	P_1P_1	P_2P_2	
	1/16	P_1P_1	P_2P_2	6 met 2 P genen, als de mulatten-ouders
	4/16	P_1P_1	P_2P_2	
	1/16	p_1p_1	P_2P_2	
	2/16	P_1p_1	P_2P_2	4 met 1 P gen, lichter dan mulatten
	2/16	p_1p_1	P_2P_2	
	1/16	p_1p_1	p_2p_2	1 met 4 p genen, als blanke grootvader

Al deze P genen hebben dus een soortgelijk en een additief effect.

Bij deze gevallen van polymere factoren kunnen de genen nog individueel vervolgd worden. Wanneer het aantal genen veel groter wordt, zoals bijvoorbeeld bij menselijke intelligentie, kan de overerving alleen met statistische methodes benaderd worden.

6. Genotypische geslachtsbepaling

De 1:1 geslachtsverhouding berust bij verscheidene groepen van organismen op een verschil in één chromosomenpaar tussen de twee geslachten. Bij *Drosophila* bijvoorbeeld is het manlijk geslacht XY en het vrouwelijk geslacht XX. De chromosomen, waarin de mannetjes en de vrouwtjes van elkaar verschillen worden de geslachtschromosomen genoemd. De chromosomen, die in beide geslachten in gelijke mate vertegenwoordigd zijn, noemt men autosomen. Bij *Drosophila* komen 3 paar autosomen voor (weergegeven als 3A). Vrouwelijke dieren vormen dus slechts één soort gameten $X + 3A$; daarom wordt het vrouwelijk geslacht homogametisch genoemd. Manlijke individuen vormen twee soorten spermatozoïden, nl. $X + 3A$ en $Y + 3A$; het heterogametische geslacht.

Dit XX - XY mechanisme is er dus verantwoordelijk voor, dat in iedere generatie evenveel ♂♂ als ♀♀ gevormd worden, zoals blijkt uit het volgende schema.

♀ \ ♂	X	Y
X	XX	XY
X	XX	XY

Bij *Drosophila* speelt het Y-chromosoom geen rol bij de geslachtsbepaling. Deze berust op de verhouding van het aantal X-chromosomen tot het aantal autosomen.

(verhouding 1 in ♀♀ en $\frac{1}{2}$ in ♂♂).

Evenals bij *Drosophila* is het manlijk geslacht heterogametisch bij zoogdieren, de mens en hogere planten, terwijl bij vogels en vlinders het vrouwelijk geslacht heterogametisch is.

In de loop van 1959 werd vastgesteld, dat bij muizen en de mens het Y-chromosoom het geslacht in manlijke richting bepaalt.

Bij de mens XX = normale vrouw; XY = normale man; XO = een vrouwelijke intersex, syndroom van Turner; XXY = een manlijke intersex, Klinefelter; overzichtsartikel H. Nachtsheim, Naturwissenschaften, Bd. 46, Heft 23, S. 637-645; 1959.

7. Geslachtsgekoppelde overerving

Genen, die in het X-chromosoom gelegen zijn, volgen een z.g. geslachtsgekoppelde overerving. Hierbij treden de volgende wetmatigheden op:

1. Zonen ontvangen het X-chromosoom van de moeder.
2. Dochters ontvangen één X-chromosoom van de moeder en één van de vader.
3. Recessieve genen in het X-chromosoom kunnen zich in het manlijk geslacht uiten, omdat in het Y-chromosoom geen dominant normaal, (+ gen) aanwezig is, om de manifestatie van het gemuteerde recessieve gen in het X-chromosoom te onderdrukken.
4. Recessieve, geslachtsgekoppelde genen worden dus van vaders op dochters overgedragen. In deze heterozygote dochters (conductrix) manifesteren deze genen zich niet, maar de dochters geven het betreffende gen door aan de helft van hun zonen.

Het opvallende parallelisme tussen het gedrag van geslachtsgekoppelde genen in kruisingen en het al of niet aanwezig zijn van een X-chromosoom in de cytologische preparaten, leverde verdere steun aan de theorie, dat genen in chromosomen gelegen zijn.

Rood-groen kleurenblindheid en haemophilie zijn voorbeelden van geslachtsgekoppelde erfelijkheid bij de mens. De overerving wordt nog eens in het volgende schema toegelicht:

gen symbolen k = gen voor kleurenblindheid

+ = dominante, normale allel

P_1 $\begin{smallmatrix} + \\ \equiv \\ + \end{smallmatrix}$ x $\begin{smallmatrix} k \\ \equiv \end{smallmatrix}$
 normale ♀ kleurenblinde ♂

F₁. $\frac{k}{+}$ x $\frac{+}{+}$
conductrix

(phaenotypisch normaal)

F_2	$\frac{k}{+} =$	$\frac{+}{+} =$	$\frac{k}{+} \neq$	$\frac{+}{+} \neq$
conductrix	norm.	kleurenblind	norm.	
♀♀		♂♂		

Non-disjunctie en chromosomale afwijkingen bij de mens

Tijdens de meiose kunnen als uitzondering de twee homologe chromosomen van een paar niet uiteenwijken. Dit verschijnsel, dat in 1916 door Bridges voor het eerst bij *Drosophila* beschreven werd, noemt men non-disjunctie. Ten gevolge van non-disjunctie ontvangt de betreffende geslachtsceel één chromosoom te veel of te weinig.

Het volgende voorbeeld moge dit illustreren:

w = white, een gen in het X-chromosoom van *Drosophila*, verantwoordelijk voor een witte oogkleur; + = het normale allel voor rode oogkleur; + is dominant over w.

Uit de kruising van een wit-ogig vrouwtje met een rood-ogig mannetje zal men normaliter rood-ogige dochters en wit-ogige zonen verwachten.

$\frac{w}{w} \text{ ♀} \quad \times \quad \frac{+}{+} \text{ ♂}$

$\frac{w}{+} \text{ ♀♀} \quad \frac{w}{+} \text{ ♂♂}$

rood wit phaenotypisch

Als uitzondering, ten gevolge van non-disjunctie kan een wit-ogige dochter en een rood-ogige zoon bij de nakomelingschap van een dergelijke kruising optreden.

	$\frac{w}{w} \text{ ♀}$	x	$\frac{+}{+} \text{ ♂}$	
gameten	$\frac{w}{+} \text{ ♀}$		$\frac{+}{+} \text{ ♂}$	
	$\frac{w}{+} \text{ ♂}$	$\frac{+}{+} \text{ (X)}$	$\frac{+}{+} \text{ (Y)}$	
normaal	$\frac{w}{+}$	$\frac{w}{+}$	$\frac{w}{+}$	
	$\frac{w}{+}$	$\frac{w}{+}$	$\frac{w}{+}$	
non dis-junctie	$\frac{w}{w}$	$\frac{w}{w} +$	$\frac{w}{w}$	
	gameet zonder X	$\frac{+}{+}$ rood-ogig XO ♂	$\frac{+}{+}$ nullo X	

Door een perfectionnering van de cytologische techniek kunnen sedert kort bij de mens ook afwijkingen van het normale diploïde chromosoomgetal van 46 worden waargenomen.

Non-disjunctie van de geslachtschromosomen geeft aanleiding tot XXY en XO individuen. XXY is een Klinefelter, overwegend manlijke intersex.

XO is een Turner, overwegend vrouwelijke intersex. Mede hieruit en ook uit een recent onderzoek bij muizen blijkt, dat bij zoogdieren en de mens het Y-chromosoom genen bevat, die sterk in manlijke richting bepalen.

Bij mongoloïde idiotie blijkt één klein chromosoom driemaal aanwezig te zijn.

Literatuur o.a. bij Nachtsheim, H., Deutsche Medizinische Wochenschrift, 34, 1845 (1959), (Naturwissenschaften, Bd. 46, Heft 23, S. 637-645, (1959)).

8. Koppeling en recombinatie door crossing-over

Onafhankelijke splitsing en hergroepering volgens de 2e wet van Mendel (paragraaf 4) vinden hun oorzaak in het feit, dat de van de vader en de moeder afkomstige chromosomen van een bastaard bij de reductiedeling volgens het toeval over de gameten worden verdeeld. R/r; Y/y individuen bleken 4 soorten gameten te vormen: RY, Ry, rY en ry.

Wanneer meerdere factoren in hetzelfde chromosoom liggen, worden deze gezamenlijk "en bloc" van de ene op de volgende generatie overgeërfd. Een verschijnsel, dat door Morgan koppeling (linkage) genoemd werd.

Ook tussen gekoppelde genen kan echter hercombinatie plaatsvinden. Als voorbeeld moge dienen een kruising bij Drosophila met de genen black (gensymbool b, zwartbruine lichaamskleur) en vestigial (symbool vg, korte vleugels); het symbool + wordt voor de dominante wild-type allelen gebruikt.

$$P_1 \quad \frac{b}{+} \frac{vg}{+} \quad x \quad \frac{+}{+} \frac{+}{+}$$

$$F_1 \quad \frac{b}{+} \frac{vg}{+}$$

$$P_2 \text{ terugkruising van } \frac{b}{+} \frac{vg}{+} \text{ met } \frac{b}{b} \frac{vg}{vg}$$

$$F_2 \quad \frac{b}{b} \frac{vg}{vg} \quad \frac{+}{b} \frac{+}{vg} \quad \frac{b}{b} \frac{+}{vg} \quad \frac{+}{b} \frac{vg}{vg}$$

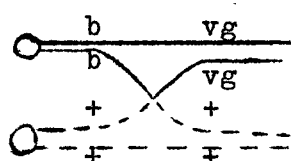
Phaenotypisch:

black	wild-type	black	vestigial
41 %	41 %	9 %	9 %
non-cross-overs		cross-overs	

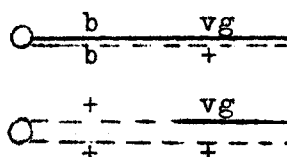
Deze hercombinatie van gekoppelde genen vindt plaats door uitwisseling van gedeelten tussen de homologe chromosomen. Dit proces werd door Morgan crossing-over genoemd.

De uitwisseling heeft plaats in de prophase van de eerste meiotische deling bij de overgang van het pachyteen naar het diploteen stadium (vgl. paragraaf 3).

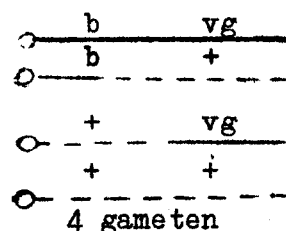
Men heeft kunnen aantonen, dat crossing-over in het vierstreng stadium plaatsvindt. Dus als volgt:



Prophase
Meiose I, chiasma



Telophase
Meiose I



4 gameten

De kruisvormige figuren, chiasmata, die in het diploteen stadium van de meiotische prophase in het cytologische beeld worden waargenomen, zijn een gevolg van de uitwisseling van chromosoomgedeelten.

Recombinatie tussen gekoppelde genen door crossing-over schept dus een schier onuitputtelijke bron van genetische combinatie-mogelijkheden.

De frequentie, waarmee crossing-over optreedt, hangt af van de onderlinge afstand tussen de gekoppelde genen. Van dit principe hebben Morgan, Sturtevant, Bridges en Muller gebruik gemaakt om de genen op het chromosoom te localiseren en genetische kaarten op te stellen. Ieder gen heeft zijn eigen plaats op het chromosoom, de z.g. genlocus.

De volgorde van de genen op de genetische kaarten bleek volledig overeen te stemmen met de volgorde van de genen op de cytologische kaarten. Om de genetische en cytologische kaart te kunnen correleren, heeft men vooral gebruik gemaakt van de fijn gestructureerde reuzenchromosomen uit de larvale speekselklieren. Als merktekens, die zowel genetisch (in kruisingen) als cytologisch (in het microscopisch beeld) vervolgd kunnen worden, maakte men gebruik van structurele wijzigingen van de chromosomen. Deze synthese van genetische en cytologische waarnemingen is een triomf geweest van het biologisch denken in de eerste decennia van de 20e eeuw.

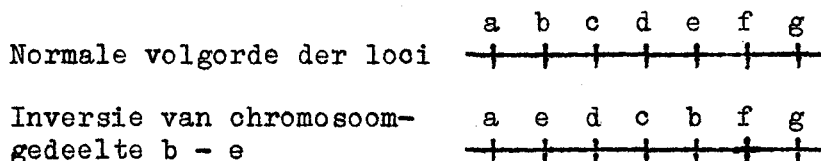
9. Speekselklierchromosomen

De lengte van een speekselklierchromosoom is 150 maal die van een gewoon metaphase chromosoom. De chromosomen zijn veel langer door volledige despiralisatie en veel dikker door een groot aantal delingen, welke niet door een celdeling werden gevolgd. Een typisch patroon van donkere en lichte banden en kleine verdikkingen maakt herkenning van specifieke chromosoomgedeelten mogelijk. De homologe chromosomen zijn gepaard, z.g. somatische paring. Bij andere organismen wordt deze paring alleen bij de vorming der bivalenten tijdens de meiose waargenomen. De centromeren en aangrenzende gedeelten zijn bij de speekselklierchromosomen met elkaar versmolten, zodat een spinvormige figuur ontstaat.

10. Structurele wijzigingen van de chromosomen

In principe onderscheiden wij vier types van veranderingen, waarbij het aantal of de volgorde van de gen loci gewijzigd wordt.

1. Deficiency of deletion: verlies van één of meerdere genen.
2. Duplicatie: een bepaald chromosoomgedeelte is meer dan eenmaal in het genoom aanwezig.
3. Translocatie: reciproke uitwisseling van chromosoomgedeelten tussen niet-homologe chromosomen.
4. Inversie: een bepaald chromosoomgedeelte is omgedraaid.



Deze chromosomale afwijkingen ontstaan spontaan slechts met lage frequentie. De afwijkingen zijn een gevolg van chromosoombreuken en kunnen daarom na röntgenbestraling met veel hogere frequentie worden waargenomen.

In de speekselklierchromosomen manifesteren deze afwijkingen zich door abnormale paring van de homologe chromosomen; lusvormige en kruisvormige configuraties worden gevonden.

Genetisch zijn de afwijkingen ook herkenbaar. Correlatie tussen genetische en cytologische waarnemingen is zo dus mogelijk.

11. Multipele allelen

Tot nu toe hebben wij uitsluitend twee alternatieve vormen of allelen van een gen beschouwd, bijvoorbeeld A en a of b en +^b. Een gen kan echter tot verschillende allelen muteren. Als wij meer dan twee allelen van een gen kennen, spreken wij van multipele allelen. Bij de muis zijn er op de A (agoutie = normale haarkleur) locus verscheidene allelen bekend: A^y yellow (gele muis), A^l light belly (agoutie haarkleur met lichte buik), A agoutie (normaal met grijze buik), a^t black and tan (zwarte rug, bruine buik), a black (geheel zwart, niet agoutie). De dominantie-verhoudingen in deze serie multipele allelen zijn als volgt: A^y > A^l > A > a^t > a.

De ABO bloedgroepen bij de mens zijn een ander bekend voorbeeld van multipele allelen.

Bloedgroep	Genotype	Antigeen
A	I ^A I ^A of I ^A i	A
B	I ^B I ^B of I ^B i	B
AB	I ^A I ^B	A en B
O	ii	---

A en I^B zijn dus beide dominant over i. Maar in individuen met de constitutie AB manifesteert zowel het allel I^A zich als het allel I^B, d.w.z. zowel de antigenen A als B worden gevormd.

12. Letale genen

Onder letale factoren verstaan we Mendelende eenheden, hetzij genmutaties, hetzij chromosomale afwijkingen, die de dood van het individu voor het bereiken van de geslachtsrijpe leeftijd bewerkstelligen.

Een klassieke afwijking van de 3:1 splitsingsverhouding werd gevonden bij onderlinge paring van gele muizen. Bij de nakomelingen werden dan systematisch gele en grijze muizen of gele en zwarte muizen in een 2:1 verhouding gevonden. De verklaring hiervoor was, dat het gen verantwoordelijk voor de gele haarkleur in homozygote toestand onlevensvatbaar is.

A^Y a	x	A^Y a
gele muis		gele muis
$A^Y A^Y$	A^Y a	a a
$\frac{1}{4}$	geel $\frac{2}{4}$	zwart $\frac{1}{4}$
	2	1

De werking van het A^Y gen op de haarkleur is dominant, die op de levensvatbaarheid recessief. $A^Y A^Y$ individuen bleken in een zeer vroeg embryonaal stadium te gronde te gaan.

Letale mutaties bij de mens

Sikkelcelanaemie: erythrocyten sikkelvormig in O_2 - arm milieu.

Homozygoten sterven als regel aan zware anaemie; heterozygoten licht anaemisch of normaal. Zeer hoge frequenties in Afrikaanse negerpopulaties. Oorzaak is grotere resistentie van heterozygoten tegen falciparum malaria. Een voorbeeld van een mutatie, die onder neutrale omstandigheden uitgesproken nadelig is, maar onder specifieke milieucondities, met name malariabesmetting, grotere aanpassingswaarde kan bezitten.

Ook uit biochemisch oogpunt interessant: in een electrophorese-apparaat gedraagt haemoglobine van een normaal individu zich als een negatief ion, dat van een sikkelcelpatiënt als een positief ion. Heterozygoten bevatten een positieve en een negatieve component. Het verschil tussen de twee eiwitten bleek terug te voeren te zijn op ladingsverschillen in één peptide.

Genen, die slechts een gedeelte van de gendragers te gronde richten, noemt men semiletale genen (+ tussen 50- en 100 %), of subvitale genen (+ 50 %).

Epiloia en retinoblastoom zijn voorbeelden van een dominante, semiletale mutatie bij de mens. Amaurotische idiotie is een voorbeeld van een recessieve, semiletale mutatie bij de mens.

13. Enige begrippen uit de genphysiologie

a. Penetrantie

Onder penetrantie van een gen verstaan we de manifestatiefrequentie, uitgedrukt in percenten. Sommige genen komen niet bij alle gendragers tot uiting, we spreken dan van onvolledige penetrantie.

b. Expressiviteit

Onder expressiviteit verstaan we de manifestatiegraad. Deze kan sterk wisselen. Individuen met dezelfde genetische constitutie kunnen variëren van een extreme manifestatie tot een vrijwel normaal phaenotype.

Bij genen met onvolledige penetrantie en wisselende expressiviteit is de manifestatie als regel in hoge mate beïnvloedbaar door milieufactoren. Bij dit milieu kunnen we ons in de eerste plaats factoren van het uitwendig milieu voorstellen, bijvoorbeeld temperatuur en vochtigheidsgraad in een *Drosophila* cultuur, of ~~intra~~-uterine invloeden tijdens de ontwikkeling van een zoogdier embryo.

Maar ook bedenke men, dat een gen niet geheel op zichzelf de manifestatie van een bepaald kenmerk beïnvloedt, maar dat een groot aantal andere genen hierbij als regel eveneens een rol vervult. Dit geheel van andere genetische factoren wordt als het genotypisch milieu (genotypic background) omschreven. Soms kunnen we specifieke genen aanwijzen, die de manifestatie van een ander gen beïnvloeden. Dan spreken we van genetische modificatoren.

Bij genen met onvolledige penetrantie en variabele expressiviteit zijn de reactieketens, die van gen tot phaen (de manifestatie) leiden, dus betrekkelijk labiel (d.w.z. beïnvloedbaar door tal van uitwendige en genotypische milieufactoren).

c. Pleiotropie

Bij nauwkeurige vergelijking van individuen, die bijvoorbeeld homozygoot zijn voor een bepaalde recessieve mutatie, met homozygoot normale individuen zal veelal aan het licht komen, dat de klassen van individuen in meerdere kenmerken van elkaar verschillen. Eén gen veroorzaakt als regel meerdere phaenen, een geheel syndroom van kenmerken. Dit verschijnsel noemt men pleiotropie. De mutatie vestigial bij *Drosophila* valt het meeste op door de sterk gereduceerde, stompvormige vleugels. Bij nadere analyse vindt men tevens de volgende morphologische en physiologische phaenen: rudimentaire vliegkolfjes, omhooggerichte haren, ontwikkelingsvertraging, kortere levensduur, verminderde levensvatbaarheid en geringere fertiliteit. Een ont-

wikkelingsfysiologische analyse maakt het soms mogelijk de verschillende phaenen tot een gemeenschappelijke oorzaak terug te voeren. Bijvoorbeeld: primaire beschadiging van de eosinophile cellen van de hypophyse bij de z.g. hypophyse-dwergmuis leidt tot een geheel syndroom van uitvalsverschijnselen.

Vrijwel alle gemuteerde genen hebben pleiotrope effecten op meer algemene fysiologische eigenschappen, als levensvatbaarheid, levensduur, fertiliteit en ontwikkelingssnelheid.

d. Polygenie

Onder polygenie verstaat men dat vele genen betrokken zijn bij de realisatie van een bepaald kenmerk. Een voorbeeld hiervan is de normale haarkleur bij knaagdieren (cc wit; aa zwart; bb kaneelkleurig; dd blauw, verdund haarpigment). De C, A, B en D loci zijn dus nodig om de normale agoutiekleur tot stand te brengen.

In paragraaf 5 zijn reeds polymere factoren met een zelfde en een additief effect besproken. Quantitatieve kenmerken als lichaamslengte, levensduur, fertiliteit en intelligentie, staan onder de controle van een groot aantal genen.

e. Positie-effect

De plaats van de genen in het chromosoom ten opzichte van de andere daarin aanwezige genen is bepalend voor hun werking.

14. Biochemische werking van genen

Korte reactieketen bij bepaling van specifieke antigenen door I^A en I^B in AB individuen. Bij sikkelcelanaemie wordt als gevolg van mutatie een afwijkend peptide gevormd.

De werking van genen op stofwisselingsprocessen werd in feite voor het eerst bij de mens aan lijders van alkaptonurie vastgesteld (Garrod, 1902). Andere systemen, welke grondig werden bestudeerd, zijn oogpigmenten bij *Drosophila* en bloemkleuren bij geraniums, riddersporen, petunia's e.d. Onderzoekingen van Beadle en Tatum, beginnend in 1940, toonden aan, dat specifieke phases in biosynthetische reactieketens door genen worden beheerst. Bij deze studies maakt men gebruik van auxotrophe mutanten, waarbij als gevolg van de mutatie bepaalde aminozuren of vitamines niet meer door de schimmel gesynthetiseerd kunnen worden. Naar aanleiding van dit onderzoek stelde Beadle de z.g. one gene-one function hypothese op.

15. Genetisch onderzoek bij de mens

Bij de mens is men op andere methoden van onderzoek aangewezen, dan bij experimenteel toegankelijk materiaal, waar gerichte kruisingen mogelijk zijn. Stamboomonderzoek, het belang van ééneiige tweelingen, huwelijken tussen bloedverwanten en meer statistisch, populatiegenetisch onderzoek werden kort besproken.

16. Populatiegenetica

Een populatie kan vanuit een genetisch gezichtspunt gedefinieerd worden als een gemeenschap van individuen, waarbinnen voortplanting mogelijk is en dus uitwisseling van genetisch materiaal plaatsheeft. In de ruimste zin is dit de biologische soort. Daarbinnen kan men subpopulaties onderscheiden, als bijvoorbeeld de rassen bij de mens, die wederom in kleinere groeperingen uiteenvallen, zoals bepaald wordt door taalkundige, religieuze en economische begrenzingsen.

De grondwet van de populatiegenetica berust op het principe van Hardy en Weinberg, dat de frequentie van ieder allel en genotype van generatie op generatie constant blijft. Deze wetmatigheid geldt alleen voor grote populaties, waar geen gerichte paring optreedt voor het kenmerk in kwestie (z.g. panmixie), geen selectie is voor het betreffende allel en mutatie verwaarloosd kan worden.

Als voorbeeld werd genoemd het vermogen om de stof phenylthioureum (PTC) als bitter te proeven.

Individueen TT of Tt proeven PTC als bitter; voor tt individuen is PTC smakeloos. Stel, dat in de uitgangspopulatie evenveel T als t allelen voorkomen, dan zal na één generatie de populatie er als volgt uitzien:

♀ \ ♂	0.5 T	0.5 t
0.5 T	0.25 TT	0.25 Tt
0.5 t	0.25 tT	0.25 tt

$$\begin{aligned} \text{Frequentie van allel T} &= 0.25 \text{ (van TT)} \\ &+ 0.25 \text{ (van Tt)} = 0.5 \end{aligned}$$

en frequentie t = 0.5.

In algemene zin: stel frequentie van allel T = p en van allel t = q, $p + q = 1$, dus $p = 1 - q$.

		spermatozoïden	
		(1-q) T	q t
eicellen	(1-q) T	(1-q) ² TT	q(1-q) Tt
	qt	q(1-q) Tt	q ² tt

De verdeling van de genotypen in de volgende generatie en in alle daaropvolgende generaties (mits aan bovengenoemde voorwaarden wordt voldaan) is dan

$(1-q)^2$ TT	$2q(1-q)$ Tt	q^2 tt
--------------	--------------	----------

Als de frequentie van een bepaald genotype bekend is, kan men dus met deze formule de frequentie van de andere genotypes berekenen.

Albinisme ten gevolge van een recessief gen komt voor in 1 per 20.000 individuen, weergegeven als aa.

$$q^2 aa = 1/20.000 \qquad qa = \sqrt{1/20.000} = 1/141$$

De frequentie van de heterozygote carriers voor dit gen is dan =

$$2. 1/141 \times 140/141 = \underline{+ 1/70}.$$

Hiermee verkrijgen wij dus een interessant inzicht in de genetische structuur van de populatie.

Alkaptonurie, eveneens een gevolg van een recessief gen, komt weinig voor, bij 1 per 10^6 mensen.

De frequentie van de carriers $2q(1-q) = 1/500$ blijkt echter toch verrassend hoog te zijn.

II. MUTATIEGENETICA

1. Mutatie

Het vermogen tot autoreproductie is een kenmerkende eigenschap van chromosomen en de daarin gelegen genen. Genen zijn stabiele structuren, die in een zeer groot aantal cel- en individuengeneraties in dezelfde vorm worden gecopieerd.

Zeldzaam, in de orde van eens in de honderdduizend generaties, komen veranderingen van een gen voor. Deze veranderingen noemt men mutaties. Na het optreden van een mutatie wordt het gen niet meer in zijn oorspronkelijke, maar in de nieuwe gemuteerde vorm gecopieerd en aan de daarop volgende generaties doorgegeven.

Gen- of puntmutaties zijn niet microscopisch waarneembaar en men moet zich hierbij een verandering in de configuratie van een gecompliceerd organisch molecuul voorstellen. Er bestaat geen zekerheid, of mutaties alleen voorkomen als fouten bij het kopiëringsproces, of dat ook het "moeder-gen" door mutatie kan worden gewijzigd.

2. Het genetisch materiaal

Chromosomen bestaan uit nucleoproteïnen. Er zijn verschillende aanwijzingen, dat desoxyribose-nucleïnezuur (DNA) de zetel van de genetische informatie is:

- a. DNA uitsluitend in de celkern: RNA (Ribosenucleïnezuur) in kern en cytoplasma.
- b. Specifieke kleurbaarheid van de aldehydegroepen van de pentosesuikers van het DNA molecuul met de Feulgen-methode.
- c. De hoeveelheid DNA per celkern is evenredig met het aantal daarin aanwezige chromosomen (diploïde cel 2 x haploïde cel; tetraploïde cel 2 x diploïde cel).
- d. Een aanwijzing, dat DNA betrokken is bij het replicatieproces, blijkt uit het onderzoek van Taylor en medewerkers (1957); met tritium gelabelled thymidine werd bij de vorming van de dochterchromatiden hierin opgenomen.
- e. Het "transforming principle" in *Pneumococcus* en *Haemophilus* is DNA (Hotchkiss, 1955).
- f. Bij infectie van een bacterie met een bacteriophage dringt alleen het DNA binnen en blijft het proteïneomhulsel van de phaag achter. Het binnengedrongen DNA van de phaag bevat de genetische informatie en multipliceert zich in de gastheer cel (Hershey en medewerkers, 1952).

DNA is opgebouwd uit nucleotiden. Ieder nucleotide bestaat uit een purine- of pyrimidinebase, een pentosesuiker en fosforzuur. Volgens het model van Watson en Crick (1953) komt het DNA in de chromosomen voor als twee ketens van polynucleotiden, die spiraalvormig om een gemeenschappelijke as zijn gewonden. De twee spiralen zijn complementair: adenine van de ene spiraal is door een waterstofbrug met thymine van de andere spiraal verbonden en op soortgelijke wijze is cytosine met guanine verbonden.

Dit systeem kan zich vermenigvuldigen door verbreking van de waterstofbruggen tussen de twee polynucleotideketens en associatie met de bijpassende complementaire base uit het omgevend milieu. Als gevolg hiervan zullen wederom twee dubbele spiralen van dezelfde samenstelling ontstaan.

Mutatie zou men zich in dit systeem kunnen voorstellen bij een tautomere verandering van het adenine molecuul, waardoor adenine zich niet meer met thymine, maar met cytosine paart. Dit zal nl. een verandering in de volgorde van de basen ten gevolge hebben (vgl. Watson en Crick, 1953).

In de T-faag van ~~E. coli~~ *E. coli* kon Benzel (1957) een zeer groot aantal gevoelige plaatsen, waarop mutatie mogelijk is, binnen één groot fysiologisch gen vaststellen. De grootteorde van deze eenheden, waarop mutatie en waartussen recombinatie kan optreden, is in de orde van slechts enkele nucleotiden.

In het licht van bovengenoemde aanwijzingen, dat DNA de zetel is van de genetische informatie, lijkt het aannemelijk, dat er een correlatie zal bestaan tussen de hoeveelheid DNA per celkern en het aantal mutaties, dat hierin kan optreden.

Het belang van deze overwegingen voor een evaluatie van de genetische stralenschade bij de mens zal later ter sprake komen.

3. Oorzaken van de spontaan optredende mutaties

De spontane mutatiefrequentie is te hoog, om uitsluitend aan straling te kunnen worden toegeschreven. Bij *Drosophila* bijvoorbeeld kan slechts 1/10.000 van de spontaan optredende mutaties aan natuurlijke stralingsbronnen worden toegeschreven. Deze factor hangt uiteraard samen met de generatieduur van het organisme.

Temperatuurfluctuaties zullen eveneens energie bijdragen om chemische bindingen binnen het genmolecuul te wijzigen.

Verder wordt gedacht aan chemische mutagentia, die als producten van het celmetabolisme ontstaan.

4. Eigenschappen, die door mutatie gewijzigd kunnen worden

Mutaties kunnen zowel ieder morphologisch kenmerk als ieder physiologisch proces veranderen.

Muller en Timoféeff-Ressovsky toonden aan, dat bij *Drosophila* de verhouding tussen recessieve letale mutaties en recessieve zichtbare mutaties 7-8:1 is, terwijl subvitale mutaties 3-5 x zo frequent optreden als zichtbare en letale mutaties tezamen gerekend.

Ter verduidelijking: recessieve letale mutaties zijn 100 % onlevensvatbaar in homozygote toestand; bij semi-letale mutaties is de levensvatbaarheid 0-10 % van het normale allel; bij subvitale mutaties, of detrimentials (in Mullers terminologie), is de levensvatbaarheid tussen 10 en 90 % van het normale allel.

Op grond van genfysiologische overwegingen is het gemakkelijk voorstelbaar, dat er veel meer genen zijn, die algemeen fysiologische en metabolische processen beïnvloeden, dan genen, die als het ware gespecialiseerd zijn op het morphogenetisch eindstadium van een bepaald orgaansysteem.

In ruimere zin maakt men wel de volgende indeling:

1. Gen- of puntmutaties: geen zichtbare veranderingen in het chromosoom.
Als wij over mutaties spreken wordt deze categorie bedoeld.
2. Veranderingen in het chromosoomgarnituur: polyploidie, haploidie, heteroploidie (= aneuploidie), een of meerdere chromosomen te veel of te weinig.
3. Structurele wijziging van de chromosomen, als gevolg van chromosoombreuken: deficiency, duplicatie, inversie, translocatie.

5. De manifestatie van mutaties

Mutaties kunnen in iedere cel van een organisme optreden, maar alleen mutaties welke in de geslachtscellen ontstaan zijn overerfbaar. Mutaties, die tijdens de ontwikkeling in somatische cellen optreden, kunnen tot mozaïekvorming aanleiding geven.

Een mozaïek zal alleen zichtbaar worden, als mutatie tot een dominant allel optreedt. Recessieve mutaties manifesteren zich alleen als mozaïeken, indien het betreffende individu reeds heterozygoot was voor dit allel. Al naarmate de mutatie in een jonger ontwikkelingsstadium optreedt, zal de uitbreiding van het mozaïekgedeelte groter zijn. De mozaïekvorming door somatische mutaties werd o.a. waargenomen bij *Drosophila*, verscheidene planten, muizen, ratten, vogels en de mens.

Mutaties, die in de geslachtscellen optreden, hebben geen effect op het individu, waarbij de mutatie is opgetreden. Of een overerfbare mutatie is opgetreden kan pas worden vastgesteld, wanneer een gemuteerd gen in plaats van het oorspronkelijk gen bij de nakomelingen tot uitdrukking komt. De manifestatie van de mutatie is afhankelijk van de wijze van overerving. Een dominante mutatie zal zich bij een directe nakomeling van het individu waarbij de mutatie is opgetreden kunnen manifesteren. Deze zal de mutatie aan de helft van zijn nakomelingen doorgeven.

De manifestatie van een recessieve mutatie verloopt met grote vertraging. In de F_1 (d.w.z. de eerste generatie, volgend op het individu, waarbij de mutatie is opgetreden) zal er een nakomeling kunnen zijn met de betreffende mutatie. Deze blijft echter onzichtbaar, omdat de aanwezigheid van het dominante allel verhindert, dat de recessieve mutatie tot uiting komt. In de F_2 zal de helft van de nakomelingen van dit individu de mutatie (wederom in verborgen toestand) bezitten. In een organisme, waar broeder-zuster paring mogelijk is, zal de mutatie dan in de F_3 tot uiting komen. Bij de mens zal het echter vele generaties kunnen duren, voor een dergelijke recessieve mutatie zich manifesteert.

Anders is het gesteld met een recessieve geslachtsgekoppelde mutatie, die in het vrouwelijk geslacht optreedt. Deze toch zal zich bij een F_1 zoon reeds kunnen manifesteren.

6. Het nadelig effect van mutaties

De overgrote meerderheid van alle nieuwe mutaties heeft een nadelig effect voor het organisme, want mutaties treden volgens het toeval op. Het is een proces, dat zich op een moleculair niveau voltrekt en er bestaat dus geen verband tussen de functie en het welzijn van het organisme en de mutaties, die in de genen optreden.

Door een lange periode van evolutie zijn bij alle thans levende organismen genencombinaties samengebracht, die de beste kans op overleving en aanpassing waarborgen onder de gegeven milieu-omstandigheden. Een toevallige en ongerichte verandering in deze uiterst fijn op elkaar afgestemde levensprocessen zal derhalve vrijwel zonder mankeren ongunstig zijn.

7. Mutaties in de populatie

Waarom treden mutaties op ? Mutaties beschouwt men als de ruwe bouwmaterialen, waarmee de evolutie van de organische wereld zich voltrekt. Nieuwe genencombinaties worden voortdurend in de natuur gevormd door kruising, segregatie en hercombinatie van genen. Individuen met verschillende genencombinaties hebben een verschillende aanpassingswaarde en overlevingskans en deze zullen hun genen dus in verschillende mate aan hun nakomelingen doorgeven. Het genotype met de beste overlevingskansen zal dus, algemeen gesproken, de grootste nakomelingschap nalaten en zo kan een mutatie met gunstig effect zich door de populatie verspreiden.

De levensvatbaarheid van een genotype is echter altijd betrekkelijk, d.w.z. afhankelijk van de milieufactoren. De omstandigheden waarin een organisme zich moet handhaven zijn echter aan voortdurende wijziging onderhevig. Genetische starheid, uitsluitend gericht op maximale aanpassing aan hetzelfde milieu, betekent het risico van uit te kunnen sterven voor de populatie of soort in kwestie. Het is daarom van belang, dat er genetische variabiliteit in reserve wordt gehouden, welke de populatie de plasticiteit verleent om zich ook onder veranderende omstandigheden te kunnen aanpassen.

Om deze reserves aan verborgen genetische variabiliteit in stand te houden, wordt door mutatie voortdurend nieuwe genetische variatie toegevoegd.

Als voorbeeld van evolutie op korte termijn werd het in Engeland waargenomen industrie-melanisme bij nachtvlinders genoemd. De hoge frequentie van het gen, verantwoordelijk voor sikkelcelanaemie bij negerpopulaties, die aan ernstige malaria-infectie blootstaan, demonstreert, hoe een op zichzelf genomen nadelige mutatie onder bepaalde omstandigheden een grotere aanpassingswaarde kan bezitten (vgl. paragraaf 12).

Een organisme waarin geen nieuwe mutaties optreden is tijdelijk in het voordeel, bij afwezigheid van gemuteerde types met verminderde levensvatbaarheid. Bij een verandering van het milieu zal een dergelijke populatie of soort het afleggen tegen concurrerende populaties of species, die wel over de reserve aan mutaties beschikken, om nieuwe aanpassingsmogelijkheden te scheppen. Het evenwicht tussen deze twee tegengestelde behoeften wordt weer spiegeld in de "spontane mutatiefrequentie".

Omdat de meerderheid van alle nieuwe mutaties een nadelig effect heeft, is voor het voortbestaan van de soort de verwijdering van deze nadelige mutaties uit de populatie van even groot belang als de relatief grotere vermenigvuldiging van de weinige gunstige mutaties. In iedere generatie immers

wordt een aantal nieuwe mutaties toegevoegd aan diegenen, welke reeds van de voorafgaande generaties werden overgeërfd. Zonder de regelmatige verwijdering van deze ongunstige genen zou het gehele systeem van genen in de populatie een voortdurende degeneratie ondergaan.

Om de schade te omschrijven, welke door mutaties wordt veroorzaakt, gebruikt Muller het begrip "genetische dood". Dit berust op het principe, dat in een populatie van constante grootte het aantal nadelige genen iedere generatie zal afnemen, omdat de kans op nageslacht bij de dragers van deze genen verminderd is door geringere levensvatbaarheid en fertiliteit. Het totaal aantal malen, dat eliminatie door genetische dood optreedt, is bij benadering gelijk aan het totaal aantal mutaties.

8. Bepaling van de mutatiefrequentie

De mutatiefrequentie wordt per generatie, per gameet bepaald. Men zou mutatiefrequentie kunnen noemen de verhouding tussen het aantal gameten met een mutatie ten opzichte van het totale aantal onderzochte gameten.

a. De directe methode bij de mens

De toepassing hiervan is beperkt tot autosomaal dominante en geslachtsgekoppelde recessieve mutaties. Men bepaalt de frequentie, waarmee kinderen met een dominante erfelijke afwijking uit normale ouders worden geboren. Om betrouwbare gegevens te verkrijgen, moet zoveel mogelijk aan de volgende voorwaarden worden voldaan:

1. De mutatie moet een volkomen penetrantie hebben.
2. Er moet zekerheid bestaan, dat de betreffende afwijking altijd genetisch bepaald is.
3. Er moet een sterke selectie tegen de betreffende mutatie zijn (dus duidelijke vermindering van levensvatbaarheid of fertiliteit).
4. Er moet zekerheid bestaan, dat slechts mutaties op één specifieke locus het gemuteerde phenotype veroorzaken.

Deze laatste factor is veelal moeilijk te verifiëren. Indien mutaties op meerdere loci tot hetzelfde phenotype aanleiding geven, zal men te hoge waarden voor de mutatiefrequentie vinden.

Voorbeeld: Chondrodystrophie in Denemarken, 8 chondrodystrophe geboorten op 94.075 kinderen, afkomstig van normale ouders, dus 1 op 12.000 geboorten. Ieder zygoote ontvangt 2 allelen, dus 1 mutatie per 24.000 allelen, frequentie 4.10^{-5} .

Dergelijke bepalingen o.a. voor: epiloia, chond^{dro}dystrophie, aniridia, retinoblastoom, partieel albinisme met doofheid en enige andere loci. Gemiddelde spontane frequentie 4.10^{-5} . Mogelijkheid van geselecteerde populatie met relatief hoge mutatiefrequenties kan niet worden uitgesloten (vgl. U.N. rapport 1958).

b. De indirecte methode bij de mens

De belasting met mutaties in een populatie wordt bepaald door het evenwicht tussen de aanwas van nieuwe mutaties, ten gevolge van de spontane mutatiefrequentie enerzijds en de afname van mutaties ten gevolge van een geringer reproductief vermogen (fitness) van de gemuteerde phenotypen anderzijds.

De mutatiefrequentie van een gen kan dus berekend worden, als de frequentie van de hierdoor veroorzaakte afwijking en de daarmee gepaard gaande vermindering van het reproductief vermogen bekend zijn.

De methode leent zich het beste voor autosomaal dominante en geslachtsgekoppelde, recessieve mutaties.

1. Dominante mutaties

Stel: N-aantal individuen per generatie.

x = frequentie van de afwijking onder N.

f = reproductief vermogen (fitness) = frequentie, waarmee het gemuteerde allel, in verhouding tot het normale allel, aan de volgende generatie wordt doorgegeven.

u = mutatiefrequentie van normaal tot abnormaal.

Het aantal normale allelen bij N individuen is bij benadering $2N$ en het aantal nieuwe gevallen door mutatie = $2Nu$.

Het reproductief vermogen is f , dus vermindering van het reproductief vermogen is $1 - f$.

Het aantal phenotypes, die geëlimineerd worden, is gelijk aan het product van het aantal voorkomende gevallen Nx met het gedeelte dat verloren gaat door een verminderd reproductief vermogen $1 - f$. Geëlimineerd worden dus $(1 - f) Nx$.

Bij een evenwichtstoestand tussen mutatie en eliminatie:

$$2Nu = (1 - f) Nx.$$

$$u = \frac{1}{2}(1 - f) x$$

Bij dominante mutaties is de eliminatiefrequentie dus tweemaal zo groot als de mutatiefrequentie, omdat één gemuteerd gen zich reeds in de diploïde zygoote manifesteert, terwijl de mutatiefrequentie op de haploïde gameten wordt berekend. Voor chondrodystrophie $u = 4.8 \cdot 10^{-5}$.

2. Geslachtsgekoppelde recessieve mutaties

Mutaties in het X-chromosoom worden, mits zij zeldzaam voorkomen, hoofdzakelijk in het manlijk geslacht geëlimineerd. Aangezien mannen $1/3$ van het aantal X-chromosomen van een populatie bezitten, zal $1/3$ van de abnormale geslachtsgekoppelde allelen gekenmerkt zijn door een geringer reproductief vermogen.

$$u = 1/3 (1 - f) x^1$$

x^1 = frequentie van mannen met het betreffende kenmerk.

Voor haemophilie in Denemarken is $x^1 = 1.33 \cdot 10^{-4}$ en $f = 0.286$, zodat $u = 3.2 \times 10^{-5}$.

3. Recessieve mutaties

Bij de eliminatie van een individu, homozygoot voor abnormale recessieve allelen, gaan 2 allelen verloren, daarom is de mutatiefrequentie gelijk aan de eliminatiefrequentie.

$$u = (1 - f) \times$$

Toepassing van de indirecte methode voor de bepaling van de mutatiefrequentie van recessieve allelen heeft ernstige bezwaren.

1e. Bij de formule wordt aangenomen, dat er volledige recessiviteit bestaat, wat betreft het reproductief vermogen. Vele recessieve genen verlagen ook het reproductief vermogen in heterozygote toestand en aangezien heterozygoten veel frequenter voorkomen dan homozygoten (vgl. Hardy - Weinberg formule) zal dit effect een ernstige verstoring kunnen veroorzaken.

2e. Vele populaties verkeren niet in evenwicht. Door opheffing van isolaten neemt het aantal homozygoten af en het aantal heterozygoten toe.

c. Experimenteel toegankelijke organismen

De voorwaarden, waaraan het materiaal voor mutatieonderzoek moet voldoen, zijn de volgende:

1. moet het in genetisch opzicht goed bekend en zuiver zijn (dus geen heterozygotie voor reeds bestaande mutaties);
2. moet men over voldoende grote aantallen kunnen beschikken, zodat statistisch betrouwbare resultaten zullen worden verkregen;
3. moet men over goed uitgewerkte kruisingstechnieken kunnen beschikken, zodat individuen met mutaties op eenvoudige wijze kunnen worden onderscheiden van individuen zonder mutaties.

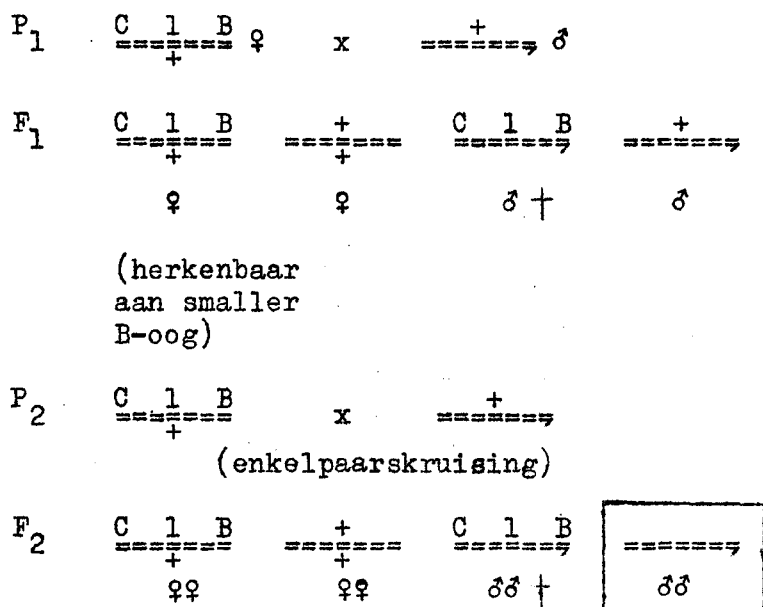
De bananenvlieg *Drosophila melanogaster* is in alle opzichten zeer gunstig: korte generatieduur, grote nakomelingschap, goedkope en efficiënte kweekmethode, genetisch en cytogenetisch zeer goed bewerkt, verfijnde opsporingstechnieken voor verschillende types mutaties en chromosoomafwijkingen. Verder noem ik: mais, leeuwenbekjes (*Anthirrinum*), muizen en micro-organismen (sinds 1940).

Enige veel gebruikte methodes bij *Drosophila*, waarmee de klassieke wetmatigheden van de mutatie en stralengenetica werden vastgesteld, mogen kort worden genoemd.

Zichtbare mutaties hebben bezwaren, want de opsporing hiervan is afhankelijk van het waarnemingsvermogen van de betreffende onderzoeker. Geslachtsgekoppelde, letale mutaties zijn uitermate geschikt. Het bovenge-

noemde bezwaar van subjectiviteit verval, omdat bij een letale mutatie een gehele Mendelklasse wegvalt; de discriminatie is dus eenvoudig en quantitatief. In de stam aanwezige mutaties kunnen gemakkelijk worden getest, of bij gebruik van mannetjes als uitgangsmateriaal, worden verwaarloosd. Het spontaan optreden van nieuwe letale mutaties in het X-chromosoom is zelfs groot genoeg, om statistische bewerking mogelijk te maken.

H.J. Muller ontwikkelde de klassieke ClB methode, die er op berust, dat bij de nakomelingen van een *Drosophila* wijfje met een letale mutatie in een der beide X-chromosomen de helft van haar zonen zal sterven. Het tijdrovende uittelen van de geslachtsverhouding in de F_2 verval, omdat het homologe X-chromosoom, afkomstig van de ClB ♀♀, ook van een letale mutatie is voorzien, 1. Herkenning van dit chromosoom is mogelijk door de dominante factor Bar (versmald, staaftvormig oog). Een inversie C voorkomt crossing-over tussen het ClB chromosoom en het te onderzoeken X-chromosoom.



Wanneer in de F_2 geen ♂♂ ($\begin{array}{c} 1 \\ \hline \hline \end{array}$) worden waargenomen betekent dit dat een letale mutatie in het X-chromosoom van een spermacel van de P_1 vader is ontstaan. Daar iedere F_2 dochter één X-chromosoom van de P_1 vader vertegenwoordigt, is het aantal afzonderlijke culturen met ClB dochters van de P_2 gelijk aan het aantal te onderzoeken X-chromosomen.

Een thans veel gebruikte modificatie van deze methode is de z.g. Muller-5 techniek, die in de practicumhandleiding beschreven is.

Om de mutatiefrequentie per genlocus te bepalen wordt bij *Drosophila* en de muis in essentie hetzelfde systeem toegepast.

De Russells in Oak Ridge kruisen $\frac{+}{+}$ muizen, waarbij men de mutatiefrequentie op een der volgende loci wil bepalen met dieren, die de aa, bb, cc, dd, pp, ss, sese genetische constitutie hebben. a = zwarte vachtkleur; b = cinnamon, respectievelijk bruine vachtkleur; c = albino; d = dilute, blauwe kleur; p = pinkeye; s = spotted; se = short ear. Bij afwezigheid van mutaties zal de gehele F_1 wild type zijn. Mutatie van bijvoorbeeld + $\rightarrow$ a zal een zwart F_1 individu veroorzaken.

Voor toepassing van deze specifieke locus techniek bij *Drosophila* moge naar de practicumhandleiding (p. 10) verwezen worden.

9. De spontane per-locus mutatiefrequentie

Om het effect van straling op het mutatieproces te benaderen, is het noodzakelijk de frequentie te kennen, waarmee mutaties spontaan optreden. Gemiddeld werden de volgende waarden bij de mens vastgesteld:

Autosomaal dominant (directe waarneming)	4.10^{-5}
(gemiddelde van 7 loci)	
Autosomaal recessief (indirecte bepaling)	$2.4.10^{-5}$
(gemiddelde van 7 loci)	
Geslachtsgekoppeld: haemophilie	3.10^{-5}
Geslachtsgekoppeld: musculaire dystrophie	$4-10.10^{-5}$

De mogelijkheid bestaat dat deze waarden een geringe overschatting inhouden. Om onze berekeningen op een voorzichtige schatting te baseren, zullen we aannemen dat de gemiddelde spontane per-locus mutatiefrequentie 1-2 per 100.000 is (vgl. Crow 1956 en Muller 1956).

Bij *Drosophila* bedraagt de gemiddelde per-locus mutatiefrequentie 6×10^{-6} en bij de muis 7×10^{-6} .

Op grond van verschillende overwegingen (langere reproductieperiode, meer celdelingen) meent Muller dat bij de mens een hogere mutatiefrequentie dan bij de muis verwacht moet worden, zodat 2×10^{-5} een redelijke benadering van de juiste waarde bij de mens zou kunnen zijn.

10. De totale mutatiefrequentie per gameet

Het totale aantal genen per gameet is bij de mens niet bekend. Om een benadering van de totale mutatiefrequentie per gameet te vinden, berekende Muller (1955) bij *Drosophila* de verhouding van de frequentie, waarmee opspreekbare mutaties over het hele genoom gerekend, optreden, tot de frequentie van mutatie op één specifieke genlocus. Deze verhouding is ongeveer 10.000 : 1. De mutatiefrequentie per gameet is dus het product van de specifieke locus-mutatiefrequentie van 1-2 per 100.000 met een waarde van 10.000; d.w.z. 1-2 op iedere 10 gameten bevatten een nieuwe mutatie. Aangezien ieder individu uit 2 gameten ontstaat is de totale mutatiefrequentie per individu 2-4 op de 10.

Bij deze mutatiefrequentie behoort dus een eliminatiefrequentie door "genetische dood" van dezelfde grootte orde.

Er zijn verschillende factoren die doen vermoeden dat deze schatting een minimale benadering is en geen overschatting (vgl. Muller 1955, 1956, Crow 1956).

11. Berekening van de mutatiefrequentie gebaseerd op de totale mutatiebelasting

De bovengenoemde waarden voor de totale mutatiefrequentie zijn ook langs geheel andere weg te benaderen. Deze berust op het principe dat bij nakomelingen uit huwelijken tussen bloedverwanten een grotere kans op homozygotie bestaat. Hierdoor kunnen recessieve genen die zonder inteelt verborgen blijven zich manifesteren. Door de toename in sterfte bij kinderen uit bloedverwante huwelijken te bepalen is het dus mogelijk om na te gaan hoe groot de belasting met recessieve letale en nadelige genen is.

Morton, Crow en Muller (1956) vonden met deze methode dat de mens gemiddeld hetaëquivalent bezit van 4 recessieve letale genen d.w.z. 4 letale mutaties of bijvoorbeeld 8 mutaties, die 50 % kans op mortaliteit veroorzaken. De sterfte werd gerekend vanaf de geboorte tot het 20e levensjaar.

Deze vier verborgen letale aëquivalenten zijn een gevolg van mutaties die in voorafgaande generaties zijn opgetreden en nog in de populatie persistenten. Wanneer wij de gemiddelde persistentie van een dergelijke nadelige mutatie kunnen benaderen, is het mogelijk om de mutatiefrequentie te berekenen. De mutatiebelasting toch, is het product van mutatiefrequentie en de persistentie.

Bij een bepaling van de persistentie neemt men aan dat eliminatie van deze "recessieve" genen hoofdzakelijk in heterozygote toestand zal plaatsvinden door een geringe, maar zekere mate van dominantie. Door Stern en medewerkers (1948, 1952) en Muller (1950) werd vastgesteld dat recessieve letale genen bij *Drosophila* een dominantie van 4-5 % manifesteren. Muller (1956) voert verschillende argumenten aan dat eliminatie bij de mens hoofdzakelijk in heterozygote toestand zal plaatsvinden en dat een dominantie van 2 % een redelijke schatting is. De eliminatiefrequentie per letaal of nadelig gen is dus gemiddeld 1 op de 50. Dit betekent dat een dergelijk gen gemiddeld 50 generaties zal worden doorgegeven (persisteert) voor het geëlimineerd is.

Aangezien de mutatiebelasting het product is van mutatiefrequentie en persistentie ($4 = U \times 50$) vinden we voor de mutatiefrequentie $U = 0.08$ per individu. Ook kan men stellen dat de eliminatiefrequentie van 0.02×4 (letale aëquivalenten per individu) = 0.08 bij benadering gelijk is aan de mutatiefrequentie. De mutatiefrequentie per gameet is de helft van deze waarde, d.w.z. 0.04; stel dat een dominantie van 5 % als bij *Drosophila* ook bij de mens de juiste waarde zou zijn dan wordt de mutatiefrequentie 0.1.

In elk geval is er, gezien de vele onzekere factoren, tussen de waarden die met geheel van elkaar onafhankelijke methoden voor de totale mutatiefrequentie per gameet werden berekend een frappante overeenstemming.

Als maatstaf van een toename van de mutatiefrequentie door straling in menselijke populaties te meten, zijn deze gegevens van grote betekenis.

III. STRALENGENETICA

1. Het mutatiespectrum en enige algemene principes van de inductie van mutaties door ioniserende straling

In 1927 toonde H.J. Muller aan dat röntgenstraling mutaties bij *Drosophila* induceert en dat bij verdubbeling van de stralingsdosis tweemaal zoveel mutaties worden verwekt. Mullers vinding werd kort daarop door Stadler bij gerst bevestigd.

Zichtbare mutaties, die door bestraling zijn geïnduceerd, verschillen niet wezenlijk van de spontaan optredende mutaties. De verhouding van recessief letale tot recessief zichtbare mutaties bleek eveneens 7-8:1 te zijn en subvitale "detrimentals" worden 3-5 maal zo frequent geïnduceerd als letale en zichtbare mutaties gezamenlijk.

In nog sterkere mate dan bij spontane mutaties bleek de overgrote meerderheid van alle geïnduceerde mutaties nadelige effecten voor het organisme te hebben.

Na bestraling ontstaan nl. meer kleine deficiencies, dan spontaan optreden. Deficiencies veroorzaken altijd een nadelig effect, omdat hierbij genen verloren gaan. Een scherpe onderscheiding tussen kleine deficiencies en puntmutaties is echter veelal niet mogelijk.

Met behulp van verfijnde genetische technieken kon Muller (1951) aantonen dat onder 1000 nakomelingen van vliegen die met 150 r bestraald waren, in ongeveer 156 individuen mutaties zullen voorkomen. De verdeling van de verschillende types is als volgt:

1. 100 recessieve subvitale mutaties (detrimentals), statistische verlaging van de overlevingskans. Levensduur en fertiliteit lager dan normaal.
2. 25 recessieve letale mutaties.
3. 25 dominante letale factoren. Hoofdzakelijk een gevolg van chromosoombreuken en dus geen puntmutaties.
4. 5 recessieve zichtbare mutaties.
5. 1 dominant zichtbare mutatie.

Uit deze frequentieverdeling van de verschillende types blijkt dat de meest voorkomende categorie mutaties gematigd ongunstige effecten heeft en dat wij bij de beoordeling van de stralenschade bij de mens hiermee rekening moeten houden. De grote schaarste aan dominant zichtbare mutaties illustreert tevens dat men onder de directe nakomelingen van bestraalde individuen slechts uiterst zelden genetische afwijkingen zal waarnemen, maar dat men hieruit niet mag concluderen dat geen overerfbare beschadiging is veroorzaakt.

Bij het onderzoek naar mutaties op specifieke loci bij de muis bleek de helft van de geïnduceerde zichtbare mutaties in homozygote toestand leetaal te zijn (Russell, 1957, Russell, Russell en Kelly, 1958). Bij nakomelingen van bestraalde manlijke muizen werden een geringere levensvatbaarheid en een verkorting van de levensduur vastgesteld.

Röntgenstraling verwekt ook chromosoombreuken en als gevolg hiervan worden na bestraling chromosomale afwijkingen als deficiencies, inversies en translocaties gevonden.

Het mutagene gedeelte van het spectrum der electromagnetische straling omvat zowel ultraviolet (golflengte van 2600 Å is het meest werkzaam; bij deze golflengte absorbtie van nucleïnezuur) als de harde gammastraling. Andere mutagene stralingen zijn: α straling, β straling, protonen en neutronen. Uit recent onderzoek over de mutatieinductie met snelle neutronen blijkt, dat neutronen een grotere RBE waarde hebben dan röntgenstraling.

De mutatieinductie door ioniserende straling is ruimtelijk begrensd. Mutatie komt dus alleen tot stand als de genen rechtstreeks door de straling worden getroffen en niet op indirecte wijze door een effect via het cytoplasma (experimenten van Muller en Timoféeff-Resovsky).

De mutatieinductie is ook in de tijd begrensd. Er is dus in principe geen mutagene nawerking.

2. Stralingsdosis en mutatiefrequentie

Uit een groot aantal experimenten van verschillende onderzoekers is gebleken dat bij *Drosophila* de frequentie van door röntgen- of gammastraling geïnduceerde letale mutaties rechtstreeks evenredig is met de stralingsdosis. Een zelfde proportionaliteit tussen dosis en mutageen effect werd voor zichtbare mutaties vastgesteld. (Timoféeff-Ressovsky).

Voorts is de mutatiefrequentie onafhankelijk van de intensiteit (doseringsnelheid) waarmee de straling wordt toegediend. Fractionering van de dosis heeft evenmin een effect. De mutatiefrequentie wordt uitsluitend bepaald door de totale hoeveelheid straling waaraan de geslachtscellen zijn blootgesteld.

In tegenstelling tot de somatische effecten van ioniserende straling treedt bij de genetische effecten dus geen herstel op.

Het is uiteraard van belang, of deze wetmatigheden van toepassing blijven bij de betrekkelijk lage doseringen en geringe stralingsintensiteiten waaraan de mens wordt blootgesteld.

Uit de experimenten van Uphoff en Stern (1949) bleek dat de evenredigheid tussen stralingsdosis en mutatiefrequentie bleef gelden, wanneer de intensiteit werd gereduceerd met een factor 300.000; hierbij werd een totale dosis van 50 r gedurende verscheidene weken als continue bestraling toegediend. De evenredigheid tussen dosis en effect werd eveneens gevonden voor de laagste tot nu toe onderzochte dosis van 25 r. Volgens Muller (1957) is het aannemelijk dat het lineaire verband voor nog lagere doseringen en doseringssnelheden van toepassing zal blijven, omdat bij de reeds onderzochte doses van 25 en 50 r reeds uren verlopen tussen de doorgang van een ionisatiespoor door een spermatozoïde en de doorgang van een volgend ionisatiespoor door een ander spermatozoïde.

Bij de mens zijn het de goniale stadia die vanaf de conceptie tot het einde van de reproductieve periode aan het cumulatieve effect van straling zijn blootgesteld. Daarom is het van belang of ook voor deze stadia bovengenoemde wetmatigheden van gelding blijven.

Oster (1958) vond dat door röntgenstraling geïnduceerde mutaties in oogonia van *Drosophila* in evenredigheid met de dosis toenemen.

Experimenten met spermatogonia van de muis werden op grote schaal door de Russells te Oak Ridge en door Carter te Harwell verricht. Na bestraling van manlijke muizen worden gedurende de eerste drie weken spermatozoa, respectievelijk spermatiden bemonsterd. Dan volgt een steriele periode van + drie weken (lengte van de steriele periode afhankelijk van de stralings-

dosis). Het sperma dat na de steriele periode voor bevruchtingen wordt gebruikt bevond zich op het moment van de bestraling in het spermatogoniale stadium.

In een vrouwelijke muis bevindt het merendeel der cellen zich in het primaire oocytstadium aangezien de eerste meiotische deling kort voor de ovulatie plaatsvindt. Oogonia komen in een volwassen vrouwtje niet meer voor.

De resultaten van de Russells zijn voornamelijk gebaseerd op recessieve zichtbare mutaties op specifieke genloci. Voor een samenvatting van hun recente bevindingen zie Russell, Russell en Oakberg (1958), Russell, Russell en Kelly (1958).

Een lineair verband werd ook in verhouding tot de nulwaarde (zonder bestraling) waargenomen bij doseringen van 300 r en 600 r. Bij 1000 r röntgenbestraling bleef de mutatiefrequentie beneden de verwachting. Een mogelijke interpretatie van deze afwijking is, dat spermatogonia een uiteenlopende gevoeligheid voor bestraling bezitten en dat de gevoeligheid voor straling welke celdood veroorzaakte, positief gecorreleerd is met de gevoeligheid voor mutatie. Bij hogere doses zouden dus meer gevoelige spermatogonia afsterven, met het gevolg dat de mutatiefrequentie in de meer resistente cellen lager zou zijn.

Na langdurige blootstelling aan gammastraling (caesium ¹³⁷) van lage intensiteit, 90^r/week) werden bij doseringen van 516 en 861 r significant lagere mutatiefrequenties gevonden dan na bestraling met röntgen van hoge intensiteit. Russell, Russell en Kelly (1958) toonden aan dat een verschil in kwaliteit van de toegepaste straling de gevonden afwijking niet kan verklaren. De vraag blijft dan of het gevonden intensiteitseffect een gevolg is van celselectie of een rechtstreeks effect op het mutatieproces.

In dit verband zijn de resultaten over het mutageen effect van chronische gammastraling op vrouwelijke muizen van groot belang. (Russell, Russell en Cupp, 1959). Ook hier werd een significant lagere mutatiefrequentie waargenomen dan van "acute" röntgenbestraling. De bestraalde cellen vormen echter een homogene populatie, die uitsluitend uit oöcyten van de eerste orde (praemeiotisch) bestaat.

Op grond van deze resultaten met vrouwtjes menen de Russells dat differentiële celselectie ook in de spermatogonia wellicht een minder grote rol moet worden toegekend dan aanvankelijk werd aangenomen (Russell en Russell, 1958). Als alternatieve interpretatie zou dan aan een herstelproces gedacht moeten worden. Hierbij zou men zich moeten voorstellen dat herstel bij een gedeelte der geïnduceerde mutaties kan optreden als de stra-

ling met lage intensiteit wordt toegediend. Bij hoge intensiteit zou geen herstel mogelijk zijn door beschadiging van het herstelproces zelf.

Men moet hierbij echter in het oog houden dat in rijp sperma van *Drosophila* geen intensiteitseffect wordt gevonden en evenmin in rijp sperma van de muis (Russell, Russell en Kelly, 1958). Het gepostuleerde herstel is dus karakteristiek voor jonge celstadia met grotere metabolische activiteit.

Russell, Russell en Kelly betuigen echter dat een conclusie tot een drempelwaarde voor de mutatieinductie bij lage dosering en lage intensiteit bepaald niet gerechtvaardigd is.

Gedurende de laatste paar jaar zijn er, evenals in de intensiteits-experimenten van de Russells, ook bij verscheidene andere organismen aanduidingen gevonden, dat de mutatieinductie niet geheel gefixeerd is op het moment van de bestraling, maar dat althans bij een gedeelte der mutaties enige tijd verloopt tussen de absorptie van de stralingsenergie en de voltooiing van het mutatieproces. Fraaie onderzoeken van Kimball bij *Paramecium*, het pantoffeldiertje, wijzen er op dat stofwisselingsprocessen bij dit herstel van de primaire stralenbeschadiging betrokken zijn.

Een soortgelijke conclusie lijkt gerechtvaardigd op grond van mijn eigen resultaten met *Drosophila*. Enige jaren geleden vond ik dat behandeling met blauwzuurgas, volgend op röntgenbestraling met zeer hoge intensiteit, een significante toename van de mutatiefrequentie in één specifiek stadium van de sperma-ontwikkeling^{de} spermatiden veroorzaakt. Hoewel ik aanvankelijk meende, dat deze verhoging van de mutatiefrequentie anders verklaard moest worden, lijkt het mij thans na voortzetting van de proeven waarschijnlijker, dat blokkering van een herstelproces de juiste interpretatie voor deze waarneming is. Dit zou betekenen dat energie van de celademhaling verantwoordelijk moet worden geacht voor het herstel van een gedeelte der primaire stralenschade, welke tot genmutaties bij *Drosophila* aanleiding kan geven.

Om misverstand te voorkomen zou ik er op willen wijzen, dat herstel van reeds geïnduceerde mutaties niet optreedt. Dit blijkt onder andere uit experimenten, waarbij in muizen-spermatogonia dezelfde mutatiefrequenties, enige weken en twee jaar na de bestraling werden waargenomen. Tijdens dit geruime interval was de mutatiefrequentie dus niet verminderd en had geen eliminatie van mutaties plaatsgehad.

Gezien hun betekenis voor de evaluatie van de genetische stralenschade bij de mens mogen de in deze paragraaf behandelde wetmatigheden nog eens kort worden samengevat.

In de eerste plaats werd gevonden dat onder zo vergelijkbaar mogelijke condities, als bij de mens prevaleren, er geen zekere aanwijzingen zijn die op een afwijking van de evenredigheid tussen dosis en effect wijzen. Veiligheidshalve moet daarom worden aangenomen dat de genetische schade in de vorm van mutaties evenredig is met de dosis straling en dat er geen onderdrempelige doseringen bestaan. Voorts is de stralenwerking strikt cumulatief en is herstel van opgewekte genetische effecten niet mogelijk. Weliswaar werd in het recente onderzoek van de Russells een lagere geïnduceerde mutatiefrequentie in spermatogonia en oocyten vastgesteld na chronische gammastraling dan na acute röntgenstraling. Dit betekent echter alleen dat de genetische schade niet zo groot zou kunnen zijn als men op grond van de waarden na acute straling meende te moeten verwachten. Het aantal geïnduceerde mutaties wordt dus bepaald door de totale stralingsdosis, waaraan de ouders vanaf hun conceptie tot aan de conceptie van hun kinderen zijn blootgesteld. Voor deze reproductieve periode wordt in het rapport van de Amerikaanse Academie van Wetenschappen (1951) de periode van de eerste 30 levensjaren gesteld.

Ook is het aantal mutaties dat in een populatie wordt verwekt, onafhankelijk van de verdeling van de stralingsdoses over de individuen. Voor de populatie als geheel beschouwd veroorzaakt een kleine hoeveelheid straling, waaraan velen zijn blootgesteld, evenveel mutaties, als een relatief grote dosis straling welke slechts enkele individuen treft. Hierbij wordt in aanmerking genomen dat voor beide groepen zowel de totale gonadendosis als de kans op nageslacht hetzelfde is geweest.

3. De treffertheorie

Eveneens werd gevonden dat bij gelijkblijvende dosis de mutatiefrequentie onafhankelijk is van de golflengte.

Op grond van de evenredigheid tussen dosis en mutageen effect en de onafhankelijkheid van de mutatiefrequentie van zowel intensiteit als golflengte pasten Timoféeff-Ressovsky en Delbrück (1935) de treffertheorie toe als biophysische verklaring van de mutatieinductie door ioniserende straling. Volgens de treffertheorie wordt een mutatie veroorzaakt door één enkele treffer, bestaande uit één ionisatie of een bundel ionisaties binnen een z.g. trefferzone of gevoelig volumen.

De conclusie dat één treffer voldoende is, werd gebaseerd op het lineair verband tussen stralingsdosis en mutatiefrequentie. De waarneming dat de geïnduceerde mutatiefrequentie onafhankelijk is van de doseringssnelheid (intensiteit) wijst er op dat er geen interactie bestaat tussen meerdere ionisaties. Een effect van de doseringstijd kan alleen dan verwacht worden als twee onafhankelijke, primaire effecten binnen een bepaald kritisch tijdsinterval verantwoordelijk zouden zijn voor een mutatie.

De waarneming dat de mutatiefrequentie onafhankelijk is van de kwaliteit (golflengte) van de straling sluit quanten en secundaire electronen als treffer uit. Timoféeff, Delbrück en Zimmer concludeerden derhalve dat mutaties verwekt worden door één ionisatie of activatie.

Met behulp van de trefferhypothese werden berekeningen gemaakt van het gevoelig volumen (vgl. Zimmer en Delbrück (1935) Timoféeff en Lea en Catcheside(1945)).

Op dit punt heeft de treffertheorie ernstige kritiek ondervonden (vgl. Muller 1952, 1954). De kritiek van Muller betreft o.a. de mutagene werkzaamheid van neutronen.

Verder zijn er tal van factoren bekend geworden die de door straling geïnduceerde mutatiefrequentie kunnen wijzigen, zodat het gevoelig volumen niet zonder meer in fysische afmetingen kan worden uitgedrukt. Ook bestaat er geen zekerheid dat alle geïnduceerde mutaties waarneembaar zijn en voorts zijn er aanwijzingen dat ook ionisaties of activaties buiten het gen tot mutatie aanleiding kunnen geven.

De trefferhypothese kan van waarde blijven, als we het gevoelig volumen groter dan het eigenlijke gen denken. Dan is het mogelijk ook het effect van ionisaties buiten het gen, die door overdracht van energie mutaties veroorzaken, hiermee te verklaren.

4. Indirecte effecten

Reeds sinds de eerste experimenten van Stadler is het bekend dat bestraling meer mutaties opwekt in vochtige, geweekte, dan in droge zaden. Dit verschijnsel werd later door verscheidene onderzoekers bevestigd (Gustavson 1940, 1941, Kaplan 1951). Hetzelfde werd gevonden bij bestraling van stuifmeelkorrels (Kaplan) en schimmelsporen (Stapleton en Hollaender 1952).

Deze waarnemingen wijzen er op dat water een belangrijke rol moet worden toegekend bij de inductie van mutaties door bestraling.

Na bestraling van water kan het H_2O molecuul door ionisatie gesplitst worden in OH , hydroxyl radicalen en H atomen. Bij afwezigheid van enige onzuiverheid in het water vindt hercombinatie plaats, omdat de radicalen niet in een reactie betrokken worden. Vermoedelijk worden echter sporen H_2 ($H + H \longrightarrow H_2$) en H_2O_2 ($OH + OH \longrightarrow H_2O_2$) gevormd. Bij aanwezigheid van zuurstof, zoals in een biologisch systeem meestal het geval is, ~~kanen het~~ perhydroxy radicaal $H + O_2 \longrightarrow HO_2$ en waterstofperoxyde $2HO_2 \longrightarrow H_2O_2 + O_2$ worden gevormd.

Thoday en Read (1947) vonden dat de door röntgenstraling geïnduceerde frequentie chromosoomafwijkingen in worteltoppen van *Vicia faba* (de tuinboon) groter is bij aanwezigheid van zuurstof dan onder anaerobe condities.

Het radiosensitiverend effect van O_2 werd door Giles en Riley (1949, 1950) bevestigd na bestraling van pollenkorrels van *Tradescantia*. Door Baker en medewerkers (1949, 1950, 1952) werd het O_2 effect ook voor de genetische effecten van röntgenstraling bij *Drosophila* aangetoond.

Een duidelijke demonstratie dat althans een gedeelte van de mutagene werking van straling indirect is, en plaatsvindt via de vorming van oxydatieve mutagentia blijkt eveneens uit het werk van Stone en zijn medewerkers (1947). Deze auteurs vonden dat bestraling van cultuurmedium met ultraviolet, mutaties veroorzaakt in de daarop gekweekte bacteriën. Bij later onderzoek bleek dat dit effect een gevolg is van organische peroxyden.

Bij voortgezet onderzoek is gebleken dat het zuurstofeffect in feite uitermate gecompliceerd is; voor meer gedetailleerde samenvattingen, zie Muller 1954, Giles 1954, Stone 1954, Wolff 1957, Gray 1958. Voor de mogelijke rol van peroxyden in de stralenmutagenese moge worden verwezen naar Stone, 1954, Sobels, 1957, 1958). In elk geval is het echter duidelijk dat zowel de directe. als indirecte werking van straling een rol speelt bij de mutatieinductie door bestraling.

Alper en Howard Flanders (1956, Alper 1958) zijn van mening dat het effect van zuurstof niet kan worden verklaard door vrije radicalen maar door een reactie met een geïoniseerd treffermolecuul dat ten gevolge van de directe ionisatie in een gevoelige, reactieve toestand geraakt. De werkzame radicalen hebben een zeer korte levensduur en het ruimtelijk effect er van is beperkt tot submicroscopische afstanden van het chromosoom. De treffertheorie dat mutaties worden opgewekt door lokaal toegediende energie op bepaalde punten van het chromosoom kan dus gehandhaafd blijven, als we de trefferzone beschouwen als een volumen dat het gen omgeeft, waarbinnen zich eveneens de radicaalreacties afspelen.

5. Door bestraling veroorzaakte chromosoombreuken

Behalve mutaties veroorzaakt straling chromosoombreuken. Wanneer een gebroken chromosoom zich niet herstelt, bevat de cel een gefragmenteerd chromosoom. Een dergelijke cel blijft als regel in leven totdat celdeling plaatsvindt, maar sterft tijdens of kort na dit proces af. Het gebroken chromosoom bestaat nl. uit een centrisch en een acentrisch fragment. Door hun kleverigheid en geringe onderlinge afstand is er een grote waarschijnlijkheid dat de gebroken uiteinden met elkaar versmelten als het chromosoom zich in chromatiden gesplitst heeft. Versmelting van de open breukplaatsen van het acentrisch fragment zal tot gevolg hebben, dat dit chromosoomgedeelte verloren gaat. Dit beschikt nl. niet meer over de transportmogelijkheid in de vorm van een centromeer. Versmelting van de breukplaatsen van het centrisch fragment zal er toe leiden dat een dicentisch chromosoom wordt gevormd, waar aan twee kanten aan getrokken wordt. Dergelijke chromosoombruggen leiden in dierlijke cellen tot het afsterven van de cel.

Niet gerestitueerde breuken manifesteren zich als dominante letale factoren waarbij de dood in een vroeg-embryonaal stadium optreedt. Dergelijke vroeg-optredende abortus is bij een beoordeling van de genetische stralenschade bij de mens van slechts relatief geringe betekenis.

Als index om geïnduceerde dominante letale factoren bij de muis te meten werd door de Russells (1956) de verhouding tussen het aantal levende embryonen en het aantal corpora lutea gebruikt. Een reductie van de worpgrootte als zodanig is geen bruikbaar criterium, omdat ten gevolge van de bestraling superovulatie optreedt.

Chromosomale beschadigingen treden eveneens op in somatische cellen. Aangezien het afsterven van een cel tengevolge van bestraling plaatsvindt na een deling, geven chromosoombreuken een plausibele verklaring voor het verschijnsel, dat weefsels waarin regelmatig celdeling voorkomt, het meest door bestraling beschadigd worden (bijvoorbeeld de huid, darmepitheel, bloedvormende organen, beenmerg).

Het wegvallen van individuele cellen in een weefsel heeft een beschadiging van het regeneratieproces ten gevolge. Muller (1956, 1957 a., b., c.) acht het niet onaannemelijk dat chromosomale beschadiging de oorzaak is van de stralenbeschadiging van het darmepitheel (vgl. Quastler, 1956) en van de levensduurverkorting, die ten gevolge van bestraling door sommige onderzoekers is waargenomen (Sacher, 1956).

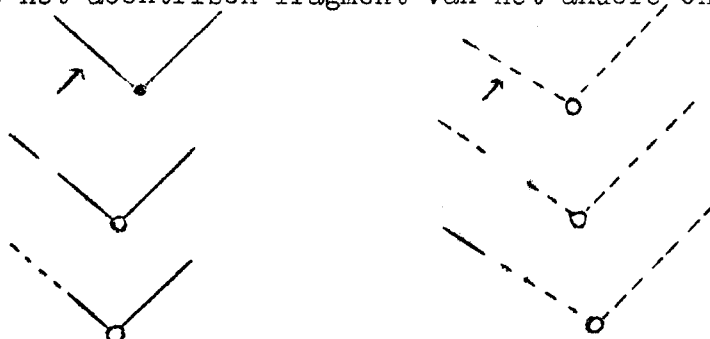
In dit verband is het van belang dat de hoeveelheid chromosoombreuken welke door bestraling worden geïnduceerd, recht evenredig is met de totale dosisstraling en niet samenhangt met intensiteit of fractionering. Op het niveau van de primaire celbeschadiging is er dus geen drempelwaarde.

6. De gevolgen van twee chromosoombreuken

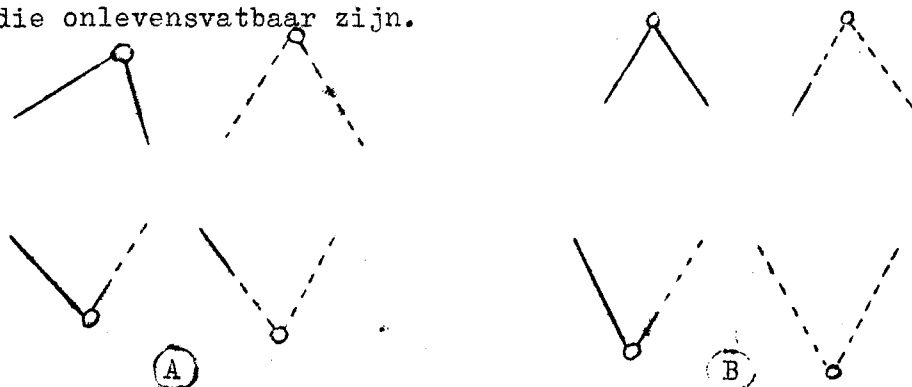
De inductie van twee of meer chromosoombreuken kan tot verschillende structurele wijzigingen van de chromosomen leiden. Wanneer twee niet-homologe chromosomen worden gebroken en reciproke uitwisseling van de chromosoomfragmenten plaatsvindt, spreken we van een translocatie.

Wanneer respectievelijk de twee centrische fragmenten en de twee acentrische fragmenten versmelten ontstaat een aneucentrische translocatie. Aneucentrische translocaties worden geëlimineerd door brugvorming en verlies van chromosoommateriaal (volgens hetzelfde principe als beschreven werd voor niet gerestitueerde individuele chromosoombreuk).

Er bestaat echter een even grote kans dat een eucentrische translocatie wordt gevormd, waarbij het centrisch fragment van het ene chromosoom met het acentrisch fragment van het andere chromosoom versmelt.



Een individu dat heterozygoot is voor een translocatie is phaenotypisch normaal, maar 50 % van de gevormde gameten bezit bepaalde chromosoomgedeelten te veel en andere gedeelten te weinig. Bij het uiteenwijken van de chromosomen in de meiose doen zich nl. twee mogelijkheden voor. Als geval A wordt verwezenlijkt ontstaan normale zygoten. Geval B geeft aneuploide zygoten, die onlevensvatbaar zijn.



Individueen die heterozygoot zijn voor een translocatie zijn dus gekenmerkt door semisteriliteit, want 50 % van de zygoten is onlevensvatbaar. Een translocatie wordt derhalve betrekkelijk snel uit de populatie geëlimineerd.

Chromosoombreuken in goniale cellen geven slechts tot een uiterst geringe frequentie tot translocaties aanleiding, omdat translocaties bij de verdeling van de homologe chromosomen in de meiose als regel verloren gaan.

Bij straling met lage intensiteit is de kans op de vorming van een translocatie gering, want er is dan slechts een kleine waarschijnlijkheid dat twee chromosomen tegelijkertijd gebroken worden.

Samenvattend kunnen we vaststellen dat bij de mens de genetische gevolgen van chromosoombreuken en eventueel daaruit voortvloeiende translocaties relatief gering zijn in vergelijking tot die van puntmutaties.

7. Het verband tussen de ^{stralings} dosis en de frequentie chromosoomafwijkingen

Twee hypothesen: A) contact hypothese; op grond hiervan zou men een lineaire toename met de dosis verwachten. B) de breakage-first hypothese. Twee onafhankelijke treffers zijn noodzakelijk. Een kwadratische toename van de frequentie der afwijkingen met de dosis wordt verwacht. Door Muller en Sax werd experimentele bevestiging van de breakage-first hypothese gevonden.

De frequentie van kleine structurele wijzigingen neemt lineair met de dosis toe. Muller toonde aan dat deletions tot een grootte van 3-4 banden in de speekselklierchromosomen nog door één treffer worden veroorzaakt. Ook deze waarneming spreekt er voor dat men de trefferzone groter dan het eigenlijke gen moet denken.

Stadler (1954) meende op grond van zijn waarnemingen bij mais, dat alle door straling geïnduceerde mutaties kleine deficiëncies zijn. Andere waarnemingen spreken tegen deze opvatting. Vooral studies over terugmutatie bij *Drosophila* (Muller, 1955 en Muller en Oster, 1957) en bij de schimmel *Neurospora* geven aanwijzingen dat ioniserende straling zuivere gen- of puntmutaties kan veroorzaken.

Lea en Catcheside (1945) meenden dat letale mutaties het gevolg zijn van gerestitueerde chromosoombreuken. De waarnemingen van Muller (1954) geven echter geen bevestiging van deze hypothese. Muller stelde vast dat een aantal der door röntgenstraling geïnduceerde letale mutaties een gevolg is van structurele wijziging der chromosomen. Deze verstoren de normale ordening der genen en door verandering van plaats ontstaan z.g. letale positie-effecten. Voor een gedetailleerde bespreking van deze kwestie moge naar Muller (1954) worden verwezen.

8. Door bestraling geïnduceerde mutatiefrequenties

Door bestraling geïnduceerde mutaties zijn bij de mens nog niet met zekerheid vastgesteld (vgl. U.N. rapport 1958). Derhalve is ook het verband tussen dosis en de mutatiefrequentie nog onbekend. Voor een benadering van het quantitatief effect na bestraling bij de mens is men derhalve aangewez-
zen op waarden, die bij experimenteel toegankelijk materiaal als de muis en *Drosophila* zijn vastgesteld.

Bij alle goed onderzochte organismen werd echter vastgesteld dat ioniserende straling mutaties en chromosoombreuken induceert. Ook het feit dat het genetisch materiaal bij de mens uit DNA bestaat en het feit dat de overerving volgens dezelfde wetmatigheden verloopt, laat er geen twijfel aan bestaan dat straling bij de mens in wezen dezelfde genetische effecten zal veroorzaken.

Als gemiddelde voor 9 recessieve zichtbare loci vonden Muller, Valencia en Valencia na bestraling van *Drosophila oregonia* een waarde van 1.4×10^{-8} per r.

Als gemiddelde van 7 recessieve zichtbare loci stelde Russell in spermatogonia van de muis een waarde van 2.5×10^{-7} vast. Deze waarde is dus bij de muis 15 maal zo hoog als bij *Drosophila*.

De frequentie waarmee recessieve, letale mutaties bij de muis worden geïnduceerd is eveneens 20 maal zo hoog als bij *Drosophila*. Ook de hoeveelheid DNA per celkern is bij de muis ongeveer 20 maal zo groot als bij *Drosophila*. Dit zou er op kunnen wijzen dat de muis niet meer, maar grotere, meer complex samengestelde genen bezit dan *Drosophila*.

Aangezien de hoeveelheid DNA per celkern bij de mens ongeveer 6/5 maal zo groot is als bij de muis, lijkt het bij gebrek aan meer directe kennis over door straling geïnduceerde mutatiefrequenties niet onaannemelijk, dat men ook bij de mens relatief hoge mutatiefrequenties per locus mag verwachten.

9. Gevoeligheid voor de mutagene werking van straling in verschillende types van cellen

Verschillende stadia van de spermatogenese zijn gekenmerkt door een verschillende gevoeligheid voor de inductie van mutaties door straling. Mutatiefrequenties in opeenvolgende stadia van de spermatogenese kunnen worden bepaald door bemonstering op verschillende tijdstippen na de bestraling. Het ruimtelijk patroon van de spermatogenese in de behandelde testis wordt dan getransformeerd in een tijdspatroon van genetische effecten in opeenvolgende paringsperiodes.

Bij *Drosophila* zijn de spermatogonia het minst gevoelige stadium. Spermatiden hebben de grootste gevoeligheid, d.w.z. 12 maal die van goniale cellen. Rijp sperma is 3-4 maal zo gevoelig als gonia.

Bij de vrouwtjes stemt de gevoeligheid van oogonia en van jonge oocyten overeen met die van spermatogonia. Oude oocyten zijn 2-3 maal zo gevoelig.

Uit onderzoek van Oster (1958) en Sobels (1958) blijkt dat het grote verschil in gevoeligheid tussen rijp sperma en spermatiden grotendeels veroorzaakt wordt door verschillen in de hoeveelheid zuurstof welke deze cellen ter beschikking staat, d.w.z. rijp sperma is een relatief anoxisch stadium en spermatiden zijn gekenmerkt door een relatief hoge zuurstofspanning.

Bij muizen werden soortgelijke verschillen in stralingsgevoeligheid in verschillende stadia van de spermatogenese en oögenese waargenomen. De laagste mutatiefrequenties werden in spermatogonia gevonden en de hoogste mutatiefrequenties werden voor spermatiden vastgesteld.

Gedurende de eerste drie weken na de bestraling worden rijpe spermatozoa, successievelijk spermatiden bemonsterd. Hierna volgt een steriele periode van gemiddeld drie weken; de duur hiervan hangt samen met de gebruikte dosis. Wat na de steriele periode bemonsterd wordt, verkeerde op het moment van de bestraling in het goniale stadium.

De recente waarnemingen van de Russells, waarbij na chronische gammastraling in goniale cellen een lagere mutatiefrequentie werd vastgesteld dan na acute röntgenbestraling, zijn reeds eerder genoemd.

10. Door bestraling geïnduceerde mutatiefrequenties bij de mens

Een overzicht van onderzoeken gericht op de bepaling van door straling geïnduceerde mutatiefrequenties bij de mens vindt men o.a. in het U.N. rapport (1958).

Hierin wordt op de noodzakelijkheid van een controlepopulatie gewezen. De gonadedoses van zowel de bestraalde als de controlepopulatie moeten bekend zijn. Voorts is het gewenst dat de controlepopulatie zoveel mogelijk van gelijke samenstelling is als de bestraalde populatie. Om fouten bij de bemonstering te beperken is het noodzakelijk een groot materiaal te verzamelen.

Alle tot nu toe verrichte studies hebben betrekking op de directe nakomelingen van bestraalde ouders. Gezien het oncontroleerbare karakter van paringen bij de mens, is het echter duidelijk dat meer informatie kan worden verkregen bij de eerste generatie na de bestraling, dan in latere generaties.

Dominante zichtbare mutaties kunnen als afwijkingen bij de geboorte worden vastgesteld. Hetzelfde geldt voor recessieve, geslachtsgekoppelde mutaties bij de manlijke nakomelingen van bestraalde vrouwen.

Het effect van geslachtsgekoppelde letale mutaties komt tot uiting in een verandering van de geslachtsverhouding bij de geboorte.

Enkele tot nu toe verrichte onderzoeken zullen puntsgewijze worden besproken.

a. Atoombomoverlevenden

Neel en Schull (1956) onderzoek bij nakomelingen van bestraalde overlevenden van de Hiroshima en Nagasaki bommen in Japan. Bestudeerd werden o.a. de geslachtsverhouding, de frequentie doodgeboren kinderen en neonatale sterfgevallen, het voorkomen van congenitale misvormingen en een aantal anthropometrische waarden. Voor een groep die 30 % van het totale materiaal omvatte werd een hernieuwd onderzoek van bepaalde misvormingen en metingen 9 maanden na de geboorte verricht. In totaal werden nakomelingen van 27.000 bestraalde vrouwen en 14.000 bestraalde mannen bestudeerd. Aanvankelijk werd een significante afname van de geslachtsverhouding bij nakomelingen van bestraalde moeders gevonden. Wanneer later geboren kinderen hierbij betrokken werden, was de afwijking niet meer significant. Een mogelijke verklaring hiervoor is een heterogene blootstelling aan de bestraling en een progressief intredende steriliteit bij die groepen welke het meeste straling ontvingen. Ten gevolge van dit "selectie" effect zouden latere bepalingen dus betrekking kunnen hebben op minder zwaar bestraalde ouders.

Voor geen der andere categorieën van bestudeerde effecten werd een significante afwijking van de controlepopulatie gevonden.

In een uitgebreide discussie van hun waarnemingen concluderen Neel en Schull dat zelfs een afwijking van 1.6 % van de geslachtsverhouding per 100 reps in hun materiaal niet zou kunnen worden ontdekt. Een recente voortzetting van de analyse van deze sex-ratio gegevens van Schull en Neel (1958) wordt onder c besproken. Neel en Schull zijn van mening dat op grond van wat bekend is over de stralengenetica van zoogdieren, in feite geen aantoonbare genetische effecten van de atoombommen zouden mogen worden verwacht. In elk geval is het niet geoorloofd op grond van deze negatieve waarnemingen te concluderen dat er geen mutaties zijn geïnduceerd. Bij experimenteel toegankelijk materiaal werd immers gevonden dat dominante mutaties tot de zeldzaamste categorie van mutaties behoren. Neel en Schull menen dat hun negatieve resultaten een aanwijzing geven dat de verdubbelingsdosis voor menselijke genen in goniale cellen niet lager is dan 10 rad.

b. Amerikaanse radiologen

Macht en Lawrence (1955) stelden een uitgebreid enquête-onderzoek in over congenitale afwijkingen bij kinderen van Amerikaanse radiologen. Hierbij werd een significante toename in vergelijking met een controlepopulatie vastgesteld. De frequentie der afwijkingen bedroeg 5.99 % bij 5461 nakomelingen der radiologen en 4.84 % bij 4484 kinderen van de controlegroep van niet aan bestraling blootgestelde artsen. Een gedetailleerde kritiek op verschillende punten van dit onderzoek vindt men in de publicatie van Neel en Schull (1956).

Het verschil tussen de bestraalde en de controlegroep blijft echter significant als de waarnemingen beperkt blijven tot hartafwijkingen.

Een soortgelijk, door Crow (1955) ingesteld enquête-onderzoek leverde geen positieve resultaten op.

c. Verandering van de geslachtsverhouding

Een van de meest bruikbare methodes om de mutatieinductie van bestraling te meten is gebaseerd op verschuivingen in de geslachtsverhouding of sex-ratio. Zonen ontvangen het X-chromosoom van de moeder; daarom zal na bestraling van de moeder de inductie van een recessieve, letale mutatie in het X-chromosoom de geslachtsverhouding ten gunste van de dochters verschuiven en dus lager worden. Dochters daarentegen ontvangen één X-chromosoom van de vader, zodat bij bestraling van de vader de inductie van een dominante letale mutatie in het X-chromosoom de sex-ratio ten gunste van de zonen zal verschuiven.

Het reeds onder a. genoemde artikel van Schull en Neel (1958) geeft een samenvatting van de genetische hypothesen die ten grondslag liggen aan het principe om de geslachtsverhouding als index voor mutaties in het X-chromosoom te gebruiken. Van belang is o.a. 1e. dat bij de mens het X- en Y-chromosoom geen homologe (d.w.z. gemeenschappelijke) gedeelten bezitten; 2e. dat het Y-chromosoom bij de mens genetisch inert is ^{*}), waardoor recessieve genen van het X-chromosoom zich kunnen manifesteren en waardoor bovendien geen typische "holandrische" aan het Y-chromosoom gekoppelde overerving optreedt. Voorts wordt aangenomen dat recessieve mutaties meer frequent door bestraling worden geïnduceerd dan dominante mutaties.

Een materiaal van Franse patiënten die voor therapeutische doeleinden een hoge gonadedosis ontvingen werd geanalyseerd door Turpin, Lejeune en Rethore (1956), vgl. ook Lejeune (1957). Hun waarnemingen zijn in de volgende tabel samengevat.

Aantal bestraalde ouders	Dosisbereik in rads	Geslachtsverhouding, ♂ / ♀ (n = totaal aantal nakomelingen)	
		Bestraalde ouders	Contrôles voor de bestraling
289 ♂♂	4-450	0.555 (n = 405)	0.514 (n = 696)
97 ♀♀	40-450	0.463 (n = 136)	0.550 (n = 236)

Vergelijking van de geslachtsverhouding van nakomelingen van bestraalde moeders met die van bestraalde vaders leverde een significante waarde op. Met behulp van de afname van de sex-ratio bij nakomelingen van bestraalde moeders berekenden deze auteurs een verdubbelingsdosis van 30 rad (vgl. ook U.N. rapport 1958).

Bij een interpretatie van sex-ratio gegevens doen zich echter complicaties voor, omdat deze beïnvloed wordt door verschillende factoren, waarvan de oorzaak ten dele nog onbekend is. Hiervoor moge worden verwezen naar de studie van Neel en Schull (1956, p. 200 e.v.), het U.N. rapport (1958) en naar Schull en Neel (1958).

^{*}) Recente onderzoeken hebben aangetoond dat het Y-chromosoom wel genen bezit voor de geslachtsbepaling in manlijke richting.

Macht en Lawrence bestudeerden eveneens de geslachtsverhouding in hun materiaal van nakomelingen van Amerikaanse radiologen. Hier treedt een afwijking op, die tegengesteld is aan de genetische theorie. Voor kritiek op het onderzoek van Macht en Lawrence, zie Neel en Schull (1951). Kaplan (1956) bestudeerde de sex-ratio bij nakomelingen van vrouwen, die een hoge dosis röntgenstraling op het ovarium ter voorkoming van ovulatiestoornissen hadden ontvangen. Hier werd een geringe verschuiving ten gunste van de dochters, dus in overeenstemming met de genetische uitgangshypothese, vastgesteld.

11. De verdubbelingsdosis

Als uitgangspunt om het mutageen effect van straling te meten, wordt veelal gebruik gemaakt van de verdubbelingsdosis. De natuurlijke mutatiefrequentie dient hierbij als richtlijn en vervolgens gaat men na, hoeveel straling benodigd is om deze te verdubbelen.

Een benadering van de verdubbelingsdosis brengt verschillende moeilijkheden mee.

De natuurlijke mutatiefrequentie omvat twee componenten. De ene bestaat uit mutaties die door natuurlijke stralingsbronnen verwekt worden; de andere is een gevolg van andere mutagene oorzaken (vgl. p.34).

De gonadedosis over een periode van 30 jaar afkomstig van natuurlijke stralingsbronnen is ongeveer 3 r. Als de natuurlijke mutatiefrequentie dan uitsluitend door straling veroorzaakt zou worden, zou de verdubbelingsdosis 3 r moeten zijn.

In experimenteel materiaal is het mogelijk om de fractie van de natuurlijke mutatiefrequentie te bepalen die een gevolg is van natuurlijke straling. Bij *Drosophila* is dit slechts 1/10.000. De prae-reproductieve periode bij de mens is echter 1000 maal zo groot als bij vliegen. De genen van de mens zijn derhalve aan een 1000-voudige hoeveelheid straling blootgesteld, als die van vliegen. Bij benadering is echter de spontane mutatiefrequentie bij de mens 5 maal zo hoog als bij *Drosophila*. Aangezien bij gelijke stralingsgevoeligheid het gedeelte van de spontane mutatiefrequentie dat door natuurlijke straling wordt veroorzaakt groter is naarmate de mutatiefrequentie geringer is, zou het gedeelte van de mutatiefrequentie dat bij de mens door straling wordt veroorzaakt $1000/5 \times 1/10.000 = 2$ percent moeten zijn.

Het reeds vroeger geciteerde mutatieonderzoek met de muis heeft uitgezeten dat de stralingsgevoeligheid van de genen bij de muis minstens 10 maal zo groot is als bij *Drosophila*. Wanneer wij aannemen dat menselijke genen één zelfde stralingsgevoeligheid bezitten als die van de muis zou dit betekenen dat $10 \times 2 \% = 20 \%$ van de spontane mutaties door natuurlijke straling wordt veroorzaakt.

De verdubbelingsdosis zou op grond van deze overwegingen, ontleend aan het Engelse rapport van de Medical Research Council (1956) dus 15 r of 150 r kunnen zijn.

In organismen die toegankelijk zijn voor experimenteel mutatieonderzoek werd een frappante overeenstemming van de verdubbelingsdoses gevonden. Deze variëren van 30-60 rad. In stuifmeelcellen van mais is deze 28 rad, in *Drosophila* spermatozoa 50 rad en in muizen spermatogonia 30 rad (gemiddelde van 7 recessieve autosomale loci).

Muller (1958) wijst er op dat de verdubbelingsdosis afhankelijk is van zowel de spontane mutatiefrequentie als van de stralingsgevoeligheid van het betreffende celstadium. De eerste waarde kan bij *Drosophila* met een factor 20 variëren, de tweede met een factor 12. Variaties in de verdubbelingsdosis met een factor 240 zijn derhalve mogelijk.

Het feit dat de verdubbelingsdosis bij organismen met een geheel verschillende generatieduur toch van dezelfde grootteorde is, wijst er op dat mutaties niet met een constante frequentie in de chronologische tijd toeneemen. Men moet derhalve aannemen dat bij organismen met een langere generatieduur een selectie voor lagere mutatiefrequenties heeft plaatsgevonden.

Ook moet men er rekening mee houden dat de stralingsgevoeligheid uiteenlopend is voor verschillende genen. Daarom spreekt men wel van een "representatieve verdubbelingsdosis", waaronder men dan een verdubbelingsdosis verstaat die de gemiddelde stralingsgevoeligheid vertegenwoordigt van genen voor een breed spectrum van erfelijke defecten bij de mens.

In het licht van bovengenoemde overwegingen en bij gebrek aan meer directe informatie komt zowel het Engelse als het Amerikaanse rapport (U.S. Nat. Ac. Sci. 1956) tot de conclusie dat de meest aannemelijke benadering van de verdubbelingsdosis binnen het dosistraject van 30-80 r ligt. Het U.N. rapport (1958) neemt aan dat de verdubbelingsdosis niet lager dan 10 rad en niet hoger dan 100 rad is, terwijl als gemiddelde waarde 30 rad wordt aangehouden.

Zelfs wanneer de verdubbelingsdosis relatief laag, dus 15 r zou zijn, lijkt het niet aannemelijk dat gedurende vredestijd een gehele populatie hieraan blootgesteld zal worden. Wel zal dit het geval kunnen zijn voor kleinere groepen, beroepsmatig aan straling blootgestelde personen. Men kan zich nu afvragen of er een redelijke kans bestaat dat bij de nakomelingen van deze groep een toename van genetisch bepaalde afwijkingen zal optreden.

Gezien de relatief hoge frequentie, waarmee genetisch bepaalde afwijkingen normaliter reeds voorkomen, is er bij blootstelling van een gering aantal individuen geen waarneembaar effect onder hun directe of latere nakomelingen te verwachten. Dit is alleen het geval wanneer de dosis voor de populatie als geheel van deze grootteorde zou zijn. Een quantitative benadering hiervan zal later worden besproken.

12. Natuurlijke stralingsdoses

Het onderzoek naar de hoeveelheid straling die afkomstig is van kunstmatige stralingsbronnen heeft ook tot meer onderzoek over de gonadedosis afkomstig van natuurlijke stralingsbronnen geleid. Deze straling is van verschillende herkomst en bedraagt gemiddeld 100 m rem per jaar. De herkomst van deze straling is in de volgende tabel weergegeven:

Kosmische straling	28
Locale gammastraling	47
(bodem en bouwmaterialen)	
Atmosferische straling	2
Kalium - 40	19
Koolstof - 14	1.6
Radon - Thoron	<u>2</u>
	100 m rem/jaar

Gedurende een reproductieve periode van 30 jaar bedraagt de natuurlijke straling dus 3 rem.

Deze waarden zijn lokaal verschillend en o.a. afhankelijk van de gebruikte bouwmaterialen (de locale gammastraling is groter in granieten huizen dan in bakstenen huizen) en van de hoogte (kosmische straling).

In sommige gebieden, waar de bodem een hoog thoriumgehalte bevat, zijn veel hogere doseringen voor uitwendige gammastraling gemeten. Kerala, in India, dat thoriumhoudende monazietzanden bevat, moge hier speciaal genoemd worden. De gemiddelde jaarlijkse dosis gammastraling bedraagt hier 1270 m rad. Het is te hopen dat bepalingen van de spontane mutatiefrequentie in dit gebied spoedig bekend zullen worden.

13. De genetisch significante dosis

Onder genetisch significante dosis wordt in het U.N. rapport (1958) een dosis verstaan, waarvan in de populatie een zelfde totale genetische schade verwacht mag worden, wanneer deze door ieder individu zou worden ontvangen, als in werkelijkheid wordt teweegebracht door de doseringen, waaraan de betreffende individuen zijn blootgesteld.

Deze formulering is gebaseerd op het principe dat de genetische schade bepaald wordt door de geaccumuleerde gonadedosis en dat er een lineair verband bestaat tussen dosis en mutageen effect. Voor een populatie als geheel beschouwd zal daarom een relatief grote dosis straling, welke enkele individuen treft, evenveel mutaties verwekken als kleine hoeveelheden straling waaraan velen zijn blootgesteld. Hierbij wordt uiteraard in aanmerking genomen dat voor beide groepen zowel de totale gonadedosis als de kans op nageslacht hetzelfde is geweest.

De genetisch significante dosis

$$D_j = d_j \cdot \frac{N_j}{N} \cdot \frac{w_j}{w}$$

d_j = gemiddelde gonadedosis per individu, dat het diagnostisch onderzoek van type j ondergaat

$\frac{N_j}{N}$ = de relatieve frequentie van het onderzoek van type j, m.a.w. het aantal bestralingen per hoofd per jaar

$\frac{w_j}{w}$ = gemiddelde kans op nageslacht van individuen die type j onderzoek ondergaan

De volgende tabel geeft waarden voor de genetisch significante dosis per jaar in m rem ten gevolge van röntgendiagnostiek voor verschillende landen (ontleend aan het U.N. rapport 1958).

	<u>minimale waarde</u>	<u>waarschijnlijke waarde</u>
Australië	28	160
Denemarken	17	
Engeland en Wales	23	
Frankrijk	57	
Zweden		38
U.S.A.	50 $\pm$ 30	150 $\pm$ 100

In de Verenigde Staten is de kunstmatige bijdrage aan de gonadedosis ten gevolge van röntgendiagnostiek dus bij benadering gelijk aan de hoeveelheid straling van natuurlijke bronnen.

Voorts is het van belang dat 85 % van de genetisch significante dosissen ten gevolge van röntgendiagnostiek terug te voeren is tot 6-7 types van onderzoek, waarbij het benedengedeelte van het abdomen en het bekken bestraald werden. Deze bestralingen echter maakten slechts 10 percent van het totale röntgendiagnostisch onderzoek uit.

Voor meer gedetailleerde gegevens moge worden verwezen naar ^{het}rapport van de Medical Research Council (1956) en het U.N. rapport (1958).

De volgende tabel geeft een schatting van de genetisch significante dosis van verschillende stralingsbronnen afkomstig, over een periode van 30 jaar.

Natuurlijke bronnen	3
Door de mens geproduceerde stralingsbronnen	0.5 - 5
Beroepsmatige blootstelling	0.06
Proefexplosies eindigend December 1958	0.010
Proefexplosies voortgezet totdat een evenwicht is bereikt na 100 jaar	0.060 - 0.12

De isotoop in radioactief neerslag afkomstig van proefexplosies, die de voornaamste bijdrage tot de gonadedosis leveren, is caesium 137. Een merkwaaardige bijzonderheid is dat in een hoogontwikkeld land als Engeland de gonadedosis afkomstig van horloges en klokjes met lichtgevend wijzerplaten ongeveer één percent van de natuurlijke stralingsdosis bedraagt.

14. De genetische gevolgen van ioniserende straling voor de volksgezondheid

Om de genetische effecten van straling voor een menselijke populatie te kunnen beoordelen wordt in het U.N. rapport de volgende procedure toegepast. In de eerste plaats gaat men na in welke mate menselijke populaties reeds belast zijn met de effecten van nadelige genen. Dan wordt onderzocht welk gedeelte van deze belasting een gevolg is van het geregeld optreden van nieuwe mutaties. Vervolgens bepaalt men de toename van de mutatiefrequentie in verhouding tot de spontane mutatiefrequentie, welke van een bepaalde dosis bestraling mag worden verwacht.

Om na te gaan of veranderingen in de mutatiefrequentie weerspiegeld zullen worden in de frequentie van een bepaalde eigenschap, is het van essentieel belang om te weten of de frequentie van dit kenmerk in de populatie berust op het evenwicht van mutatie enerzijds en eliminatie anderzijds.

Deze voorwaarden gelden in het algemeen slechts voor eigenschappen met een eenvoudige, monofactoriële overerving. Eén procent van alle levendgeborenen is gekenmerkt door dergelijke afwijkingen. De uitgebreide inventarisatie van Stevenson (1957) voor de populatie van Noord-Ierland heeft bij de vaststelling van deze waarden als richtlijn gediend. Hierbij zijn 110 verschillende mutaties betrokken, waarvan 72 autosomaal dominant, 30 autosomaal recessief en 8 geslachtsgekoppeld recessief worden overgeërfd.

Behalve de reeds genoemde mutaties, is 3 percent van alle levendgeborenen door afwijkingen gekenmerkt, waarvan de overerving meer gecompliceerd is. Ook van deze mutaties wordt echter een toename verwacht bij een kunstmatige verhoging van de mutatiefrequentie.

Op grond van deze gegevens laat zich berekenen dat bij een verdubbelingsdosis van 10-100 r, het aantal afwijkende individuen tussen de 100 en 4000 per miljoen per r per generatie zal liggen. Deze toename zal echter eerst tot uiting komen wanneer zich in de populatie een nieuw evenwicht tussen het ontstaan en de eliminatie van mutaties heeft ingesteld. Bij éénmalige blootstelling van één generatie zullen bovengenoemde aantallen de totale schade, gespreid over een groot aantal generaties, voorstellen. Wanneer iedere generatie aan een bepaalde hoeveelheid kunstmatige straling is blootgesteld, kan een toename van het aantal afwijkende individuen variërend tussen 0.01 en 0.4 percent van de populatie per generatie worden verwacht. Uiteraard zal ook hier geruime tijd overheen gaan, d.w.z. tot zich een nieuw evenwicht heeft ingesteld.

Naast bovengenoemde kenmerken, welke door specifieke genen worden bepaald, zijn er verschillende andere eigenschappen, zoals intelligentie, levensduur en fertiliteit, waarvan de overerving alleen met statistische methodes kan worden nagegaan.

Wat betreft intelligentie, wellicht één der meest belangrijke, erfelijk bepaalde kenmerken bij de mens, wordt verwacht dat nieuwe mutaties van de hiervoor verantwoordelijke genen tot een gemiddeld lagere intelligentie zullen leiden.

Ook de levensduur zal ten ongunste worden beïnvloed door een verhoging van de mutatiefrequentie. Een verkorting van de levensduur werd door Russell (1957 a en b) als een index gebruikt voor mutaties met nadelig effect in heterozygote toestand. Na bestraling met 186 rep neutronen van een proef-explosie trad een significante verkorting van de levensduur bij de directe nakomelingen van bestraalde manlijke muizen op. Deze was gemiddeld 0.01 dag per rep. Omgerekend op een levensduur van 70 jaar voor de mens en rekening houdend met een grotere R.B.E. waarde van neutronen zou per röntgeneenheid bestraling van de mens een levensduurverkorting van 1-10 dagen bij zijn nakomelingen mogen worden verwacht.

De gevolgen van een verhoging van de mutatiefrequentie zullen echter niet beperkt blijven tot een toename van genen verantwoordelijk voor de duidelijk omschreven afwijkingen. Bij de mutatiestudies met *Drosophila* is immers gebleken dat mutaties met een gematigd ongunstig effect veel talrijker optreden dan mutaties die duidelijk waarneembare afwijkingen veroorzaken. Dit meest voorkomende type mutaties veroorzaakt alleen een statistische toename van de mortaliteit; men denke hierbij aan een grotere embryonale of monatale sterfte, verlaagde overlevingskans vóór of binnen de reproductieve leeftijd, verminderde weerstand tegen infectieziekten en verlaagde fertiliteit. De kans, dat dergelijke recessieve mutaties in een organisme als de mens van beide ouders worden overgeërfd en dus homozygoot voorkomen, is zeer gering. In het voorgaande bespraken wij reeds dat er verscheidene aanwijzingen zijn dat ook ogenschijnlijk recessieve genen met letaal nadelig effect, een zekere mate van dominantie manifesteren (p. 47). Men neemt aan dat als gevolg van deze partiële dominantie, eliminatie van dergelijke mutaties bij de mens voornamelijk in heterozygote toestand zal plaatsvinden.

De consequenties van mutaties met gematigd ongunstige effecten voor de genetische volksgezondheid van de populatie zijn echter in feite niet geringer dan van mutaties met uitgesproken nadelige effecten. Mutaties met een geprononceerd effect zullen in betrekkelijk korte tijd uit de populatie geëlimineerd worden, maar mutaties die de overlevingskans in de reproductieve periode in geringe mate verlagen, zullen een groter aantal generaties worden overgeërfd en naar verhouding meer individuen belasten. Soms wordt de vraag gesteld of van een verhoging van de mutatiefrequentie geen evolutionistische vooruitgang bij de mens kan worden verwacht. Dit lijkt op ver-

schillende gronden in hoge mate onaannemelijk. Bij organismen zoals granen, die bestraald werden met het oogmerk gunstige mutaties te verkrijgen, bleken op iedere gunstige mutatie ongeveer 1000 mutaties met nadelig effect door de straling te zijn verwekt. Evenmin kan men verwachten dat bij de geciviliseerde mens individuen met een gunstige mutatie een grotere nakomelingschap zullen achterlaten.

Ook is het niet aannemelijk dat geheel nieuwe mutaties door kunstmatige straling zullen worden geïnduceerd, want vanaf zijn ontstaan op aarde is de mens reeds aan natuurlijke straling blootgesteld geweest.

15. Een kwantitatieve benadering van de totale mutatieschade

In de nu volgende tabel is een schatting van de verschillende genetische effecten in een menselijke populatie na bestraling met een dosis van 10 r weergegeven. Deze gegevens zijn ontleend aan Crow (1957). Hierbij is een dosis van 10 r gekozen, omdat in het rapport van de Amerikaanse Academie van Wetenschappen (1956) deze dosis als uiterste tolerantiegrens voor de reproductieve periode tot het 30e jaar wordt gesteld. De effecten zijn berekend op een populatie, welke in omvang vergelijkbaar is met de bevolking van Nederland.

Effect	Aantal gevallen per 10 miljoen	
	De eerste generatie	Het totale effect
1. Achondroplasie	50	60
2. Ernstige geestelijke of lichamelijke afwijkingen	4.000	40.000
3. Kindersterfte	8.000	200.000
4. Embryonale en neonatale sterfte	20.000	400.000
5. Totaal aantal "genetische dood"	30.000	500.000

Een benadering van de genetische effecten, welke veroorzaakt worden door een dosis van 10 r in een menselijke populatie van 10 miljoen individuen. In de eerste kolom is het effect in de eerste generatie weergegeven. De tweede kolom kan op twee manieren worden geïnterpreteerd: ten eerste als het totale effect gerekend over alle toekomstige generaties, wanneer één generatie werd blootgesteld aan een dosis van 10 r; ten tweede als het effect per generatie, wanneer een groot aantal opeenvolgende generaties aan een dosis van 10 r is blootgesteld geweest. De door straling geïnduceerde mutatiefrequenties zijn gebaseerd op experimenteel onderzoek met de muis.

De wijze waarop deze schattingen door Crow berekend zijn, zal kort worden toegelicht.

1. Het effect op de frequentie van specifieke klinische afwijkingen

Voor deze eerste categorie is de veel voorkomende, dominante mutatie achondroplasie gekozen. Het effect hiervan zal zich hoofdzakelijk in de eerste generatie manifesteren, terwijl als gevolg van de sterk verminderde levensvatbaarheid bij individuen met dit gen, het effect op latere generaties relatief gering is. Om het aantal mutaties te benaderen, dat door 10 r geïnduceerd wordt, is de mutatiefrequentie per genlocus van 2.5×10^{-6} voor bestraling met 10 r bij muizen gebruikt. Bij bestraling van beide ouders met 10 r zullen dan 5 nieuwe mutaties per miljoen nakomelingen worden geïnduceerd.

2. Ernstige geestelijke en lichamelijke afwijkingen

Volgens gegevens vermeld in het rapport van de Amerikaanse Academie van Wetenschappen (1956) heeft 5 procent van alle levend geboren kinderen een ernstige geestelijke of lichamelijke storing, waarvan de helft een genetische oorzaak heeft. Crow heeft bij zijn schatting een frequentie van 2 procent genetisch bepaalde afwijkingen aangehouden. De stralingsdosis, welke dit aantal zal verdubbelen, werd op 50 r gesteld. Bij voortdurende blootstelling aan 10 r zal de totale toename van dergelijke gevallen in de door ons gekozen populatie dus $1/5 \times 0.02 \times 10^7 = 40.000$ bedragen. Overwegende dat een groot gedeelte van dergelijke afwijkingen bij de mens door dominante overerving is gekenmerkt, heeft Crow aangenomen, dat 10 procent van deze gevallen zich in de eerste generatie zal manifesteren.

3. Kindersterfte

Voor deze berekening werd gebruik gemaakt van de toename in mortaliteit vanaf de geboorte (doodgeborenen meegerekend) tot ongeveer het 18e jaar, bij nakomelingen van huwelijken tussen bloedverwanten. Op deze wijze werd door Morton, Crow en Muller (1956) een aanwijzing verkregen over de belasting met nadelige genen, welke normaliter verborgen blijft. Zonder inteelt wordt als doodsoorzaak ten gevolge van deze natuurlijke belasting met mutaties een waarde van ongeveer 10 procent aangenomen. Wanneer men wederom aanneemt, dat 10 r $1/5$ is van de verdubbelingsdosis, wordt de totale genetische schade van deze factoren 0.02. Op grond van verschillende overwegingen wordt een dominantie van 4 procent aangenomen.

4. Embryonale en neonatale sterfte

Deze schatting is gebaseerd op gegevens van Russell (1956), die een reductie van de worpgrootte van 3-4 procent vaststelde bij vrouwelijke muizen, welke met mannetjes gepaard waren die 300 r ontvangen hadden. Wanneer beide ouders met 10 r bestraald worden, zal dit effect in de eerste generatie 0.0023 bedragen. Voor een berekening van de totale schade werd aangenomen, dat 6 procent zich in de eerste generatie manifesteert, zodat een waarde van 0.038 wordt gevonden.

5. Totaal aantal "genetische dood"

Om de schade te omschrijven, welke door mutaties wordt veroorzaakt, gebruikt Muller (1950) het begrip "genetische dood". Deze term berust op het principe, dat in een populatie van constante grootte iedere generatie het aantal nadelige genen zal afnemen, omdat de kans op nageslacht bij de dragers van deze genen verminderd is door geringere levensvatbaarheid en fertiliteit. Genetische dood staat gelijk met het verdwijnen van het betreffende gen in een bepaalde lijn door vóórtijdige dood of steriliteit. Hierbij zal het duidelijk zijn, dat het totaal aantal malen, dat eliminatie door genetische dood optreedt, bij benadering gelijk is aan het aantal mutaties.

In muizen bedraagt de frequentie, waarmee mutatie per genlocus na bestraling met 10 r optreedt 2.5×10^{-6} . In *Drosophila* is de kans op het voorkomen van opspreekbare mutaties met nadelig effect, over het hele genoom gerekend, 10.000 maal zo groot als de kans op mutatie van één specifieke genlocus. Wanneer beide ouders de (factor 2) met 10 r bestraald worden, is de totale kans op mutatie $2 \times 2.5 \times 10^{-6} \times 10.000 = 0.05$. Dit aantal van 500.000 mutaties in een populatie van 10 miljoen kan dus volgens bovengenoemde principes met het aantal eliminaties door "genetische dood" gelijkgesteld worden. Het effect in de eerste generatie is hier wederom op 6 procent of 0.003 berekend.

Een onzekere factor bij al deze schattingen is, dat de door straling geïnduceerde mutatiefrequenties betrekking hebben op de muis. Bij gebrek aan gegevens in dit opzicht bij de mens, zijn wij voor een kwantitatieve benadering van de door straling verwekte mutatieschade voorlopig nog op het onderzoek met muizen aangewezen.

De categorieën 3 en 4 overlappen elkaar ten dele, omdat in beide groepen doodgeborenen en neonatale sterfte zijn verwerkt. Effecten op de fertiliteit, die zonder twijfel talrijk zijn, werden echter bij geen der omschreven groepen opgenomen. Zelfs bij de *Drosophila* gegevens, waarop de schatting voor "genetische dood" gebaseerd is, werd een vermindering van de fertiliteit niet in rekening gebracht. Ook zijn mutaties met zeer geringe effecten hier niet meegerekend, zodat de waarde voor categorie 5 een wezenlijke onderschatting inhoudt.

Wanneer wij aannemen, dat de in de tabel op blz. 75 gegeven schattingen redelijk betrouwbaar zijn, blijft de beoordeling van de verschillende categorieën van genetische effecten toch in hoge mate een kwestie van persoonlijk inzicht.

Voor sommige genetici zal een meer exact voorspelbare toename van de reeds bekende erfelijke ziekten zwaarder wegen. Dit standpunt komt o.a. naar voren in het U.N. rapport (1958). Om het gevaar van onderschatting te voorkomen zullen anderen geneigd zijn meer waarde te hechten aan een benadering van de totale genetische schade, hoewel deze minder scherp omschreven kan worden.

Crow is van mening, dat een tolerantiedosis van 10 r niet onredelijk moet worden geacht; het Amerikaanse rapport (1956) citerend: "not harmless, mind you, but reasonable". De genetische schade door een dosis van 10 r te weeggebracht vormt, hoewel niet te verwaarlozen, slechts een klein gedeelte van het totaal aan menselijk leed, dat uit andere oorzaken voortkomt.

De correctie van dergelijke tolerantiedoses hangt in hoge mate af van voortgezet onderzoek. Meer informatie over de verdubbelingsdoses bij de mens zou ons bijvoorbeeld kunnen leren hoe de geïnduceerde mutatieschade zich verhoudt tot het aantal mutaties, dat spontaan optreedt. Pro memorie zij vermeld, dat het "International Committee on Radiological Units" en het "International Committee on Radiological Protection" een tolerantiedosis over de gehele bevolking voorschrijft van 5 r tot het 30e jaar, straling van medische toepassingen niet meegerekend.

Een dosis van 10 r is zeer bepaald niet zonder schadelijke gevolgen en hetzelfde geldt in feite voor iedere hoeveelheid straling, welke de gonaden binnen de reproductieve leeftijd treft. Elk geval van ziekte of dood, dat kan worden voorkomen, is uit algemeen menselijk oogpunt van betekenis. Een substantiële toename van het aantal gevallen dat sociale hulp en verzorging behoeft, zal echter ook door de gemeenschap als een collectieve, maatschappelijke zorg worden ervaren. Zorgvuldige overweging van de voor- en nadelen van de toepassing van straling is derhalve gewenst onder alle omstandigheden, waarbij een verhoging van het stralingsniveau van menselijke populaties verwacht kan worden. Hierbij wake men er voor de blootstelling van de gonaden aan straling tot het uiterste minimum te beperken.

IV. LITERATUUR

Als algemeen genetisch leerboek wordt aanbevolen:

Sinnot, E.W., L.C. Dunn en Th. Dobzhansky

Principles of Genetics. McGraw-Hill Book Cy. Inc. (New York) 5th ex. (1958).

Een aantrekkelijk voor de belangstellende leek geschreven boekje is:

Auerbach, C.

Genetics in the atomic age. Oliver and Boyd, Edinburgh (1956).

Goede samenvattingen over het genetisch effect van ioniserende straling geven de volgende rapporten:

The hazards to man of nuclear and allied radiation. Medical Research Council. Her Majesty's Stationery Office, London (1956).

The biological effects of atomic radiation and excerpts from pathological effects on atomic radiation. Studies by the Nat. Acad. Sci., National Research Council, Washington (1956).

The nature of radioactive fall out and its effects on man. Hearings before the special subcommittee in radiation of the joint committee on atomic energy Congress of the United States, U.S. Government Printing Office, Washington (1957). Part 2.

Report of the United Nations Scientific Committee on the effects of atomic radiation. New York (1958).

Een gedetailleerde behandeling van de stralengenetica geeft:

Muller, H.J.

The Nature of the genetic effects produced by radiation; the manner of production of mutations by radiation, in Radiation Biology, ed. by A. Hollaender. New York, McGraw-Hill Book Cy. Inc., 1954 (pp. 351-626).

Verschillende problemen over het genetisch effect van straling op de mens worden behandeld in:

Effect of Radiation on Human Heredity. Report of a study group convened by W.H.O. together with papers presented by various members of the group. World Health Organization, Genève (1957).

De met een * gemerkte literatuuropgaven kunnen als overzichtsartikelen ter lezing worden aanbevolen.

- Alper, T., in Les peroxydes Organiques en Radiobiologie, p. 131, ed. R. Latarjet, Masson et Cie., Parijs (1958).
- Alper, T. and P. Howard Flanders, Nature, 178, 978 (1956).
- * Auerbach, C., Experientia 13, 217 (1957).
- * Auerbach, C., in Genetik Wissenschaft der Entscheidung, p. 132, Alfred Kröner Verlag, Stuttgart (1957).
- Baker, W.K. and E. Sgourakis, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 36, 176 (1950).
- Benzer, S., in The Chemical Basis of Heredity, p. 70, ed. W.D. McElroy and B. Glass, Johns Hopkins Press, Baltimore (1957).
- * Crow, J.F., Eugenics Quarterly, 43, 201 (1956).
- * Crow, J.F., Eugenics Quarterly, 4, 67 (1957).
- Giles, N.H., in Symp. on radiobiology, John Wiley and Sons Inc., New York, p. 267 (1952).
- * Gray, L.H., in Les Peroxydes Organiques en Radiobiologie, p. 104, ed. R. Latarjet, Masson et Cie., Parijs (1958).
- Hershey, A.D. and M. Chase, J. Gen. Physiol. 36, 39 (1952).
- Lea, D.E. and D.G. Catcheside, J. Genetics, 47, 41 (1945).
- Lejeune, J., in Effect of Radiation on Human Heredity, W.H.O., Genève (1957).
- Macht, S.H. and P.S. Lawrence, Amer. J. Roentgenol., 73, 442 (1955).
- Muller, H.J., Science, 66, 84 (1927).
- * Muller, H.J., J. Heredity 38, 259 (1947).
- Muller, H.J., Am. J. Human Genetics, 2, 111 (1950).
- * Muller, H.J., in Science in Progress, 7th Series, p. 93, Yale University Press, New Haven (1951).
- * Muller, H.J., in Symp. on Radiobiol. p. 296, John Wiley and Sons (1952).
- * Muller, H.J., in Radiation Biology, ed. A. Hollaender, McGraw-Hill Inc., New York (1954).
- * Muller, H.J., Bull. Atomic Scientists 11, 329 (1955).
Genève voordracht 1955.

- Muller, H.J., in Mutation, p. 126 Symposium Brookhaven, Nat. Lab. Upton, New York (1955).
- Muller, H.J., Acta Genetica et Statistica Medica 6, 157 (1956).
- Muller, H.J., in Effect of Radiation on Human Heredity, 25, W.H.O., Genève (1957 a).
- * Muller, H.J., Hearings, 1049 (1957 b).
- * Muller, H.J., Exc. Med. XIV, Rad. 11, 223 (1957 c).
- Muller, H.J., Second U.N. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy Genève, 15/P/893 (1958).
- Muller, H.J. and I.I. Oster in Advances in Radiobiol., p. 407, ed. G.C. de Hevesy, A.G. Forrsberg and J.D. Abbatt, Oliver and Boyd, Edinburgh (1957).
- Muller, H.J., J.I. Valencia and R.M. Valencia, Genetics 35, 125 (1950).
- Morton, N.E., J.F. Crow and H.J. Muller, Proc. Nat. Acad. Sci., (Wash.), 42, 855 (1956).
- Neel, J.V. and W.J. Schull, The effect of exposure to the atomic bombs on pregnancy termination in Hiroshima and Nagasaki. Nat. Acad. Sci. - Nat. Research Council, Wash. (1956).
- Neel, J.V. and W.J. Schull, Nat. Research Council, Science, 128, 343 (1958).
- Oster, I.I., Genen en Phaenen, 3, 53 (1958).
- Quastler, H., Proc. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Genève, U.N. New York, Vol. 11, 121 (1956).
- Russell, W.L., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 16, 327 (1951).
- * Russell, W.L., in Radiation Biology, ed. G.A. Hollaender, McGraw-Hill, New York, pp. 825-859 (1954).
- Russell, W.L., Proc. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, 2, 382 (1956).
- Russell, W.L., Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 43, 324 (1957).
- * Russell, W.L., Hearings, part 2, 1085 (1957).
- Russell, W.L. and L.B. Russell, in Progress in Radiobiology, p. 187, ed. by J.S. Mitchell, B.E. Holmes and L.L. Smith (1956).
- Russell, W.L. and L.B. Russell, Proc. Second U.N. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Genève 15/P/897 (1958).

- Russell, W.L., L.B. Russell and M.B. Cupp, Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 45, 18 (1959).
- * Russell, W.L., L.B. Russell and E.M. Kelly, Science, 128, 1546 (1958).
- * Russell, W.L., L.B. Russell and E.F. Oakberg, in Radiation Biology and Medicine, p. 189, ed. W.D. Claus, Addison-Wesley Publ. Cy. Inc., Reading, Mass (1958).
- Sacher, G.A., Radiology, 67, 250 (1956).
- Schull, W.J. and J.V. Neel, Science 128, 343 (1958).
- Sobels, F.H., in Advances in Radiobiology, p. 449, ed. G.C. de Hevesy, A.G. Forrsberg and J.D. Abbatt, Oliver and Boyd, Edinburgh (1957).
- Sobels, F.H., in Les Peroxydes Organiques en Radiobiologie, p. 73, ed. R. Latarjet, Masson et Cie., Parijs (1958).
- * Sobels, F.H., Vakblad voor Biologen, 38, 169 (1958).
- Sobels, F.H., Drosophila Information Service 32, 159 (1958).
- * Sobels, F.H., inaugurele rede, J.B. Wolters, Groningen 1959.
- Stadler, L.J., Proc. Nat. Acad. Sci., (Washington), 14, 69 (1928).
- Stadler, L.J., Science 68, 186 (1928).
- Stadler, L.J., Anat. Record 41, 97 (1928).
- Stadler, L.J., Science 120, 811 (1954).
- Stadler, G.E. and A. Hollaender, J. Cell. Comp. Physiol. 39, 101 (1952).
- Stevenson, in Report U.N. Scientif. Committee on the Effects of Atomic Radiation, p. 197 e.v. (1958).
- Stern, C., G. Carson, M. Kinst, E. Novitski and D. Uphoff, Genetics, 37, 413 (1952).
- Stone, W.S., in Mutation, p. 171, Symposium Brookhaven Nat. Lab., Upton, New York (1955).
- Stone, W.S., O. Wyss and F. Haass, Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 33, 59 (1947).
- Thoday, J.M. and J. Read, Nature, 160, 608 (1947).
- * Timoféeff-Ressovsky, N.W., Experimentelle Mutationsforschung in der Vererbungslehre. Beeinflussung der Erbanlagen durch Strahlung und andere Faktoren, T. Steinkopf, Leipzig (1937).

Timoféeff-Ressovsky, K.G., Zimmer und M. Delbrück, Nachr. Ges. Wiss.
Göttingen (Math.-phys. Kl., Biol.) N.F. 1, 190 (1935).

Turpin, R., J. Lejeune and M.O. Rethore, Proc. 1st. Intern. Congr.
Human Genet. 1, 204 (1957).

Uphoff, D.E. and C. Stern, Science, 109, 609 (1949).

Watson J.D. and F.H.C. Crick, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 18,
123 (1953).