

Het potentieel van morfologische en fysiologische informatie voor het classificeren van chemische stoffen in het zebravisembryo

Evelyn Stinckens

Biologie, Dierengeneeskunde, Exacte wetenschappen

Vissen naar een nieuw proefkonijn: het zebravisembryo

Wereldwijd worden er duizenden chemische stoffen geproduceerd. Pesticiden, geneesmiddelen, plastics, parfums en nog veel andere chemicaliën komen in de omgeving terecht en kunnen ernstige gevolgen hebben voor het milieu en de menselijke gezondheid. Daarom is het belangrijk om de gevaren van deze chemische stoffen goed te kunnen inschatten. Met de huidige testmethoden zullen 2,6 miljoen proefdieren het leven moeten geven, willen we voldoende informatie verzamelen over de effecten van de vandaag gekende chemicaliën. Daarom zoeken wetenschappers alternatieven om de bestaande dierproeven te vervangen. Het zebravisembryo komt hier steeds meer voor in aanmerking.

Aangeboren afwijkingen zoals het Downsyndroom, een open ruggetje (Spina bifida), een waterhoofd (hydrocefalus) of dwerggroei doen bij veel mensen waarschijnlijk een belletje rinkelen. Wist u ook dat zowaar 3% van alle baby's geboren worden met dergelijke ernstige afwijkingen? In 5 à 10% van deze gevallen worden de aangeboren aandoeningen veroorzaakt door zogenaamde teratogene stoffen. Dit zijn chemicaliën die de normale ontwikkeling van het embryo en/of de foetus verstoren. Het is dan ook van groot belang om teratogene gevaren te identificeren om op die manier blootstelling aan zulke stoffen zoveel mogelijk te vermijden, vooral bij vruchtbare vrouwen.

Vroege levensstadia zijn bijzonder gevoelig aan de nadelige effecten van chemische stoffen. Net deze stadia zijn helaas het moeilijkst te onderzoeken. De meeste zoogdieren, waaronder de mens, ontwikkelen een bevrucht embryo binnenin de baarmoeder. De baarmoeder vormt hierbij een beschermende barrière zodat het moeilijk wordt om het embryo grondig te kunnen onderzoeken zonder de ontwikkeling te verstoren. Bijgevolg ontbreekt de nodige informatie over de toxiciteit van veel chemicaliën die nodig is om de gevaren van deze stoffen in te schatten. Om deze reden werd de Europese REACH-wetgeving ingevoerd. REACH staat voor de Registratie, Evaluatie en Autorisatie van Chemische stoffen. Door middel van deze wetgeving wordt getracht de omgeving en de menselijke gezondheid te beschermen. Volgens de REACH-wetgeving moet er zoveel mogelijk informatie verzameld worden over de toxiciteit van alle chemicaliën die geproduceerd worden in meer dan 1 ton per jaar. Met man en macht tracht men deze doelstelling te bereiken. Momenteel wordt hiervoor gebruik gemaakt van dure en tijdrovende testmethoden. Hierdoor zou het testen van alle chemische stoffen tientallen jaren in beslag nemen met een kostenplaatje van ongeveer 1,5 miljard euro. Om voldoende informatie te verkrijgen moeten bovendien ongeveer 2,6 miljoen proefdieren, zoals muizen, konijnen en ratten, het leven laten. De industrie is daarom dringend op zoek naar alternatieve methoden om informatie te verzamelen over de gevaren van chemicaliën. Vooral onder ethische, politieke en sociale druk worden zoveel mogelijk inspanningen geleverd om testen met proefdieren te vervangen. Het Europese Centrum voor de Validatie van Alternatieve Methoden (ECVAM) heeft criteria opgesteld voor een bruikbare, alternatieve test. Deze criteria omvatten onder andere een eenvoudig verloop van de test, een minimaal gebruik van proefdieren, een aanvaardbare kostprijs en de mogelijkheid om de verkregen informatie in relatie te brengen tot de mens.

De embryo's en niet-voedende larven van de zebravis (*Danio rerio*) bieden een goedkope en efficiënte oplossing. De zebravis wordt in toenemende mate erkend als een veelbelovend alternatief testorganisme voor onder andere knaagdieren. Momenteel wordt deze al gebruikt in studies naar embryonale ontwikkeling, genetische studies en screening van geneesmiddelen. De zebravis is een

tropische zoetwatervis van ongeveer drie centimeter lang, oorspronkelijk afkomstig van de rivieren van India en Zuid-Azië. De verschillende stadia in de ontwikkeling van de zebravis werden reeds duidelijk beschreven in de literatuur. Op 24 uren na de bevruchting kan een kloppend hartje waargenomen worden. De embryo's verlaten hun transparante eiscaal, de chorion genaamd, op 2 à 3 dagen na de bevruchting en op 5 dagen zijn de belangrijkste organen gevormd. Deze vissen hebben met andere woorden een zeer snelle ontwikkeling. De organen van de zebravissen zijn verrassend genoeg erg gelijkaardig aan deze van zoogdieren en de mens, zoals het zenuwstelsel, het excretiestelsel (met o.a. de nieren) en het spijsverteringsstelsel (met o.a. de lever en pancreas).

De vele voordelen van deze soort verklaart de opkomst van de zebravis als modelorganisme voor experimentele studies. Het belangrijkste voordeel van het gebruik van zebravisembryo's is dat het geen proefdieren zijn volgens de Europese wetgeving. Een embryo is immers een ontwikkelingsstadium dat volgens deze richtlijnen niet beschermd wordt. Dit geldt totdat de vis zichzelf kan voeden (5 dagen na de bevruchting).

Een tweede voordeel is dat zebravissen zich zeer snel kunnen voortplanten met een grote productie van eitjes. Een vrouwtje kan het hele jaar door tot vierhonderd eitjes leggen per week, terwijl muizen er drie weken over doen om slechts 10 kleintjes te baren. Een derde voordeel is een beperkt en goedkoop onderhoud. Vergeleken met 90 cent per dag voor vijf muizen in een kooi, kost het maar 6,5 cent voor een tank van ongeveer een dozijn vissen. Tot slot vindt de ontwikkeling van de embryo's buiten het lichaam van de moeder plaats en zijn de eitjes transparant. Hierdoor kunnen onderzoekers de visjes letterlijk zien groeien en ontwikkelen. De zebravisembryo's lenen zich bijgevolg bijzonder goed tot het bestuderen van ontwikkelingsafwijkingen. Tijdens mijn recent onderzoek gebruikte ik deze zebraviseitjes als testorganisme. Uit mijn studie bleek dat een identificatie van teratogene stoffen mogelijk wordt door het observeren van deze zogenaamde morfologische afwijkingen. Een humane blootstelling aan deze chemische stoffen kan vervolgens vermeden worden.

Het zebravisembryo is dus een bijzonder goed alternatief testorganisme om informatie te verkrijgen over de nadelige effecten van chemische stoffen. Door deze soort in de toekomst meer te gebruiken in experimenten, verkrijgen we een drastische daling van het gebruik van proefdieren. De zebravis wordt een modelorganisme voor zoogdiertoxiciteit genoemd. In mijn onderzoek stelde ik immers een groot aantal gelijkenissen vast met zebravisembryo's en verscheidene zoogdieren, maar ook met de mens. De informatie die we kunnen vergaren aan de hand van zebravisembryo's is van immens belang. De onderzoeksresultaten kunnen gebruikt worden om de gevaren van chemische stoffen voor de mens voldoende te leren inschatten, zodat het aantal aangeboren afwijkingen kan dalen.