

N.B. Het kan zijn dat elementen ontbreken aan deze printversie.

Tegen de klok in

Als een muis twee genen (Cry1 en Cry2) mist, komt zijn biologische klok in het donker tot stilstand. Maar na een korte lichtpuls draait de klok nog precies een volledige cyclus.

 Sander Voormolen  6 juli 2002

 Leestijd 2 minuten

Het licht gaat uit en de deur op slot. Net als bij het ontwikkelen van lichtgevoelige film kan ieder sprankje licht het resultaat bederven. De neurofysiologe Joke Meijer van het Leids Universitair Medisch Centrum en collega Henk Albus moeten zeer zorgvuldig te werk gaan bij het uitprepareren van de biologische klok van de rat omdat iedere lichtpuls het ritme van hun biologische klok kan verstoren. Pas nadat de oogzenuwen zijn doorgesneden mag het licht weer aan.

Razendsnel gaan de onderzoekers te werk, want de cellen van de biologische klok moeten in leven blijven. Krap vier minuten later liggen er twee minuscule hersenplakjes met de biologische klok in een bakje met fysiologische vloeistof. In een geavanceerde opstelling waarin de plakjes constant van verse vloeistof en zuurstof worden voorzien, steekt Albus voorzichtig een ultradunne elektrode in het hersenweefsel. Zo kan de elektrische activiteit van de biologische klok minstens 48 uur gevolgd worden.

Via een soortgelijk experiment ontdekte Meijer dat muizen die door een dubbele mutatie de twee klokgenen Cry1 en Cry2 missen, geen autonoom ritme van de biologische klok meer hebben. De resultaten worden gepubliceerd in het komende nummer van *Current Biology* (9 juli). ``Bij eerder onderzoek naar het stilleggen van andere klokgenen bleef altijd nog wel ergens een 24-uursritme over. Bij ons staat echt alles stil'', aldus Meijer.

In 1997 stuitte de Rotterdamse geneticus Bert van der Horst bij toeval op twee tot dan toe onbekende klokgenen; Cry1 en Cry2, samen de cryptochromen genoemd. De Rotterdammers maakten knockout-muizen die één van beide of beide genen miste. Bij muizen die het eiwit Cry1 niet kunnen aanmaken, gaat de biologische klok voor lopen. Muizen die Cry2 missen hebben juist een iets vertraagde klok. En dubbelmutanten, muizen die beide eiwitten missen, lieten in het donker geen enkel ritme meer in hun activiteitenpatroon zien.

Maar nog niet duidelijk was of het gedrag van de dubbelmutanten daadwerkelijk was toe te schrijven aan het staken van de biologische klok. Daarom analyseerde Meijer de elektrische activiteit van de biologische klok in uitgeprepareerde hersenplakjes van de muizen.

Meijer: ``We hadden verwacht dat de biologische klok een dubbele Cry-knockout volledig a-ritmisch zou zijn, net als uit de eerdere gedragsproeven was gebleken. Maar dat bleek niet het geval: de biologische klok maakte tot onze verbazing nog een volledige cyclus van 24 uur af, om daarna stil te vallen."''

Hersenplakjes

Meijer deed de metingen aanvankelijk aan hersenplakjes van muizen die voor het uitprepareren van de biologische klok nog twee uur aan het licht waren blootgesteld. Maar toen zij in een volgende proef hersenplakjes van muizen gebruikte die twaalf uur later in de cyclus zaten, voor welke dieren het dus net twee uur donker was, bleek de cyclus geheel afwezig. Meijer: ``Die uitkomst impliceert dat een lichtpuls in staat is om de afwezigheid van een gen te compenseren. Of nog algemener geformuleerd: een omgevingsstimulus kan een ontbrekend gen compenseren. Dat is een interessante observatie."''

Onder normale omstandigheden merken de muizen dus niets van hun gendefect, omdat hun interne klok telkens wordt bijgesteld door het dag-nachtritme. Maar waarom is zo'n klokgen dan niet allang in de evolutie verloren gegaan? Volgens Meijer is een intern ritme voor een dier van levensbelang, omdat het daarmee kan anticiperen op de omgeving. ``Een nachtdier gaat al voor het aanbreken van de dag naar zijn hol. Het gehalte aan stresshormoon cortisol in het bloed van de mens stijgt al voordat we opstaan, ter voorbereiding van de activiteit die komen gaat. Ook dient de biologische klok om verschillende ritmes in het lichaam te synchroniseren."''

De biologische klok van zoogdieren ligt in een tweevoudige hersenkern in de 'bodem' van de hersenen, vlak boven het punt waar de oogzenuwen kruisen (het chiasma). Aan die ligging ontleent de kern zijn officiële naam, de suprachiasmatische nucleus (SCN). De klok helpt dieren om hun fysiologie aan te passen op het 24 uursritme van dag en nacht. De klok wordt telkens bijgesteld door het daglicht. Bij langdurige duisternis gaat de klok zijn eigen ritme volgen, wat voor de muis neerkomt op net iets minder dan 24 uur, bij de mens ligt dat autonome ritme op zo'n 25 uur.

De Leidenaren zijn er als een van de weinige onderzoeksgroepen ter wereld in geslaagd langdurige metingen te verrichten aan een geïsoleerde biologische klok. "We meten de elektrische activiteit aan de hand van zeer kleine kringstromen, tegen de grens aan van wat nog meetbaar is. We detecteren piekjes van 10 tot 15 microVolt terwijl de achtergrondruis al 5 microVolt bedraagt. Daarom is hier ook alles afgeschermd", zegt Albus, wijzend op de grote metalen kast rondom de opstelling. Door de meetresultaten met behulp van een computer te analyseren, is het ook mogelijk om uit het signaal de activiteit van individuele neuronen te filteren. Tussen de vijftig en honderd individuele zenuwcellen die in de buurt van de elektrode liggen kunnen zo gevolgd worden. Meijer: "De neuronen blijken aanmerkelijk te verschillen in hun activiteit. De biologische klok als geheel laat een sinusachtige activiteitsgolf zien, maar de individuele neuronen blijken slechts vier tot vijf uur actief. Het ensemble van hun activiteiten bepaalt het patroon. Wij vermoeden dat de verschillen tussen de neuronen een rol kunnen spelen bij de daglengtebepaling, waarbij oscillatie uit fase codeert voor een lange dag en in fase voor een korte dag."

Ploegendienst

Het onderzoek aan de biologische klok heeft grote relevantie voor de menselijke gezondheid. Meijer: "Wij doen nu onderzoek naar het werken in ploegendienst. In onze 24-uurs economie wordt dit probleem steeds urgenter. In Amerika werkt een vijfde van de beroepsbevolking in ploegendienst. Vooral oudere mensen verdragen ploegendienst slecht met slaapstoornissen en vermoeidheid als voornaamste klacht. De jaarlijkse kosten van vermoeidheid gerelateerde ongelukken werden vorig jaar in The Lancet geschat op 16 miljard dollar."

Meijer heeft proeven gestart waarbij zij ratten in een ploegendienst gezet, wat inhoudt dat ze hun dagritme eenmalig 6 uur heeft verschoven. De eerste resultaten leveren opnieuw verrassingen op. Meijer: "In de biologische klok zien we dan dat één van de klokgenen, Per1, na het instellen van het nieuwe ritme ogenblikkelijk verschuift. Maar uit het gedrag van de rat blijkt dat het wel tien dagen kost om zich aan het ritme aan te passen. Er is dus een discrepantie tussen de genetica en het gedrag."

Uit het onderzoek van Meijer komt telkens duidelijk naar voren dat er een groot verschil is tussen de biologische klok in het intacte dier en de geïsoleerde structuur. De onderzoekster ziet het als duidelijk voorbeeld van emergentie: op hogere niveaus ontstaan nieuwe eigenschappen. ``Je ziet patronen verschijnen in het genen-netwerk, die op eiwitniveau weer iets ingewikkelder in elkaar zitten. Op het niveau van neuronale netwerken ontstaan weer nieuwe eigenschappen, die op het genetisch niveau niet aanwezig waren. Tenslotte gaan hersenstructuren en de rest van het lichaam ook nog een interactie aan, wat weer een nieuwe uitkomst oplevert."