

OVERDRACHT VAN ERFELIJKE FACTOREN

Hoe gebeurt die overdracht ?

Op grond van de klinische ervaring en het epidemiologisch onderzoek weten wij met zekerheid dat er bij sommige individuen, en in zekere mate ook bij sommige families, een overgeërfd aanleg voor het krijgen van MS bestaat. Ook al gaat het ongetwijfeld niet om een erfelijke aandoening in de eigenlijke zin van het woord, toch is het zo dat de elementen voor die aanleg moeten liggen in de genetische informatie die eigen is aan elk individu. Daarom is het wel nuttig hier een korte samenvatting te geven van de manier waarop het genetisch erfgoed is opgebouwd.

Bij de bevruchting dragen de ouders aan het kind een verzameling biologische informatie over die bepalend is voor de " kenmerkende eigenschappen " (de kleur van de ogen bij voorbeeld), kenmerken die van generatie tot generatie worden doorgegeven. Men heeft de naam " gen " gegeven aan de informatie-overdragende eenheid die overeenstemt met een welbepaald kenmerk, en het gehele genenarsenaal van een individu werd " genoom " genoemd.

Men wist allang dat de genetische boodschap als het ware " ingebakken " zit in de kern van het bevruchte ei. Rond 1930 is men erin geslaagd er een viskeuze substantie uit af te zonderen die werd geïdentificeerd als zijnde het desoxyribonucleïnezuur (DNA). In 1962 ontvingen J. Watson en F. Crick de Nobelprijs omdat zij reeds in 1953 een ruimtelijke voorstelling brachten van een DNA-molecule, gekend voor zijn dubbel spiraalvormige structuur.

Het zijn inderdaad twee strengen, die elk de vorm van een snoer hebben waarvan de parels elementaire moleculen zijn, " nucleotiden " genaamd. Zij worden gevormd door de verbinding van een zuur (fosforzuur), een suiker (desoxyribose) en een base, gekozen uit de volgende vier mogelijkheden : Adenine, Thymine, Cytosine en Guanine. Zoals we hier kunnen vaststellen wordt - wonderbaarlijk genoeg - het nochtans buitengewoon complex geheel van genetische informatie geschreven met een alfabet van slechts vier letters, nl. A,T,C en G).

De twee strengen zijn met elkaar verbonden door overbruggingen, zo ongeveer als de sporten van een ladder.

De ladderbomen bestaan uit een alternerende samenstelling van zuren en suikers, terwijl de basen paarsgewijze de sporten van de ladder vormen, volgens een paarvormingsschema waarvan nooit wordt afgeweken : A gaat samen met T, en C met G. Doordat die ladder dan een spiraalvorm aanneemt, krijgt het DNA zijn helicoïdaal uitzicht.

De DNA-molecule is de grootste die bij levende wezens voorkomt. Bij lagere diersoorten is ze uit één stuk, maar bij de mens bestaat zij uit vele fragmenten die, op één rij gelegd,

dan wel een lengte van twee meter zouden hebben. Indien al het aanwezige DNA zou worden gebruikt, zou het volstaan voor de genetische codering van wel 2 miljoen genen.

In werkelijkheid bestaat het DNA voor het grootste deel uit korte sequenties aminozuren (7 tot 8) die zich over de gehele lengte van de molecule steeds weer herhalen. Die zogenaamde " satellieten " lijken geen precieze functie te hebben. Ze zijn echter wel zeer nuttig want ze zijn gemakkelijk herkenbaar omdat ze zo klein zijn (microsatellieten). Als ze dicht bij een gen gelegen zijn, maken ze het mogelijk dat gen onrechtstreeks te identificeren. In het kader van een in de Verenigde Staten lopend project dat gericht is op onderzoek van het menselijk genoom, werden reeds 4.000 microsatellieten beschreven, en werd bepaald hoe ze correleren met vele op al de chromosomen gelegen genen. Andere meer complexe sequenties komen ook enkele keren voor, zonder dat wij weten welke specifieke rol zij vervullen.

Een zeer groot deel van het ADN lijkt dus geen speciale functie te hebben. Recentelijk heeft men op het ADN linguïstische tests toegepast zoals die welke worden gebruikt voor de statistische analyse van de organisatiesystemen van de verschillende spreekwijzen. De resultaten van die tests tonen aan dat de manier waarop de aminozuren gespreid liggen in het gedeelte dat geen codering voor eiwitten bevat, niet zomaar op toeval berust maar wel degelijk een hiërarchisering inhoudt, dit in tegenstelling met de streken waar zich de genen bevinden die instaan voor de synthese van de eiwitten. Diezelfde gehiërarchiseerde organisatiewijze is ook eigen aan de diverse taalvormen, daar waar de door coderingen doorgestuurde informatie nochtans uiterst eenvoudig en niet grammaticaal is. Het zou dus kunnen dat dit nog onopgehelderd gedeelte van het ADN eveneens informaties doorstuurt, maar dan op een zodanig complexe wijze dat wij er nog niet klaar in zien. De overige ADN-fragmenten bestaan uit sequenties die zich nooit herhalen, en die dienen als dragers voor de genen. Die sequenties zijn zeer lang, en zorgen elk voor de synthese van één enkele specifieke proteïne. Die eenmalige sequenties kunnen 50.000 tot 200.000 verschillende eiwitten produceren.

Bij een cel in rusttoestand is het DNA niet zichtbaar met de microscoop, maar tijdens de celdeling condenseren de diverse fragmenten heel intens en kunnen ze worden waargenomen in de vorm van " chromosomen ". Elke menselijke cel telt 23 paren, dus 46 chromosomen. Het laatste van die 23 paren is bepalend voor het geslacht (XX voor een vrouw en XY voor een man). Daarom zegt men dat die cellen " diploïed " zijn.

Een chromosoom heeft de vorm van twee evenwijdige staafjes (chromatiden) die allebei uit dezelfde DNA-molecule zijn samengesteld. Over een zeer korte afstand (het centromeer) liggen de beide chromatiden tegen elkaar aan, waardoor het geheel de vorm heeft van een X, waarvan de armen en benen evenwel in lengte variëren. De beide chromatiden van een chromosoom hebben dezelfde genen : ze zijn immers samengesteld uit dezelfde DNA-molecule. Bij het microscopisch bekijken van de chromosomen zien wij dat elk chromosoom zijn karakteristiek uitzicht heeft. Hierdoor is het mogelijk ze te

nummeren op een wijze die in een internationale overeenkomst werd afgesproken (van 1 tot 22 bij de mens).

De overdracht van de genetische informatie naar de volgende generatie heeft plaats op het ogenblik van de bevruchting. De eicel en de zaadcel hebben elk slechts 23 chromosomen (haploïde cellen), waaronder ook het geslachtschromosoom X voor de eicel, en het geslachtschromosoom X of Y voor de zaadcel. Zoals wij wel weten is het dus de zaadcel die het geslacht bepaalt.

Een door de penetratie van een zaadcel bevruchte eicel bevat dan 2×23 chromosomen, dus 23 paren (genummerd van 1 tot 22; het 23^{ste} chromosomenpaar is ofwel XX ofwel XY).

Die diploïde cellen bevatten elk een chromosoom dat afkomstig is van de moeder en een dat afkomstig is van de vader, en vormen de zogenaamde "homologe" chromosomenparen. Een cel bezit dus, voor elk fenotypisch kenmerk, telkens twee genen (de zogenaamde " allelen "), met één allel dat afkomstig is van de vader en één allel dat afkomstig is van de moeder.

Die chromosomenstructuur maakt dat het toeval tweemaal meespeelt : Zoals wij hebben gezien, zijn de gameten (eicel of zaadcel) haploïde cellen die echter afkomstig zijn van diploïde stamcellen. Bij celdeling, d.w.z. de normale wijze waarop cellen zich vermenigvuldigen, produceert de natuur steeds diploïde cellen. Gameten zijn echter gekenmerkt door het feit dat hun celdeling (de zogenaamde reductiedeling of meiose) op een bijzondere wijze verloopt en het ontstaan geeft aan haploïde cellen. Die cellen zijn slechts drager van de helft van het genetisch erfgoed, in die zin dat ze beschikken over telkens ofwel de ene ofwel de andere chromosoom van alle chromosomenparen. Die " keuze " uit de ene of de andere chromosoom gebeurt op basis van toeval, en het aantal mogelijke chromosomische combinaties ligt des te hoger naargelang het aantal soortige chromosomen groter is.

Vervolgens speelt het toeval ook een rol bij de bevruchting, want het is het toeval dat maakt dat het die ene welbepaalde zaadcel is die in de eicel binnendringt, en niet een van de miljoenen andere zaadcellen.

Die " chromosomenintermix " maakt dat de theoretische mogelijkheid voor twee ouders om elk vier verschillende types van gameten te produceren, die mogelijkheid bij de bevruchting tot de tweede macht wordt verheven. Dat maakt dat er dan geen vier, maar zestien mogelijke genetische patronen zijn. En het is alleen het toeval dat bepaalt welk genetisch patroon uiteindelijk tot stand zal komen.

Naast die chromosomenintermix is er ook een " chromosomenintramix ". Die komt tot stand bij de meiose, op het ogenblik waarop de chromosomen van elk paar (het ene afkomstig van de moeder, het andere van de vader) zich aaneensluiten over de gehele

lengte, en vervolgens weer uiteengaan. Bij dat weer uiteengaan kunnen er zich onderlinge uitwisselingen van chromatidesegmenten voordoen, en ook die uitwisselingen gebeuren op basis van toeval. Dat verschijnsel wordt "translocatie" genoemd, in het Engels "crossing-over". Dit impliceert tevens dat het van de moeder overgeërfde chromosoom een of ander segment kan bevatten dat dit chromosoom meekreeg bij de "crossing-over" met het chromosoom van de vader. Daar dit verschijnsel zich bij elke generatie kan voordoen, zorgt dit soms wel voor problemen bij de interpretatie van genetische analyses bij familiaal onderzoek.

Zo zien wij hoezeer het van het toeval afhangt wat wij zijn, en hoezeer de ene persoon kan verschillen van de andere. Het is dan ook geen wonder dat sommige biologen gefascineerd zijn door het toeval. En zo begrijpen wij ook waarom MS, ook al is er genetische aanleg aanwezig, redelijk zeldzaam is, en lukraak onder de bevolking voorkomt. Dit biedt dan tevens een antwoord op de vraag die zeer vaak door MS-patiënten wordt gesteld : waarom juist ik, en niet iemand anders ?

Het genetisch erfgoed zoals het aanvankelijk in de eicel tot stand kwam, moet vervolgens worden doorgegeven aan elk van de cellen die door hun vermenigvuldiging het ontstaan geven aan een welbepaald levend wezen. Dit is mogelijk dank zij het feit dat het DNA, de drager van alle genetische informatie, in staat is evenbeelden van zichzelf te kopiëren. Dat gebeurt door overlangse deling van de DNA-moleculen ter hoogte van de verbindingen A-T en C-G, op een wijze die doet denken aan een ritssluiting of aan een ladder waarvan men alle sporten achtereenvolgens zou halveren. Elk van de beide ladderbomen genereert dan een exacte reproductie van de ontbrekende helft, en gebruikt daartoe moleculen van zuren, van suikers en van de vier in de kern aanwezige fundamentele basen. Dit alles is mogelijk kan zij het feit dat de vier letters van het genetisch alfabet zich enkel volgens het schema A-T en C-G tot paren kunnen verbinden.

Vervolgens is er hersamenstelling van elk chromosoom door de vereniging van twee chromatiden, en daar deze laatste werden verdubbeld, bevat de kern dan tweemaal de soorteigen erfelijke informatie, namelijk 92 chromosomen (2 x 23 paren). De dubbele chromosomenparen ontubbelen en wijken dan uit naar de twee uiteinden van de kern, waarvan het membraan verdwijnt. De cel splitst zich dan in twee delen met elk 23 chromosomenparen waarrond zich een nieuwe kern vormt. De eerste twee aldus gevormde cellen bevatten dus identiek dezelfde genetische informatie, en dat hele proces doet zich bij elke celdeling opnieuw voor.

Wat het ene individu van het andere onderscheidt, is de wijze waarop de talloze door de chromosomen meegegeven kenmerkende eigenschappen tot uitdrukking komen om, als globaal resultaat, iemands " fenotype " te vormen. Dat fenotype betreft alle aspecten van het organisme, en dus niet enkel het uiterlijk aspect, maar ook de werking van de verschillende organen, de afweermechanismen, de aanleg voor bepaalde ziekten, enz. De overbrenging van de boodschappen tussen de genetische informatie en de totstandkoming van het fenotype geschiedt uitsluitend door middel van eiwitten.

De eiwitten vertegenwoordigen meer dan de helft van de bestanddelen van een cel, en zij spelen een essentiële rol in de organisatie van een levend wezen. Ondanks hun enorme diversiteit, zijn ze opgebouwd uit niet meer dan 20 " bouwstenen ", 20 aminozuren.

Voor de aanmaak van eiwit gaan de instructies steeds uit van een gen. Zoals men weet, telt het genetisch alfabet maar 4 letters, en als elk van die letters afzonderlijk wordt genomen, rijst er een probleem als men met niet meer dan 4 letters 20 verschillende woorden wil vormen. Hier komt nu de " genetische code " op de proppen, een code die gebaseerd is op de associatie van drie letters (codon), wat ons 64 verschillende combinaties geeft ($4 \times 4 \times 4$), en dat is meer dan ruimschoots genoeg om de 20 aminozuren aan te duiden. Het is merkwaardig te kunnen vaststellen dat alle levende wezens, zowel dieren als planten, die genetische code gemeen hebben.

De eiwitmoleculen worden samengebracht in het cytoplasma, volgens een bouwplan dat in de overeenstemmende genen geprogrammeerd zit. De instructies worden doorgegeven door een boodschapper, het " messenger-RNA " (ribonucleïnezuur). Die boodschapper-RNA is een gecondenseerde kopie van de genetische informatie in die zin dat hij enkel de noodzakelijke instructies overbrengt.

Om te beginnen maakt de natuur immers een identieke kopie van de DNA van het betroffen gen (RNA-premessenger) dank zij een belangrijk enzym : de polymerase, een enzym dat thans door onderzoekers wordt aangewend om artificiële kopieën te maken van sommige delen van het DNA. De RNA-premessenger ondergaat vervolgens versnijdingen en collages. Het doel van dat proces is enkel de door te geven instructies (exons) over te houden, na eliminatie van alle andere (introns), en ze de ene na de andere te herschikken (re-arrangement) in een m-RNA-molecule. Daar nagenoeg 90 % van de in het origineel gen aanwezige informatie werd afgevoerd, is het m-RNA een veel kleinere molecule dan de oorspronkelijke DNA-molecule.

Bij eenzelfde individu kunnen er zich lichte variaties voordoen in die " herschikking ", wat verklaart dat bij homozygote tweelingen, die nochtans elk oorspronkelijk identiek hetzelfde genetisch materiaal meekregen, die herschikking zich soms niet op een identieke wijze voltrekt zodat er tussen de beide tweelingindividuen verschillen bestaan op het vlak van de doorseining en de expressie van de informatie. Dat is waarschijnlijk de reden waarom bij homozygote tweelingen van wie één van de twee MS krijgt, de andere niet noodzakelijk ook wordt aangetast. De " concordantie " bedraagt hier immers slechts 50 %.

Het m-RNA verlaat de kern, dringt door in het cytoplasma en treedt in contact met het productieatelier (de ribosomen). Die ribosomen zijn wonderbaarlijke kleine tuigen die zich langs het filament van het m-RNA verplaatsen en per groepen van drie (codonen) de achtereenvolgende nucleotiden aflezen. Naar gelang van de afgelezen boodschap kiezen ze dan voor het ene of het andere aminozuur, en rijgen ze de ene achter de andere aan. In tegenstelling tot het DNA en het m-RNA, rollen de eiwitfilamenten zich tot kluwens en

vormen ze aldus moleculen die verschillende vormen vertonen. Die moleculen worden vervolgens overgebracht naar de organen waarvoor ze bestemd zijn, en ondergaan daar de met het oog op hun functies specifieke wijzigingen. Opdat een eiwit zijn biologische activiteit zou kunnen uitoefenen, is zijn configuratie in de ruimte van even groot belang als de aminozuren die het bevat.

De overbrenging van erfelijke kenmerken is dus gebaseerd op het bestaan van de genen (die de over te brengen informatie bevatten) en van de vele eiwitten die, afhankelijk van hun vorm en hun chemische samenstelling, de diverse bestanddelen van het lichaam opbouwen, aan elk van die bestanddelen een kenmerkende eigenschap meegeven, en instaan voor hun goede werking. Indien een gen of één enkel eiwit een anomalie vertoont, kan dat leiden tot een zogenaamde genetische ziekte.

De genetische ziekten

Ongeveer één procent van de bevolking krijgt af te rekenen met een genetische ziekte. Er werden al meer dan drieduizend genetische ziekten geïnventariseerd, waaronder er ongeveer vijfhonderd zijn die het zenuwstelsel betreffen. Sommige van die ziekten, zoals myopathie of de ziekte van Huntington, zijn te wijten aan één enkel gen, één enkele "locus morbidus". Die monocausale loci morbidi zijn redelijk gemakkelijk te identificeren, en men kan moleculaire sondes bouwen die werken als echte " merkers " waarmee die ziekten kunnen worden opgespoord (genetische raadpleging). Tenslotte zijn dat ook de ziekten waarvoor het gemakkelijk zal zijn de anomalie te corrigeren met genetisch-therapeutische technieken waarvan sommige onlangs voor het eerst op de mens werden toegepast.

Jammer genoeg zijn de meeste genetische aandoeningen, en ook MS, te wijten aan anomalieën die verscheidene genen betreffen (polygene anomalieën). Die aandoeningen worden daarom complex-erfelijke aandoeningen genoemd, die bovendien vaak de samenloop van uitwendige factoren vereisen om tot expressie te komen (multifactoriële verwekking).

De anomalie van een gen is veelal het resultaat van een mutatie, d.i. een spontane wijziging in de sequentie van sommige basen (nucleotiden) van het gen. Dit resulteert in een wijziging van de kwaliteit of de kwantiteit van het eiwit waarvan het gen de aanmaak programmeert en dat instaat voor de goede werking van een bepaald biologisch mechanisme.

Mutaties

Die mutaties leiden niet noodzakelijk tot "genetische ziekten", maar kunnen een beveiliging brengen tegen bepaalde toxische of infectieuze uitwendige factoren. Zo hebben sommige mutaties bij de bevolkingsgroepen van Noord-Europa in de genen die verantwoordelijk zijn voor het HLA-systeem, de personen die die mutatie vertoonden tegen de pest beschermd. Uiteraard dankten de overlevenden hun redding aan natuurlijke

selectie; bij hun nakomelingen komt die mutatie vaker voor dan bij andere bevolkingen in andere delen van de wereld. Dat verschijnsel noemt men associatie-onevenwicht (linkage disequilibrium). Een dergelijke selectie heeft zich in de loop der eeuwen voorgedaan onder de Nederlanders uit Suriname, die een mutatie vertonen die hen tegen tyfoïd beschermt.

Een oorspronkelijk gunstige mutatie kan eeuwen later aanleiding geven tot pathologische toestanden als de levensomstandigheden zich wijzigen. Zo konden onze voorouders, die moesten leven van jacht en landbouw, dank zij sommige mutaties een normale bloeddruk in stand houden en ervoor zorgen dat er steeds voldoende glucose en cholesterol in het bloed aanwezig bleef, ook in tijden van voedselschaarste. Wij behoren tot hun op die basis "geselecteerde" afstammelingen, en zijn dus geprogrammeerd om karig te leven. Door sommigen werd daarom de hypothese geopperd dat onze lichamen op onze huidige overdadige consumptie van suiker, vetstoffen en zout reageren door een hoog aantal gevallen van suikerziekte, hypercholesterolemie en hypertensie.

Lokalisatie van de genen

Om een genetische anomalie die verantwoordelijk is voor een ziekte te lokaliseren, bestaat een eerste methode erin de chromosomen onder de microscoop te bekijken om te zien of er ergens een misvorming is.

Eerst moet men de chromosomen isoleren uit een cel, meestal een wit bloedlichaampje (leucocyt). Die leucocyten worden 3 dagen lang te kweken gezet. Dan voegt men bij het kweekmilieu een vergif (colchicine), waardoor het celdelingsproces geblokkeerd blijft op het ogenblik dat de 23 chromosomen goed zichtbaar zijn. Dan doet men de cellen "zwellen" om de chromosomen beter te kunnen individualiseren, waarna ze op een glasplaatje worden uitgespreid. De chromosomen ondergaan een kleuring en worden dan gefotografeerd. Op de film staan alle chromosomen afgelijnd, geordend volgens een internationale classificatie. Die voorstelling van de 22 paren gelijke chromosomen (autosomen) en van het geslachtschromosoom (gonosoom) noemt men een "karyotype".

Bij sommige ziekten is de chromosomische anomalie zo flagrant dat zij onder de microscoop zichtbaar is. De duidelijkste anomalie is de aanwezigheid van een supplementair chromosoom. Normaal gaan de chromosomen per twee, maar soms zijn er drie wegens het feit dat bij de celdeling één van die paren niet uit elkaar is gegaan. Die anomalie noemt men "trisomie". Zij kan zich voordoen op eender welk autosoom, en is meestal niet levensvatbaar. Het meest bekende geval van trisomie is die van het chromosoom 21 (trisomie 21) dat mongolisme veroorzaakt.

De myopathie van Duchenne, waarvan de oorzaak in het chromosoom X ligt, is gekenmerkt door een veel diskretere anomalie: de afwezigheid van een klein deeltje (strook) van het chromosoom aan het bovenste uiteinde.

Bij MS heeft onderzoek van de karyotypes van vele MS-patiënten al spoedig uitgewezen dat er geen chromosomiale afwijking te zien viel. Er moest dus worden gewerkt met veel complexere methodes : de technieken van de moleculaire genetica.

Dank zij de vooruitgang die recentelijk werd geboekt door de in de moleculaire genetica toegepaste technieken, zijn er thans veel meer mogelijkheden om de genen te lokaliseren die verantwoordelijk zijn voor bepaalde ziekten. Bij de zogenaamde methode van de "klassieke genetica" wordt het eiwit geïdentificeerd waaraan de ziekte te wijten is, en zoekt men in het genoom de streek van het DNA op waar de aanmaak van dat eiwit geprogrammeerd staat. Bij de "geïnverteerde genetica"-methode lokaliseert men het chromosoom dat een anomalie vertoont, identificeert men het gen en komt men door deductie tot identificatie van de aard van het betroffen eiwit.

Om het pathologisch chromosoom te vinden, worden cellen op een voedingsbodem te kweken gezet, worden ze in hun celdelingsproces geblokkeerd in een fase waarop de chromosomen duidelijk individualiseerbaar zijn, en krijgen ze vervolgens een biochemische " schok " te ondergaan die ze doet uiteenbarsten. De chromosomen worden opgevangen in een oplossing, en worden met een fluorescerende substantie derwijze gekleurd dat ze naar gelang van de nucleotide basen A-T of G-C een specifieke kleur krijgen. Door ze vervolgens door een fijn buisje te doen passeren, kan men ze met een laserstraal dank zij hun specifieke fluorescentie identificeren en van elkaar scheiden.

Het chromosoom, dat zoals gezegd een onderdeel is van de DNA-molecule die in haar geheel ons genoom vormt, wordt vervolgens in kleine fragmenten gesplitst. Die splitsing geschiedt met behulp van zogenaamde " restrictie-enzymen " die werken als biochemische scharen. Zij verbreken de samenhang van het DNA telkens als zij geconfronteerd worden met een welbepaalde sequentie. Alle afgesplitste fragmenten hebben een verschillende grootte. Tevens valt hier aan te stippen dat, in de loop van de evolutie, de streken die rond de genen gelegen zijn heel frequent mutaties ondergaan die slechts één van de chromosomenparen wijzigen. Het kan dus gebeuren dat de twee paren, die een ongelijk aantal sequenties vertonen, daardoor ook van ongelijke lengte zijn. Dit bijzonder verschijnsel draagt de naam van " polymorfisme van de lengte van de restrictiefragmenten " (in het Engels : RFLP). Dank zij die anomalieën kan men soms komen tot het detecteren van een coïncidentie tussen een monogenische ziekte, een ziekte dus die verband houdt met één enkele van de chromosomenparen indien zij geassocieerd is met een polymorfische site. Die site is dan het resultaat van mutaties die slechts korte sequenties betreffen die gemakkelijk herkenbaar zijn.

Al de fragmenten worden gelegd op een plaatje dat met een gel is overdekt en waarrond een elektrisch veld wordt opgewekt (elektroforese). Daardoor komen de fragmenten in beweging en ordenen zij zich volgens grootte. Als men ze vervolgens kleurt, krijgt men een beeld dat gekenmerkt is door een kolom van zwarte stroken met ertussen regelmatige tussenruimten. Elke strook migreert op haar eigen kenmerkende wijze, waardoor men ze

steeds op dezelfde plaats kan vinden en identificeren.

Om de strook of anders gezegd het chromosoomfragment te lokaliseren waar de genetische anomalie gesitueerd is, vergelijkt men de elektroforesen van een chromosoom dat afkomstig is van verschillende personen die drager zijn van de ziekte, met de elektroforesen van hetzelfde chromosoom dat werd onttrokken aan gezonde personen. Het is dan een strook die steeds op dezelfde plaats is aan te treffen bij alle dragers van de ziekte maar die nooit voorkomt op de elektroforesen van gezonde personen, die de chromosomische anomalie bevat. Daar die bewerking moet worden herhaald voor elk van de 23 chromosomen, kan men zich goed inbeelden dat de toepassing van dit principe dat nochtans simpel lijkt, in de praktijk een zeer tijdrovend en saai werk is.

Een andere methode is gebaseerd op de "genetische cartografie", die bestaat in een analyse van de afstanden tussen verschillende chromosoomstreken (loci) die drager zijn van een gen; die analyse geschiedt op basis van de "genetische afstand".

Zoals eerder werd uitgelegd is er bij het begin van het celdelingsproces toenadering en aankoppeling tussen de chromosomenparen, die vervolgens weer uit elkaar gaan. Op het ogenblik van die afsplitsing kan er zich tussen de twee chromosomen een uitwisseling van genetisch materiaal voordoen, een verschijnsel dat recombinatie of translocatie (in het Engels: crossing-over) wordt genoemd. Die recombinaties geschieden op basis van puur toeval, doch hoe meer hun streken (loci) op een chromosoom dicht bij elkaar liggen, hoe minder kans er bestaat dat het tot een dergelijke uitwisseling zou komen. De afstand tussen twee loci is dus recht evenredig met de recombinatiefrequentie.

De genetische afstanden worden bepaald met een op de computer geprogrammeerde statistische berekening. Hiermee wordt uitgetest of in een bepaalde familie de ziekte en een specifieke marker al dan niet op een onafhankelijke wijze worden overgedragen; m.a.w. : er wordt onderzocht of er een verband bestaat tussen de ziekte en een welbepaalde recombinatiefraction (Lod score). De doeltreffendheid van die techniek hangt af van de genetische kenmerken van de ziekte en van de mogelijkheid te kunnen beschikken over families die een groot aantal dragers van het gen tellen. De myopathie van Duchenne, waarvan men al wist dat het schuldige gen zich op het X-chromosoom bevindt, was de eerste met die techniek bestudeerde neuro-musculaire aandoening.

De recente technieken van de moleculaire genetica maken het mogelijk de verantwoordelijke locus met een nog grotere precisie in het DNA te lokaliseren. Zoals men weet kan men met de restrictie-enzymen niet enkel het gehele genoom in verschillende fragmenten opsplitsen, maar ook één enkel chromosoom of zelfs een deel van een chromosoom. Met al die fragmenten heeft men een "genetische bibliotheek" gevormd, die bestaat uit een reeks specifieke DNA-sequenties die genetische informatie bevatten. Aldus geïsoleerde segmenten worden ingebracht in een bacterie, waar ze zich vermenigvuldigen, en voor later gebruik worden bewaard.

Een genetische bibliotheek kan ook worden aangelegd uit " complementair DNA ", d.w.z. uit boodschapper-RNA (m-RNA) onttrokken uit weefsel waarin het gezochte gen tot uitdrukking komt. Zoals men weet reproduceert het m-RNA heel getrouw de DNA-sequenties die noodzakelijk zijn voor de synthese van de eiwitten. Die methode, die zich eenvoudig laat uiteenzetten, is evenwel technisch moeilijk uitvoerbaar en vergt veel tijd.

Moleculaire sondes zijn DNA-fragmenten die de vorm hebben van gewone sprietjes die lukraak worden uitgekozen in een genetische bibliotheek. Die sondes zijn " gemerkt " met een radio-actief product waarmee ze op een röntgenfoto kunnen worden geïdentificeerd. Zij worden in contact gebracht met een chromosoomfragment waarvan men de sequenties wil determineren. Indien de sequenties waaruit ze zijn samengesteld overeenstemmen met die van een bepaalde streek van een restrictiefragment van de chromosoom, " erkennen " ze dat fragment en hechten ze zich eraan vast, waardoor het met autoradiografie mogelijk wordt te zien op welke strook die bepaalde sequentie zich bevindt. Die techniek, die men " hybridisatie " noemt, is zeer omstandig want het is alsof men uit honderden sleutels die sleutel moet uitzoeken die op een slot past. Er valt hier aan te stippen dat die techniek kan worden toegepast op microscopische doorsneden van menselijk weefsel, om met grote nauwkeurigheid het m-RNA te lokaliseren dat verantwoordelijk is voor de synthese van het eiwit dat men wil onderzoeken.

Als men weet welk eiwit verantwoordelijk is voor de pathologie (bv. dystrofie bij de myopathie van Duchenne), werken de sondes van complementair DNA die werden klaargemaakt uit m-RNA dat codeert voor dat eiwit, heel precies en maken ze het mogelijk het gen zelf te lokaliseren, in de plaats van een daarrond gelegen restrictiefragment. Die sondes worden reeds aangewend bij de prenatale diagnosestelling voor sommige genetische aandoeningen.

Die technieken worden nog vergemakkelijkt door het gebruik van moleculaire " microsondes ", die bestaan uit een sequentie van slechts enkele basen (gemiddeld 20), wat volstaat om een DNA-fragment te lokaliseren. Op deze manier gaat men ondermeer in de gerechtelijke geneeskunde tewerk voor het in kaart brengen van de minisatellieten van het DNA van een verdachte om de gevonden gegevens vervolgens te vergelijken met die van weefsel- of bloedfragmenten waarvan men vermoedt dat ze van de verdachte afkomstig zijn. Minisatellieten zijn immers zeer korte repetitieve sequenties die eigen zijn aan elk individu en die gelijktijdig over de gehele lengte van het DNA op één enkele fotografische opname kunnen worden gevisualiseerd.

De kettingreactie door polymerase (PCR in het Engels) is een techniek waarmee men in het laboratorium het DNA zeer snel in grote hoeveelheden kan reproduceren. Het betreft hier misschien wel de grootste vooruitgang die sedert twintig jaar door de biologische techniek werd geboekt; de uitvinder ervan ontving hiervoor trouwens de NOBEL-prijs. Het principe is eenvoudig, maar werd pas toepasbaar nadat een polymerase werd ontwikkeld die bestand is tegen warmte, en toestellen werden gebouwd waarmee het mogelijk werd volgens een cyclisch verloop DNA op te warmen en vervolgens te

reproduceren. Zoals men weet komt verwarmd DNA immers spontaan tot splitsing en worden aldus, door halvering van de laddersporten, twee strengen gevormd; maar wij weten ook dat als men die twee strengen dan opnieuw afkoelt, zij zich opnieuw verenigen.

Het principe bestaat er dus in dat men aan het DNA polymerase toevoegt die bestand is tegen warmte, en dat men het geheel dan verwarmt. Juist voordat de kooktemperatuur wordt bereikt, splitsen de strengen van elke DNA-molecule zich. Vervolgens doet de polymerase haar werk en maakt ze dat er twee nieuwe strengen kunnen ontstaan, die strikt dezelfde zijn als de oorspronkelijke strengen. Op de kweekbodem zijn op dat ogenblik vier strengen aanwezig, die zich bij afkoeling opnieuw zullen versmelten om dan twee DNA-moleculen te vormen. Het toestel verwarmt de kweekbodem dan opnieuw tot de kooktemperatuur bijna is bereikt, waarna er dan weer een afkoelingsfase komt. Bij elk van die cyclussen verdubbelt het aantal DNA-moleculen, en wordt het DNA dus achtereenvolgens vermenigvuldigd met 2, 4, 8, 16, enz. In de praktijk gaat het om een complexe techniek, maar in een goed getraind biologisch laboratorium kan men ze op enkele weken tijd aanleren. Die techniek heeft dus een groot succes gekend, en wordt reeds courant in de geneeskunde gebruikt om zeer kleine hoeveelheden antigenen te detecteren en een infectie door micro-organismen te kunnen diagnostiseren ook al is er nog geen enkel zichtbaar klinisch verschijnsel. Ook kan men met die techniek het DNA analyseren op basis van één enkele cel (een zaadcel bij voorbeeld) of van een stukje hoofdhaar. Ook bij de genetische consultancy bewijst ze grote diensten, doordat men met die techniek snel nieuwe of reeds gekende mutaties kan aanwijzen.

Al die technieken worden thans toegepast om de genen te lokaliseren die verantwoordelijk zijn voor de synthese van de abnormale eiwitten, die aan de basis liggen van de fysiopathologie van sommige ziekten. Bij MS worden die technieken aangewend in de hoop de genen te kunnen aanwijzen die verantwoordelijk zijn voor de immunitaire anomalieën die men kan observeren in sommige cellulaire receptoren of chemische mediators. Jammer genoeg zijn deze technieken niet onfeilbaar, en kunnen technische problemen leiden tot verkeerde resultaten. Dat verklaart waarom op dit gebied tot dusver door diverse laboratoria gedane observaties vaak niet overeenstemmen.

Een beloftevolle ontwikkeling : de inplanting van genen

Het feit te kunnen weten welk gen of welke genen verantwoordelijk zijn voor een bepaalde pathologie, heeft de hoop doen ontstaan ze ooit te kunnen corrigeren door toepassing van technieken uit de moleculaire genetica, en met name door de inplanting van de genen. Wat MS betreft hebben wij niet kunnen identificeren welk gen rechtstreeks verantwoordelijk is voor het ontstaan van de ziekte, en het is zelfs weinig waarschijnlijk dat de ziekte-oorzaak bij een welbepaald gen zou liggen. Voor andere ziekten daarentegen kan men redelijkerwijze in het vooruitzicht stellen dat tegen het begin van de XXI^{ste} eeuw die genetische therapie die - laten wij dit niet vergeten - pas nu begint toegepast te worden op de mens, sommige anomalieën zal kunnen corrigeren, en bv. immunitaire anomalieën zal kunnen verhelpen.

De techniek van de genoverplanting verkeert nog in een experimenteel stadium en werd vooral bestudeerd op ratten en muizen. Vervolgens werd ze uitgetest op primaten, alvorens op de mens te worden toegepast.

Bij de methoden die men thans aan het uittesten is, gebruikt men als overbrengingsmiddel bepaalde mutanten van een virus waarin men een gen heeft ingebracht. Die virussen infecteren dan de doelcellen (transfectie) door het gen in die cellen in te brengen. Men kan eveneens tewerkgaan door het DNA van het gen in te sluiten in een speciale structuur (liposoom) die de eigenschap heeft binnen te dringen door de celmembranen heen. En tenslotte kan het DNA dat opgesloten zit in versnelde microscopische partikels, mechanisch in een weefsel worden geïnjecteerd met behulp van een "genkanon".

Op technisch vlak lijkt de interessantste methode de "homologe recombinatie", waarmee men in een cel normale sequenties kan inbrengen die dan de plaats gaan innemen van de abnormale sequenties. Ten opzichte van de transfectie of de injectie biedt deze methode het voordeel dat het pathologisch gen op zijn natuurlijke lokalisatie wordt vervangen door een normale kopie van exogene oorsprong.

Eveneens kan men overwegen om in een orgaan cellen in te planten waarvan de genen werden gecorrigeerd binnen een weefselkweekbodem (transgenische cellen). In het geval van MS zou die techniek bijvoorbeeld aangewend kunnen worden om de genetische anomalieën te corrigeren die verantwoordelijk zijn voor de slechte werking van sommige lymfocyten, door transgenische cellen te injecteren in het beenmerg of intraveneus. Er blijven evenwel nog vele moeilijke problemen op te lossen, met name in verband met de tolerantie voor die "inplantingen" en in verband met hun doeltreffendheidsduur.

En tenslotte is er nog een zeer recente techniek, namelijk die van de "zelfmoordgenen". Die genen produceren eiwitten die de cel gevoelig maken voor een welbepaald toxisch agens of die rechtstreeks coderen voor toxische substanties die de cel vernietigen. Die methode zou kunnen worden gebruikt voor het elimineren van een lymfocytenvariëteit die wordt beschouwd als verantwoordelijk voor de voortschrijding van MS.

Wanneer er voor een ziekte geen equivalent bestaat bij dieren en die ziekte het gevolg is van een genetische anomalie, maakt de inplanting van het gen bij een dier het soms mogelijk de ziekte op te wekken en zo over een waardevol experimenteel diermodel te kunnen beschikken. Bij de amyotrofische laterale sclerose, die in de franstalige landen de ziekte van Charcot wordt genoemd, heeft men bijvoorbeeld onlangs ontdekt dat de familiale vorm geassocieerd is met een anomalie van het gen dat moet instaan voor de aanmaak van een eiwit dat de bewegingszenuwcellen van het merg beschermt tegen bepaalde toxische stoffen. Door dat gen te injecteren bij muizen (transgenisch dier), kreeg men dieren die een neurologische ziekte vertoonden die leek op de ziekte van Charcot.

In het geval van MS bestaat er een transgenische muis die de nodige voorwaarden in zich heeft om de ziekte tot uitdrukking te doen komen, namelijk dat een uitwendige factor een proces op gang zou brengen waardoor het CZS wordt aangetast door een genetisch verkeerd geprogrammeerd immuunsysteem. Dat model, dat nochtans geen exacte weerspiegeling vormt van MS bij de mens, zal ons ongetwijfeld helpen om een beter inzicht te krijgen in de omstandigheden waarin MS tot uitdrukking komt, en misschien ook in de manier om dat te beletten.

Tegenwoordig heeft - althans op het gebied van MS - de gentherapie thans nog meer weg van laboratoriumexperimentatie dan van een klinische aanwending ervan, en het lijkt nog vele jaren te zullen duren voor we voor klinische toepassingen op de gentherapie zullen kunnen rekenen. Bovendien zal de aanwending van die gentherapie een probleem stellen, want ook al ontdekken wij het gen dat schuldig is voor een aanleg voor MS, ook al wordt het ons mogelijk dat gen te corrigeren en dus sommige kinderen die later ziek zouden kunnen worden te beschermen, ook dan nog blijven wij met het feit dat die kinderen slechts één kans op twee hebben dat ze later de ziekte zouden krijgen. Dat risico ligt niet hoog genoeg om op een verantwoorde basis te beslissen tot het toedienen van een behandeling die toch agressief mag worden genoemd. Misschien zullen wij dat dilemma ten dele kunnen oplossen door een preciezere identificatie van kinderen met een hoge risicograad, door bijvoorbeeld biochemische anomalieën te kunnen aanwijzen die een teken zijn van het feit dat er reeds auto-immuunprocessen latent aanwezig zijn. Zo weten wij bijvoorbeeld dat de aanwezigheid van bepaalde eiwitten in het cerebrospinaal vocht of van zones met demyelinisatie-verschijnselen die zich weliswaar nog niet klinisch veruiterlijken maar die met KST reeds zichtbaar zijn, vele jaren vooraf de voortekenen vormen van het klinisch uitbreken van de ziekte.