

THE GENETICS OF DIZYGOTIC TWINNING

Samenvatting

Dit proefschrift heeft het familiaal voorkomen van dizygote (DZ) tweelingen onderzocht. De doelstellingen waren de empirische risico's voor de geboorte van een DZ tweeling te meten, na te gaan of het krijgen van een DZ tweeling erfelijk is en, indien dit het geval is, het onderliggende genetische model te identificeren en het genetisch verband te bestuderen tussen artificiële inductie van de ovulatie en DZ tweelingen.

DZ tweelingen zijn het resultaat van een meervoudige ovulatie bij vrouwen (Milham, 1964). Het onderliggende biologische mechanisme dat meervoudige ovulaties veroorzaakt, is tot op heden nog onbekend. Een toegenomen afscheiding van hypofysaire gonadotrofinen, zoals het follikel stimulerende hormoon (FSH), werd gesuggereerd als een mogelijke oorzaak voor de ovariële hyperstimulatie in moeders van DZ tweelingen. De toename in de plasma gonadotrofinen in moeders van DZ tweelingen zou in dit verband het resultaat van een verhoogde gevoeligheid van de hypofyse voor het hypothalamische gonadotrofinen afscheidende hormoon (GnRH) of een toegenomen hypothalamische afscheiding van GnRH.

Het familiaal voorkomen van tweelingen werd onderzocht in stambomen van DZ en een-eiige (MZ), spontane en geïnduceerde, tweelingen opgenomen in twee bevolkingsgebonden tweelingregisters, het Nederlands Tweeling Register en de Oostvlaamse Tweelingstudie. De relatieve risico's voor de geboorte van een DZ tweeling waren significant toegenomen aan de zijde van de moeder van de DZ probandtweeling. De ouders en maternele grootouders van de moeder van een spontane DZ tweeling in Nederland had 1,5 meer kans om ouders te worden van een DZ tweeling dan een willekeurig paar in Nederland. De ouders en zussen van de moeder van een spontane DZ tweeling in Oost-Vlaanderen, België, hadden zelf twee keer meer kans om een DZ tweeling te krijgen. Deze toegenomen risico's aan moederszijde van een DZ tweeling, in Nederland en in België, bevestigden de resultaten van vroegere studies (Weinberg, 1902; Weinberg, 1909; Bonnevie and Sverdrup, 1926; Waterhouse, 1950; Wyshak and White, 1965; Nylander, 1970). De afwezigheid van verhoogde risico's langs vaderszijde verwierp een eventuele bijdrage van de vader, voorgesteld door Greulich (1934) en Parisi et al. (1983). Het relatieve risico voor de geboorte van MZ tweeling vertoonde geen enkel duidelijk genetisch patroon in de stambomen van MZ tweelingen. Het familiale voorkomen van MZ tweelingen was duidelijk te zwak om een krachtig effect uit te oefenen op het epidemiologisch niveau. Alhoewel deze observatie niet in strijd is met een erfelijke oorzaak voor MZ tweelingen, blijkt ze wel compatibel te zijn met het standpunt van Sedgwick- Harvey et al. (1977) en Olson-Segreti et al. (1978), die een laag penetrant autosomaal dominant gen beschreven, verantwoordelijk voor MZ tweelingen in een beperkt aantal families van MZ tweelingen. Op het epidemiologisch niveau werd eveneens geen bewijs gevonden voor een gezamenlijke oorzaak van DZ en MZ tweelingen (Parisi et al., 1983; Gedda and Brenci, 1983; Derom et al., 1987). De relatieve risico's op de geboorte van DZ tweelingen waren niet toegenomen in stambomen van MZ tweelingen en omgekeerd.

In de segregatieanalyse van het familiaal voorkomen van spontane DZ tweelingen werd het fenotype beschouwd als "DZ tweelingen krijgen" en gedefinieerd als een eigenschap met een vrouw specifieke expressie. Een autosomaal monogeen dominant model beschreef onder deze assumptie de gegevens beter dan eender welk ander model. Het dominante model was

in tegenspraak met het recessieve gen, voorgesteld door verscheidene andere studies (Bonnievie and Sverdrup, 1926; Wyshak and White, 1965; Bulmer, 1970). De genfrequentie was relatief hoog, 0.0352. Dit betekent dat ongeveer een per vijftien personen een gendrager was. Slechts 10% van de vrouwelijke dragers zullen op het einde van hun reproductief leven moeder zijn van een spontane DZ tweeling. Spontane abortussen en vroege foetale sterfte zijn een mogelijke verklaring voor de lage penetrantie van het kenmerk. Boklage (1990) toont aan dat ongeveer 75% van alle eenlingconcepties geaborteerd worden in de eerste zes weken van de zwangerschap. Boklage berekent dat, alhoewel meervoudige concepties ongeveer 12% uitmaakt van alle natuurlijke concepties, slechts 2 % van hen zal overleven tot een tweelinggeboorte en ongeveer 12% eindigt op de geboorte van een tweeling. Leridon (1977) estimeert dat 42% van alle concepties overleeft tot een klinisch herkenbare zwangerschap. Indien beide bevruchte eicellen dezelfde kans hebben om te overleven, wordt 17.6%, het kwadraat van 42%, van alle meervoudige zwangerschappen als dusdanig herkend. Dit is enkel 7% boven de geëstimeerde penetrantie van gendragers in het dominante model.

De segregatieanalyse van het voorkomen van spontane DZ tweelingen in de maternele families van geïnduceerde DZ tweelingen maakte gebruik van dezelfde fenotypedefinitie als voor de analyse in stambomen van spontane DZ tweelingen. Een autosomaal monogenisch dominant model werd opnieuw aanvaard als de beste verklaring voor het familiaal voorkomen van DZ tweelingen. Er bestond geen heterogeniteit tussen de maternele families van spontane en geïnduceerde DZ tweelingen op basis van de genetische modellen. Dit betekent dat het dominante model in families van geïnduceerde DZ tweelingen evenzeer van toepassing voor families van geïnduceerde DZ tweelingen. Dit suggereert tevens dat vrouwen die bevallen van een DZ tweeling na de artificiële inductie van de ovulatie reeds een genetische voorbeschiktheid op DZ tweelingen vertonen.

Door pariteit te introduceren in de modellen werd het fenotype niet meer gedefinieerd als een binair kenmerk. Pariteitsafhankelijke modellen houden rekening met het aantal geboorten per moeder en het aantal DZ tweelingen bij deze geboorten. Op deze manier worden moeders met grote gezinnen informatiever, gezien zij meer kans hadden om het kenmerk te experimenteren. Onze resultaten van de pariteitsafhankelijke segregatieanalyse waren eerder teleurstellend. De problemen tijdens de analyses toonden aan dat grotere en meer informatieve datasets nodig zijn om pariteit te modelleren in een segregatieanalyse. De belangrijkste les die uit deze analyses getrokken kan worden, is de verwerping van het sporadische of omgevingsmodel.

De erfelijke voorbeschiktheid tot het multiple ovuleren werd reeds aangetoond in twee schapemodellen. Een codominant model, beter bekend als het Booroola fecunditeitsgen (FecB), werd beschreven in CSIRO Booroola Merino schaperassen in Australië (Piper and Bindon, 1982). Genotypes van individuele ooien werden geïdentificeerd aan de hand van het aantal rijpende follikels tijdens de menstruatiecycclus. Homozygote en heterozygote dragers werden gedefinieerd als ooien met ovulatiefrequenties van respectievelijk 5 of meer en 3 of 4 follikels per cyclus (McNatty et al., 1986). Nietdragsters hebben een ovulatiefrequentie die niet hoger is dan 2 follikels per menstruele cyclus. Dit additieve effect werd ook geobserveerd in de plasma concentraties van gonadotrofinen. Inderdaad, homozygote ooien hadden significant hogere FSH en LH plasma niveaus dan heterozygote ooien, welke op hun

beurt significant hogere plasma concentraties hadden dan niet-dragers (Robertson et al., 1984; McNatty et al., 1987; McNatty et al., 1989). Het gemiddelde aantal lammeren per ooi neemt toe met 1,5 per kopij van de aangetaste allele (Piper et al., 1985). De afwezigheid van een expressie van de aangetaste allele in rammen suggereert een vrouw specifieke expressie (Bindon and Piper, 1986). Montgomery et al. (1993) hebben dit autosomaal codominante gen (FecB) gelocaliseerd in een regione homoloog met het menselijke chromosoom 4 en meer specifiek met de regione q21-q25.

Een X-gebonden model, het Inverdale gen (FecX¹), werd geobserveerd in stammen van Romney schapen in Australië (Davis et al., 1991). De ovulatiefrequentie van heterozygote ooiën was gemiddeld 1 follikel hoger dan niet-dragers. Homozygote ooiën daarentegen zijn infertiel tengevolge van een bilaterale ovariële hypoplasie (Davis et al., 1992).

Het autosomale fecunditeitsgen in Booroola schapen (FecB) ondersteunt het autosomale model voor DZ tweelingen, teruggevonden in families van spontane DZ tweelingen. De segregatieanalyse toonde een dominant model aan in tegenstelling met het codominante model in Booroola Merino schapen. Dit verschil in modellen kan verklaard worden aan de hand van de fenotypedefinities. Bij mensen werd het krijgen van DZ tweelingen als bewijs voor multiple ovulatie geassumeerd, terwijl bij Booroola schapen het aantal rijpende follikels werd gemeten met ultrasound. Het verwerpen van een X-gebonden model voor DZ tweelingen in stambomen van DZ tweelingen spreekt het X-gebonden Inverdale gen (FecX¹) in Romney Schapen tegen. Onze gegevens ondersteunden geen enkele X-gebonden overerving voor tweelingen. Verhoogde tweelingfrequenties werden echter wel opgemerkt in stambomen van fragile-X patiënten (Fryns, 1986; Sherman et al., 1988) en werd voornamelijk veroorzaakt door DZ tweelingen (Thomis et al., 1993). Onze resultaten werden ondersteund door de vroegere literatuur over de erfelijkheid van DZ tweelingen, door endocrinologische observaties en door schapemodellen. Onze probandtweelingen waren representatief voor hun respectievelijke populaties op basis van de zygotie en de verzamelde stambomen waren op hun beurt representatief voor alle families van tweelingen geregistreerd in het Nederlands Tweelingen Register en de Oostvlaamse Tweelingstudie. Aangezien de frequentie van DZ tweelingen vergelijkbaar zijn tussen caucasoid bevolkingen, kan het autosomale monogenische dominante model voor het familiaal voorkomen van DZ tweelingen in Nederland en België een weergave zijn van de familiale aggregatie in elke caucasoid bevolking. De afwezigheid van heterogeniteit in het genetisch modelleren tussen de Nederlandse en Belgische stambomen en tussen spontane en geïnduceerde DZ tweelingen gaven bijkomende ondersteuning. Eén model in een segregatieanalyse betekent niet automatisch één enkel gen. Inderdaad, de geobserveerde dominante wijze van overerving kan veroorzaakt worden door één enkel gen, maar ook door een aantal dominante genen waarvan de som van de genfrequenties 0.0352 bedraagt en de gemiddelde penetrantie 0.1025. Wiskundig modelleren in een segregatieanalyse kan geen onderscheid maken tussen deze genen.

Dit werk was vernieuwend op vier verschillende niveaus. Ten eerste, de verzamelde gegevens waren niet langer meer een verzameling van vrijwillig meewerkende families, isolaten en families met veel tweelingen. Ten tweede, zygotie werd bepaald voor elke tweeling en werd niet langer bepaald op een bevolkingsschaal volgens de regel van Weinberg. Ten derde, de genetische analyse introduceerde de stamboomanalyse in het

onderzoek naar de overerving van tweelingen. Ten vierde, deze studie was de eerste om de toegenomen frequentie van meerlinggeboorten na de artificiële inductie van de ovulatie vanuit een genetisch standpunt te benaderen.

Toekomstig onderzoek over de genetica van DZ tweelingen moet zich verder toespitsen op de localisatie van het DZ tweelingfenotype. De cosegregatie van het DZ tweelingfenotype, "DZ tweelingen krijgen", en een aantal kandidaatgenen biedt het meest interessante perspectief. Kandidaatgenen worden gedefinieerd als die genen die deelnemen in het biologisch proces, die uiteindelijk resulteert in het geobserveerde genotype. Multiple ovulatie werd gepostuleerd als het onderliggende biologische mechanisme voor DZ tweelingzwangerschappen. Bijgevolg krijgen de hormonen en hun receptoren, betrokken bij de endocrinologische cyclus geassocieerd met het ovulatie proces, een hoge prioriteit in een koppelingsanalyse. De alfa-1-antitrypsine inhibitor (AAT) lijkt fertiliteit te verhogen en is geassocieerd met meervoudige zwangerschappen. Inderdaad, Clark en Martin (1982) observeren dat de frequentie van het S allele twee keer zo hoog was in moeders van DZ tweelingen dan in controle moeders. De frequentie van S en Z allelen op het AAT locus was bijna drie keer zo hoog in moeders van DZ tweelingen vergeleken met controle moeders in Nederland (Boomsma et al., 1992b). Het onderliggende biologische mechanisme waardoor AAT DZ tweelingen veroorzaakt, is tot op heden onbekend. Tenslotte, de meest belangrijke regio voor een koppelingsanalyse is 4q21 tot 4q25, homoloog met de regio waarin het Booroola fecunditeitsgen (FecB) werd gelokaliseerd.