

Het doel van dit proefschrift was om de genetische architectuur te onderzoeken van hersenactiviteit gemeten met electroencefalografische registraties (EEG). Hersenactiviteit kan in rusttoestand worden gemeten om een indruk te krijgen van de voor het brein kenmerkende ritmische activiteit van zenuwcellen in verschillende frequentiebanden. Uit dit zogenaamde rust-EEG kan worden afgeleid welke frequenties sterk vertegenwoordigd zijn in het brein van een individu en welke minder sterk. De ritmische activiteit van het brein vindt verspreid over het brein plaats en bepaalde ritmes kunnen met enige regelmaat verdwijnen en terugkeren in de tijd. Uit het optreden van de ritmes op verschillende plaatsen in het brein en op verschillende momenten in de tijd kunnen we iets opmaken over de mate waarin verschillende delen van het brein functioneel met elkaar verbonden zijn en de mate waarin hersenactiviteit stabiel blijft over de tijd. Hersenactiviteit kan ook in geactiveerde toestand worden gemeten. Daartoe wordt herhaaldelijk een bepaalde prikkel aan de proefpersoon aangeboden en wordt de gemiddelde hersenactiviteit in reactie op die prikkel berekend. Dit noemen we een Event Related Potential, of ERP. ERPs kunnen positieve of negatieve potentialen zijn, die op verschillende tijdstippen na de prikkel optreden en sterk verschillen in voltage. Verschillen tussen personen in het tijdstip en de hoogte van het gemeten potentiaalverschil worden gebruikt om vast te stellen hoe de informatieverwerking van de aangeboden prikkel precies verloopt.

Van zowel het rust-EEG als verschillende ERP maten is reeds lang bekend dat ze een grote mate van variatie vertonen tussen verschillende individuen. In dit onderzoek wilden we vaststellen of erfelijke factoren een rol speelden in deze individuele verschillen. Hiervoor waren EEG-registraties van 263 eenëiige en 303 twee-eiige tweelingbroers en -zussen en hun 195 eenlingbroers en -zussen beschikbaar.

Tabel 1 geeft een overzicht van de erfelijkheid van alle EEG/ERP maten die in dit proefschrift worden onderzocht. De erfelijkheidsschattingen zijn gescheiden per cohort en/of sekse indien van toepassing. Sommige EEG/ERP maten zijn bepaald op meerdere plaatsen op de schedel. In dat geval zijn in de tabel de erfelijkheid van de plaats met het grootste en kleinste effect opgenomen. Bijvoorbeeld, de erfelijkheid van hersenactiviteit in de alfa-frequentieband (*alpha power*) wordt getoond voor de elektroden met de hoogste en laagste activiteit (O2 en T8, respectievelijk). Tevens toont de tabel de gemiddelde schatting van de erfelijkheid over alle elektroden. De belangrijkste conclusie uit Tabel 1 is dat elektrofyologische hersenactiviteit zeer goed bruikbaar is als een stabiele en vooral genetische maat voor het functioneren van het brein. In de volgende paragrafen zal ik elk van de gemeten EEG/ERP maten in meer detail bespreken.

#### *Ritmische activiteit in verschillende frequentiebanden*

De ritmische activiteit van het rust-EEG kan worden verdeeld in verschillende frequentiebanden. De klassieke banden zijn delta, van 1 tot 4 Hertz, theta van 4 tot 8 Hertz, alfa van 8 tot 12 Hertz en bèta van 12 tot 25 Hertz. In hoofdstuk 2 wordt besproken hoe de ritmische activiteit in deze verschillende frequentiebanden samenhangt met verschillende vormen van psychopathologie, zoals ADHD (Barry et al., 2003a, b; Chabot en Serfontein, 1996; Lazzaro et al., 1998; Satterfield et al., 1972; Clarke et al., 2001) en alcoholisme (Gabrielli et al., 1982; Rangaswamy et al., 2002, 2004). In deze studies wordt als maat voor de ritmische activiteit in een bepaalde frequentie het ‘vermogen’ gebruikt, meestal aangeduid met de Engelse term *power*. Vanwege de samenhang tussen het vermogen in de bètafrequenties en alcoholisme is het EEG reeds succesvol gebruikt om de genen die een risico op alcoholisme geven op te sporen (Porjesz et al., 2002; Edenberg et al., 2004; Dick et al., 2006; Porjesz et al., 2005).

In dit proefschrift heb ik laten zien dat in volwassenen de EEG power in de verschillende frequentiebanden sterk erfelijk bepaald is. De erfelijkheid van alfa-power is zelfs vergelijkbaar met de erfelijkheid van lichaamslengte, een van de meest erfelijke eigenschappen die mensen bezitten (Silventoinen et al., 2006). De erfelijkheid van power in de thèta- en bètabanden was tevens hoog, terwijl de delta-activiteit als enige een lage erfelijkheid vertoonde. Deze schattingen stemmen goed overeen met eerder gerapporteerde resultaten (van Beijsterveldt en van Baal, 2002). De erfelijkheid was significant lager op middelbare leeftijd vergeleken met jongvolwassen leeftijd, hoewel het verschil was bescheiden (respectievelijk 90% en 85% voor de power in de alfaband bijvoorbeeld). Topografische verschillen waren ook minimaal, dat wil zeggen dat de EEG activiteit op de verschillende plaatsen op het hoofd ongeveer even erfelijk was.

Tenslotte bleek er geen genetische grondslag te zijn voor het indelen van de ritmische hersenactiviteit in de klassieke frequentiebanden. Wanneer we de erfelijkheid berekenden in smalle bandjes die maar 1 Hertz breed waren leverde dit redelijk eenparige 'erfelijkheidsspectra'. Alleen onder de 6 Hertz (frontale elektroden) en boven de 13 Hertz (elektroden T7 en T8) zakten de erfelijkheidschattingen wat. Dit betekent dat de functionele verschillen die aan activiteit in de klassieke frequentiebanden wordt toegeschreven (Klimesch, 1999; Rangaswamy et al., 2002; Clarke et al., 2001) niet terugkomen in de genetische grondslag van deze banden. Tenminste 55%, maar meestal 60% tot 75% van de genetische variatie wordt gedeeld door alle frequentiebanden. Dit is in goede overeenstemming met de resultaten van Anokhin et al (2004) die ook hoge genetische covariatie rapporteerden tussen de power in de delta, thèta, alfa, en bèta frequentiebanden. Geconcludeerd mag worden dat één enkele genetische factor het merendeel van de genetische variantie verklaart in het hele frequentiespectrum (1 tot 25 hertz) van het rust-EEG.

## P300

De P300 is een positieve ERP in het EEG die ongeveer 300 ms na de presentatie van een stimulus optreedt die van belang is voor het god uitvoeren van de taak (*target*). In de zogenaamde *visual oddball task* is de taak bijvoorbeeld om plaatjes van katjes te tellen. De proefpersoon krijgt dan vooral hondjes te zien met af en toe daartussen een katje. In reactie op het katje is in het EEG een duidelijke P300 te zien. In het cognitieve onderzoeksveld wordt de P300 gebruikt om werkgeheugenprocessen in kaart te brengen zoals *context closure* (Donchin en Coles, 1988), *context updating* (Verleger, 1988), of *event categorization* (Kok, 2001). In de psychopathologie representeert een gereduceerde P300 amplitude een neiging tot alcoholisme (Almasy et al., 1999; Polich et al., 1994) bij alcoholici en hun familieleden. Gereduceerde P300 amplitude is ook aangetoond bij schizofrenie (Levit et al., 1973; Verleger en Cohen, 1978).

In dit proefschrift bleek de P300 bij volwassenen duidelijk te worden beïnvloed door erfelijke factoren (erfelijkheid amplitude was 50% en latentie 45%). Deze resultaten waren in overeenstemming met eerdere tweeling- en familiestudies bij kinderen en adolescenten (Wright et al., 2001; Begleiter et al., 1998; zie ook van Beijsterveldt en van Baal, 2002).

Er wordt over het algemeen aangenomen dat de P300 opgebouwd is uit meerdere componenten (Falkenstein et al., 1994; Dien et al., 2004) die cognitieve subprocessen reflecteren zoals stimulusverwerking en responsselectie. Dit kan suggereren dat verschillende genetische factoren een rol spelen in de vroege, middel, en late gedeeltes van de P300. Daarom hebben we onderzocht of de ontwikkeling van de P300 over tijd (van 100 ms voor tot 100 ms na de piek in amplitude) de expressie van dezelfde of verschillende genen reflecteert. Binnen 120 ms rond de piek (dus 60 ms ervoor en 60 ms erna) is er tenminste 90% overlap in genetische expressie. Binnen de volle 200 ms voor en na de piek bleek tenminste 75% van de individuele variantie een gedeelde genetische bron te hebben. Om deze redenen concluderen wij dat er weinig bewijs is voor

verschillende genen voor de cognitieve subprocessen die ten grondslag liggen aan de P300.

Recentelijk is geopperd dat een centrale invloed van een bepaalde hersenstructuur op de P300 -- de *locus coeruleus*, en de neurale projecties vanuit deze kern naar de neocortex -- goed kan verklaren waarom de P300 op sommige plaatsen in het brein eerder valt waar te nemen dan op andere plaatsen (Nieuwenhuis et al., 2005). In overeenstemming met deze theorie bleek dat ook bij onze data het geval. Daarbij konden individuele verschillen in P300 latentie op de frontale, centrale en pariëtale elektroden verklaard kunnen worden door één enkele genetische factor.

### *N100*

De *visual oddball task* zoals gebruikt in de voorgaande paragraaf leverde naast een duidelijke P300, ook een duidelijke N100 op. Deze ERP was op twee plaatsen te onderscheiden, aan de voorkant van het brein, de *anterior N1*, en aan de achterkant van het brein, de *posterior N1*. De twee eerdere tweelingstudies die eenzelfde visuele taak hanteerden hebben geen afzonderlijke anterior en posterior N1 gebruikt en rapporteerden lage erfelijkheidscores voor de amplitude en latentie van de N1 (Almasy et al., 1999; Katsanis et al., 1997). We hebben aangetoond dat het met een strategie waarbij elke golf een eigen tijdspanne toegewezen krijgt wel mogelijk is om de anterior en posterior N1 apart te scoren. Met deze benaderingen vonden we wel een flinke erfelijkheid voor individuele verschillen in posterior N1 amplitude (50%) en latentie (43%), zeer vergelijkbaar met die voor de P300. De amplitude van de anterior N1 liet ook bij ons een lage erfelijkheid zien (20%), maar de erfelijkheid van de latentie was duidelijk hoger dan in voorgaand onderzoek (45%). De N1 wordt als een maat van vroege aandachtsprocessen gezien (Luck et al., 1995; Altenüller en Gerloff, 1999) die een belangrijke rol kunnen spelen bij allerlei cognitieve vaardigheden. Onze conclusie luidde dan

ook dat de (correct gescoorde) N1 dezelfde aandacht verdient van gedragsgenetici die tot nu toe was voorbehouden aan de P300.

#### *Frontale asymmetrie*

De linker- en rechterhersenhelft vertonen vaak een asymmetrie in hersenactiviteit. Deze frontale EEG asymmetrie is herhaaldelijk in verband gebracht met de verwerking van emotie en verschillen tussen personen in emotionele stabiliteit (neuroticisme, angst en depressie) en *affective style* (ontwijkend en toenaderend gedrag) (bijv. Coan en Allen, 2004; Coan et al., 2006). Onze genetische analyse van frontale asymmetrie toonde aan dat in de door ons onderzochte groep erfelijkheid alleen een rol spelde in de frontale asymmetrie van de jongvolwassenen (30% voor mannen, 37% voor vrouwen). Dit is consistent met eerdere studies van Coan (2003) in jongvolwassen mannen en vrouwen, en Anokhin et al. (2005) bij jongvolwassen vrouwen. Bij volwassenen van middelbare leeftijd werd geen genetische invloed op frontale asymmetrie gevonden.

#### *Graaftheoretische analyse*

In hoofdstuk 6 van dit proefschrift werden twee graaftheoretische parameters geïntroduceerd – clustercoëfficiënt C en padlengte L, ook wel *small-world* parameters genoemd. Deze parameters beschrijven de belangrijkste patronen die in alle denkbare verbindingen tussen hersengebieden worden aangetroffen. Patronen met een hoge clustergraad en lage gemiddelde padlengte worden *small-world* genoemd, en karakteriseren een efficiënt netwerk van breinverbindingen (Achard en Bullmore, 2007). Micheloyannis et al. (2005) hebben aangetoond dat schizofreniepatiënten en verlaagde *small-world*-efficiëntie hebben. Eenzelfde verlies van efficiëntie is aangetoond bij de ziekte van Alzheimer door Stam et al. (2007). Ponten et al (2007) hebben aangetoond dat C en L een hogere ordening tonen (hogere C, maar ook hogere L) in de connectiviteit tussen hersengebieden gemeten met intracraniale elektroden bij patiënten met epilep-

sie. Al deze resultaten tonen een mogelijk klinisch belang van graaftheoretische parameters aan.

In hoofdstuk 7 hebben we de erfelijkheid van L en C bepaald in het rust-EEG. We toonden aan dat L in elk van de verschillende frequentiebanden redelijk erfelijk (35% tot 63%). C was minder erfelijk (20% tot 35%), maar dit kwam deels door een grote gevoeligheid van C voor meetfout.

*Terugkerende ritmische hersenactiviteit over langere tijd (Long range temporal correlations)*

*Detrended Fluctuation Analysis* (DFA) is een analysemethode die *temporele* patronen in het EEG kan ontdekken, dit in tegenstelling tot de *spatiële* patronen die we met C en L in kaart konden brengen. Over het algemeen toont ritmische hersenactiviteit (zoals alfa-oscillaties of alfa-activiteit) een duidelijke structuur in de tijd waarbij hetzelfde ritme met dezelfde amplitude steeds terugkeert. Dat eerdere niveaus van de amplitude van de alfa-oscillaties goede voorspellers voor de latere amplitudes zijn betekent in statistische zin dat een signaal over een langere periode met zichzelf correleert (*Long Range Temporal Correlations*). De sterkte van deze autocorrelatie neemt logaritmisch af met de tijd wat typisch is voor zelforganiserende systemen die zich in een zogeheten kritische overgangstoestand bevinden (Linkenkaer-Hansen et al., 2001).

De snelheid waarmee de autocorrelatie daalt heet de *DFA-exponent*. Recentelijk is aangetoond dat de DFA-exponent van theta-band oscillaties verlaagd is in depressieve patiënten (Linkenkaer-Hansen et al., 2005). Anderen hebben aangetoond dat de DFA-exponent juist verhoogd is nabij de focus van epileptische activiteit – gemeten met subdurale elektroden bij epileptische patiënten.

In dit proefschrift werd voor het eerst naar de erfelijkheid van de DFA component gekeken. Hoofdstuk 7 toonde glashelder aan dat genetische verschillen tussen mensen in belangrijke mate bijdragen aan de

individuele verschillen in deze EEG maat (erfelijkheid = 50%). Tot onze verassing spelen heel andere genen een rol bij de power van de hersenritmes dan bij de temporele structuur in die ritmes.

### *Trage Potentialen*

Hoofdstuk 8 onderzocht de relatie tussen de *Slow Cortical Potential* (SCP), *Upper Alpha Synchronization* (UAS), en *Theta Desynchronization* (ThD). Deze drie maten treden allen op in de periode tussen een waarschuwingssignaal en een respons signaal in een zogeheten 'uitgestelde responstaak'. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat de mate waarin deze drie optreden is afhankelijk van de mate waarin het werkgeheugen wordt aangesproken. Hoofdstuk 8 onderzocht of SCP, ThD, en UAS erfelijke eigenschappen zijn in twee condities (de lage werkgeheugenconditie waarin geen ruimtelijk geheugen vereist was en de hoge werkgeheugenconditie waarin wel ruimtelijk geheugen vereist was.) Daarnaast werd gekeken of de verschilscore tussen beide condities erfelijk was.

ThD en UAS waren beide significant erfelijk in alle hersengebieden. Dit gold voor zowel de lage werkgeheugenconditie (ThD: 18% tot 49%, UAS: 35% tot 60%) als de hoge werkgeheugenconditie (ThD: 31% tot 46%, UAS: 35% tot 65%). SCP bleek laag tot gematigd maar significant erfelijk voor de elektroden op de middenlijn, op het achterhoofd en de linker zijkwab, met erfelijkheid hoger in de hoge werkgeheugenconditie (25% tot 43%) dan in de lage werkgeheugenconditie (21% tot 37%). De erfelijkheid van de ThD en UAS was over de hele schedel ongeveer gelijk. Deze drie parameters bleken voornamelijk door afzonderlijke genetische factoren te worden beïnvloed, hoewel 20% tot 25% van de variantie van ThD en UAS toch nog enige genetische overlap toonde.

Uit bovenstaande concludeerden wij dat de drie EEG/ERP maten weliswaar alle optreden in de periode tussen waarschuwingssignaal en responsesignaal, maar dat individuele verschillen erin niet gebaseerd zijn



op dezelfde genen, en daarom wellicht niet op hetzelfde biologisch mechanisme teruggaan.

### *Endophenotypes*

Een van de belangrijkste redenen om de genetische architectuur van de bovengenoemde EEG/ERP maten in kaart te brengen is dat deze maten mogelijke endofenotypen kunnen zijn voor belangrijke gedragskenmerken (of psychopathologie). Een endofenotype is een breinkenmerk dat ligt tussen genen en gedrag (Gottesman en Irving, 1972). Endofenotypen kunnen 1) helpen in het lokaliseren van die delen van het genoom die genen bevatten voor complexe eigenschappen, en 2) helpen verklaren hoe deze genen hun invloed uitoefenen op de individuele verschillen in de het gedrag of de psychopathologie. De eerste en cruciale vereiste aan een endofenotype is dat het een erfelijke eigenschap is. Voor de meeste van de EEG/ERP maten die in de voorgaande paragrafen behandeld werden, blijkt dat zeker te gelden. Een zoektocht naar de exacte genen die deze maten beïnvloeden lijkt dus verantwoord.

Zelfs zonder een directe link naar gedrag te maken verdienen de hier bestudeerde maten verder genetisch onderzoek. Ze representeren complexe aspecten van het functioneren van het brein. Maten afgeleid van graaftheoretische analyse of *Detrended Fluctuation Analysis* hebben een sterke theoretische basis en zijn direct gelinkt aan spatiële en temporele organisatie van neurale activiteit. Het zoeken naar genen die de individuele verschillen in deze maten veroorzaken zou een grote stap voorwaarts kunnen betekenen in ons begrip van het functioneren *en* disfunctioneren van het brein.