

A genetic perspective on the developing brain
Electrophysiological indices of neural functioning in five to seven year old twins

De vier artikelen in deze dissertatie zijn gebaseerd op een grote longitudinale studie naar interindividuele verschillen in hersenfunctioneren van 209 jonge tweelingparen. Deze 418 kinderen ondergingen een uitgebreid elektrofysiologisch onderzoek aan de Vrije Universiteit te Amsterdam op zowel vijf- als zevenjarige leeftijd. Met dit onderzoek werd inzicht verkregen in de genetische architectuur van individuele verschillen in een aantal elektroencefalografische parameters die worden beschouwd als indices van rijping van de hersenen en als mogelijke correlaten van gedrag en cognitie. Een tweetal vragen stond centraal. Ten eerste, wat is de relatieve bijdrage van erfelijke en omgevingsinvloeden op interindividuele verschillen in de elektrofysiologische parameters van hersenfunctioneren in jonge kinderen? Ten tweede, hoe veranderen deze invloeden in een periode in de kindertijd die bekend staat als een periode van versnelde ontwikkeling?

Als eerste werden de relatieve invloeden van genetische en omgevingsfactoren op hersenfunctioneren vastgesteld op vijfjarige leeftijd. De tweelingmethode is hiertoe zeer geschikt. Gegevens over een-eiige (MZ) en twee-eiige (DZ) tweelingen kunnen gebruikt worden voor het vaststellen van zowel erfelijke als (gezins-)omgevingsinvloeden op interindividuele verschillen. De verschillen in een bepaalde eigenschap binnen MZ tweelingparen worden vergeleken met de verschillen binnen DZ tweelingparen. MZ tweelingen zijn 100% genetisch identiek, terwijl DZ tweelingen gemiddeld slechts 50% genetisch verwant zijn, net als gewone broers en zussen. Verschillen tussen de twee kinderen van een MZ tweeling kunnen dus alleen verklaard worden door verschillen in unieke omgevingsfactoren, terwijl verschillen tussen de kinderen van een DZ tweeling veroorzaakt kunnen worden door de unieke omgeving, maar ook door verschillende genen. Voor beide paren geldt dat overeenkomsten binnen een tweelingpaar veroorzaakt kunnen worden door gemeenschappelijke erfelijke factoren, maar ook door systematische effecten van een gedeelde (gezins)omgeving. Deze onderlinge relaties vormen de basis voor het bepalen van de relatieve invloed van genetische en omgevingsinvloeden op interindividuele verschillen in een gemeten eigenschap. De genetische invloed wordt vaak uitgedrukt in de erfelijkheid van een eigenschap (h^2), ofwel de proportie genetische variantie van de totale variantie.

Met de tweelingmethode kan op kwantitatieve wijze worden beschreven wat de relatieve invloed is van 'nature' en 'nurture' op indices van hersenontwikkeling in kinderen. Zoals te verwachten was, bleken zowel de bijdragen van omgeving als van erfelijke factoren van belang voor de interindividuele verschillen in alle elektroencefalografische indices van hersenfunctioneren. Echter, de invloed van de genetische factoren bleek voor de meeste indices veel groter dan de invloed van de omgeving.

In hoofdstuk 2 werd een hoge tot zeer hoge erfelijkheid gerapporteerd voor de absolute en relatieve power van zes verschillende frequentiebanden in het EEG-spectrum. Absolute EEG-power van een frequentieband geeft aan hoeveel variantie in het EEG-signaal toe te schrijven is aan cyclische variaties met frequenties die in die band vallen. Relatieve EEG-power drukt uit wat het relatieve belang van die frequentieband is ten opzichte van de vijf andere frequentiebanden. Het is bekend dat het EEG sterk verandert met de leeftijd, van een signaal met vooral veel langzame golven in jonge kinderen, naar een signaal met wat snellere golven in volwassenen. De dominante EEG-frequentie ligt

rond 10 Hz in volwassenen, terwijl dit in kinderen rond 7 Hz ligt. EEG-power wordt daarom vaak gebruikt als maat voor hersenrijping (maturatie). Op zowel vijf- als zevenjarige leeftijd bleken absolute en relatieve EEG-parameters zeer sterk erfelijk te zijn: gemiddeld was de erfelijkheid 70%. EEG-power (absoluut en relatief) behoort daarmee tot de meest erfelijke karakteristieken gevonden in kinderen.

In hoofdstuk 3 bleken interindividuele verschillen in amplitude en latentie van de P3 Event Related Potential (ERP) te worden beïnvloed door zowel genetische als unieke omgevingsfactoren. ERPs zijn elektrofysiologische hersenreacties op een bepaalde gebeurtenis, zoals het zien van een plaatje of het horen van een toon. De P3 treedt op bij de evaluatie van de relevantie van een stimulus, zoals in de in dit onderzoek gebruikte visuele 'oddball' taak. In deze taak worden frequente, nontarget-stimuli ('hondjes') afgewisseld met meer zeldzame, target-stimuli ('katjes') die door de kinderen moeten worden geteld. Het bleek dat de scoring van de P3 bij vijfjarige kinderen, en in mindere mate ook bij zevenjarige kinderen niet eenvoudig was. Dit resulteerde in een vrij hoge meetfout. Omdat meetfouten van de P3 de schatting van erfelijke en omgevingsinvloeden ongunstig beïnvloeden, werd in een multivariaat genetisch model een schatting gemaakt van het betrouwbare deel van deze invloeden. Gebruik makend van dit model werd gevonden dat de erfelijkheid van P3 amplitudes op target-stimuli zeer laag was, terwijl de erfelijkheid van P3 amplitudes op nontarget-stimuli juist redelijk hoog was. Dit kan er op wijzen dat responsen op zeldzame gebeurtenissen (selectieve attentie) meer door de omgeving beïnvloed worden dan frequente gebeurtenissen. De erfelijke effecten op target P3 amplitudes werden echter wel veroorzaakt door dezelfde genetische factoren als de erfelijke effecten op nontarget P3 amplitudes. Omdat P3 amplitude vaak is gebruikt als indicator van klinische afwijkingen, zoals autisme of alcoholisme, impliceert dit dat een genetische marker voor dit gedrag makkelijker kan worden gevonden met P3 amplitudes in reactie op nontarget-stimuli dan op target-stimuli. De erfelijkheid van latentie van de P3, een maat die samenhangt met individuele verschillen in snelheid van informatieverwerking, was matig tot redelijk hoog (gemiddeld 34% voor vijfjarigen en 70% voor zevenjarigen). Dit gold zowel voor targets als voor nontargets, die door dezelfde genetische factoren werden beïnvloed.

In hoofdstukken 4 en 5 werd de genetische architectuur van EEG-coherentie bestudeerd. Coherentie is de overeenkomst tussen twee EEG-signalen op verschillende elektrodeposities. Het wordt gebruikt als index van functionele verbindingen tussen verschillende regio's van de hersenen, bijvoorbeeld tussen de frontale gebieden onderling (Fp1-F3) of tussen de frontale gebieden en de visuele schors (Fp1-O1). Uit de resultaten bleek een onderscheid in de invloed van genetische factoren op lange en korte afstanden: voor coherenties tussen elektrodes die relatief dicht bij elkaar lagen was de erfelijkheid lager dan voor de coherenties tussen elektrodes die verder van elkaar lagen. De gemiddelde erfelijkheid van coherentie op beide leeftijden op de kortste afstand (7 cm) was 46%, terwijl dat op de langste afstand (28 cm) 69% was. Ook werd een verschil in type genetische invloed gevonden tussen lange en korte afstand coherenties, hoewel dit alleen afdoende getoetst is op vijfjarige leeftijd. De interindividuele verschillen in coherentie op korte afstand werden alleen door additieve genetische factoren beïnvloed, terwijl interindividuele verschillen in coherentie over langere afstand ook door dominante genetische factoren werden beïnvloed (dominante genetische factoren zijn factoren die interactie-effecten tussen genen aangeven). De verschillen in erfelijkheid van lange en

korte afstand coherentie kunnen worden opgevat als een bevestiging voor het twee-compartiment model van Thatcher (Thatcher et al., 1986) waarin coherentie wordt verklaard uit de interactie tussen lokale neuronale netwerken en axonale verbindingen uit verder weg gelegen gebieden. Als de elektrodes relatief dicht bij elkaar liggen (tot 14 cm) dan wordt de coherentie tussen twee gebieden door beide compartimenten bepaald. Als ze verder weg liggen, leveren alleen de lange cortico-corticale verbindingen een bijdrage aan de coherentie.

Het bovenstaande geeft duidelijk aan dat erfelijkheid een belangrijke rol speelt in hersenfunctioneren. Echter, de hoofdvraag van deze dissertatie was of er in de periode van vijf tot zeven jaar belangrijke veranderingen zouden optreden in de genetische architectuur. In deze periode gaan de kinderen naar de basisschool, wat de invloed van zowel gezamenlijke als unieke omgevingsfactoren kan veranderen. Tevens valt deze periode samen met een sterke rijping van de grijze en witte hersenstof. Voorts is bekend dat in deze periode belangrijke kwalitatieve veranderingen in cognitie optreden en dat de genetische architectuur van intelligentie verandert. De kwalitatieve veranderingen in cognitie zijn beschreven door Piaget. Rond het zesde levensjaar maken kinderen een cognitieve groeisprong, waarin ze bijvoorbeeld gaan begrijpen dat het volume van water niet verandert als het van een hoog smal glas in een lang breed glas wordt overgegoten (volume-conservatie). In dezelfde periode blijkt de erfelijkheid van IQ toe te gaan nemen en treden nieuwe genetische invloeden op IQ aan het licht. De leeftijd van 5 tot 7 jaar lijkt dus optimaal te zijn om veranderingen in de determinanten van interindividuele verschillen in hersenfunctioneren te onderzoeken. Twee vragen stonden daarbij centraal: Ten eerste, hoe veranderen de relatieve bijdragen van genetische (h^2) en omgevingsinvloeden van leeftijd 5 jaar naar leeftijd 7 jaar? Ten tweede, zijn er nieuwe genetische factoren, die geen invloed hadden op interindividuele verschillen in EEG-parameters van vijfjarige kinderen, maar die wel invloed hebben op interindividuele verschillen in EEG-parameters van diezelfde kinderen op zeven-jarige leeftijd?

Gemiddeld 1 jaar en 7 maanden na de eerste meting werd het EEG van 192 van de 209 tweelingparen een tweede keer gemeten. Uit hoofdstuk 3 blijkt dat de erfelijkheid van P3 amplitude niet veranderde in de leeftijd van 5 tot 7 jaar. Ook waren er geen aanwijzingen voor het optreden van nieuwe genetische invloeden op de P3 amplitude op zeven-jarige leeftijd. Wel leek de erfelijkheid van de P3 latentie toe te nemen van 5 naar 7 jaar. Mogelijk hing deze toename samen met het optreden van nieuwe genetische invloeden op 7 jaar, hoewel die slechts voor 2 van de 6 bestudeerde elektrodeposities (Cz, P3) significant waren. Het grootste gedeelte van de genetische factoren die op zeven-jarige leeftijd van invloed waren op de P3 latentie, werden reeds op vijfjarige leeftijd gevonden. Al met al werd er dus geen sterke aanwijzing gevonden voor kwalitatieve veranderingen in de P3 generatoren in deze leeftijdsperiode.

In hoofdstuk 5 werden de veranderingen in de erfelijkheid van coherentie van 5 naar 7 jaar getoetst. Bovendien werd gekeken of de totale genetische en de totale omgevingsvariantie in de tijd veranderde. Dit leverde een verrassend patroon op, dat is samengevat in Tabel 5.5. De veranderingen in erfelijkheid en varianties in de coherenties tussen prefrontale elektrodes en elektrodes meer naar het achterhoofd waren anders dan

die in de coherenties tussen de occipitale elektrodes en elektrodes meer naar het voorhoofd. Afhankelijk van de richting waarin de coherentie werd gemeten was er ook een verschil tussen de linker en rechter hersenhelft. Erfelijkheid nam in beide hersenhelften toe voor coherenties van achter naar voor op het hoofd. Erfelijkheid nam in de linker hersenhelft af van voor naar achter op het hoofd, maar bleef hetzelfde in de rechter hersenhelft. Dit patroon sluit aan bij het idee dat de linker en rechter hersenhelft verschillend rijpen en dat de connecties van frontaalschors naar parietale en centrale regio's later rijpen dan de connecties van de occipitale schors naar parietale, centrale en frontale regio's. Individuele verschillen in deze rijping kunnen een weerspiegeling zijn van verschillen in processen als myelinizatie en ontstaan en afbraak van synapsen. De duidelijke genetische invloed op die verschillen is niet verwonderlijk omdat deze processen worden gereguleerd door eiwitten waarvan de regulatie zelf weer afhankelijk is van het genotype van het individu.

Net als bij de P3, bleken de genetische invloeden op de coherentie in de leeftijd van 5 tot 7 jaar grotendeels stabiel. Nieuwe genetische factoren op leeftijd 7 jaar werden gevonden voor 10 van de 14 elektrodecombinaties. Echter, deze nieuwe genetische factoren verklaarden slechts een klein deel van de genetische variantie in coherentie: de genetische invloeden op leeftijd 5 jaar waren nog steeds verantwoordelijk voor het grootste gedeelte van de genetische variantie op leeftijd 7 jaar. Dit suggereert dat er van 5 tot 7 jaar geen overheersende kwalitatieve veranderingen in verbindingen tussen de hersengebieden optreden.

Deze dissertatie suggereert verschillende mogelijkheden voor vervolgonderzoek. Allereerst blijkt duidelijk dat EEG-indices goed gebruikt kunnen worden om zogenaamde QTL's (Quantitative Trait Loci) te vinden, die een invloed uitoefenen op interindividuele verschillen in hersenfunctioneren. Dit linkage-onderzoek is de eerste stap op weg naar de identificatie van individuele genen en hun effect op eiwitten die een rol spelen bij neurofysiologische processen. Linkage wordt beter mogelijk naarmate de bestudeerde eigenschap meer erfelijk is. De EEG-indices die besproken zijn in deze dissertatie voldoen aan die voorwaarde, met uitzondering van P3 target amplitude. Bovendien neemt de statistische power voor linkage toe als een multivariaat design gebruikt kan worden. Bij EEG-indices is dit goed mogelijk omdat het EEG op verschillende elektrodelokaties verzameld wordt. Ten tweede kan in vervolgonderzoek worden gekeken naar de relatie tussen veranderingen in EEG-parameters en cognitieve vaardigheden. Bij de tweelingen in dit project zijn bijvoorbeeld ook een intelligentie-test en een test voor volume-conservatie afgenomen. Het is goed mogelijk de gebruikte genetische modellen uit te breiden om de aard van de relaties tussen EEG-parameters en cognitieve vaardigheden vast te stellen. Wanneer zo'n relatie overwegend erfelijk blijkt te zijn, kunnen de chromosomale regio's waarin QTL's voor elektrofysiologische maten werden gevonden zelfs als startpunt worden genomen om genen te lokaliseren voor cognitie.