

Nederlandse samenvatting

Nederlandse samenvatting

Het doel van dit proefschrift was om onderliggende factoren te onderzoeken die kunnen bijdragen aan het ontstaan van individuele verschillen in hersenstructuur in de (vroege) puberteit.

De puberteit is een belangrijke periode in de ontwikkeling tot volwassenheid. De meest bekende verandering die optreedt in de puberteit, is een sterke toename in de productie van geslachtshormonen door activering van de hypothalamus-hypofyse-gonadale as (HPG-as). Het gevolg is een toename in de afgifte van luteïniserend hormoon (LH) en follikel stimulerend hormoon (FSH) vanuit de hypofyse in zowel jongens als meisjes. Deze hormonen stimuleren op hun beurt de productie van testosteron in jongens en oestradiol in meisjes. In meisjes wordt echter ook een kleine hoeveelheid testosteron aangemaakt in de bijnierschors, terwijl in jongens ook oestradiol wordt geproduceerd als gevolg van omzettingen van testosteron door het enzym aromatasase. Naast fysieke veranderingen, zoals secundaire geslachtskenmerken, laten kinderen een snelle vooruitgang zien in cognitieve en sociale vaardigheden. Deze vaardigheden zijn onder andere het vermogen om te plannen, problemen oplossen, het onderdrukken van impulsen, abstract redeneren en het begrijpen van iemand anders' emoties. Onderzoek met behulp van beeldvormingstechnieken zoals magnetische kernspinresonantie (MRI) wijst erop dat er na een sterke toename van grijze stof (i.e. neuronen en uitlopers van neuronen) in de hersenen van kinderen, er rond de puberteit een afname in grijze stof begint plaats te vinden in vooral de frontale en parietale hersengebieden. Witte stof (i.e. axonen), of te wel de bedrading tussen de neuronen, groeit nog door tot ver in de volwassenheid.

Het begin en de voortgang van deze puberteitsgerelateerde fenomenen kunnen van groot belang zijn voor het functioneren in de volwassenheid. Bijvoorbeeld, schizofrenie is een psychiatrisch ziektebeeld waarbij onderzoek in volwassenen heeft aangetoond dat de hersenen zijn aangedaan. Interessant in deze is het feit dat de eerste symptomen van de ziekte zich vaak rond de puberteit of vroege adolescentie manifesteren. Het is daarom van belang in eerste instantie meer

inzicht te krijgen in normale hersenontwikkeling om zodoende hersenafwijkingen op een vroege leeftijd adequaat te kunnen diagnosticeren en de voortgang van dergelijke ziektebeelden beter te kunnen begrijpen.

Met behulp van tweelingonderzoek kan de rol van genetische en omgevingsfactoren die bijdragen aan het ontstaan van individuele verschillen in een bepaalde eigenschap, zoals hersengrootte of structuur, in kaart worden gebracht. In het ‘klassieke’ tweelingdesign wordt de overeenkomst van een eigenschap (fenotype) binnen monozygote (eeneiige, MZ) tweelingparen vergeleken met de overeenkomst binnen twee-eiige (dizygote, DZ) tweelingparen. MZ tweelingen zijn ontstaan uit één eicel en delen grofweg 100% van hun genen, terwijl DZ tweelingen uit twee aparte eicellen zijn ontstaan en zij delen gemiddeld de helft van hun segregerende genen zoals ‘gewone’ broers en zussen (Martin et al., 1997). Omdat beide type tweelingen vaak samen opgroeien, delen ze ook hun gezinsomgeving, waarbij gedacht kan worden aan zorg, opvoeding, sociaal economische status en voedingspatroon. Daarnaast staan MZ en DZ tweelingen natuurlijk ook bloot aan omgevingsinvloeden die voor ieder individu uniek (kunnen) zijn, zoals ziektes, bepaalde hobby's, of het hebben van vriendjes en vriendinnetjes.

Binnen dit tweelingenmodel wordt gekeken naar de overeenkomsten binnen MZ paren versus DZ paren. Kort gezegd, indien een eigenschap binnen MZ tweelingen meer gelijkenis vertoont dan binnen DZ tweelingen (correlatie (r) $MZ > rDZ$), is dit een aanwijzing dat individuele verschillen binnen die eigenschap beïnvloed worden door erfelijke aanleg. De relatieve mate waarin individuele verschillen kan worden verklaard door genetische verschillen tussen individuen wordt ook wel erfelijkheid of ‘heritability’ genoemd. Deze maat wordt uitgedrukt in een percentage.

Om onderliggende factoren te onderzoeken die kunnen bijdragen aan het ontstaan van individuele verschillen in hersenstructuur in de (vroege) puberteit, werden in dit proefschrift twee onderzoekslijnen gevolgd: de eerste lijn was gericht op het in kaart brengen van genetische en omgevingsfactoren, zoals besproken in de hoofdstukken 2 en 3; de tweede lijn van onderzoek die is besproken in de hoofdstukken 4, 5, en 6 ging net name in op de relatie tussen HPG-as hormonen en hersenvolume en structuur.

De meeste hoofdstukken in dit proefschrift (3 tot en met 6) zijn gebaseerd op een speciaal voor dit onderzoek geworven groep gezinnen (107 in totaal), met een tweeling van 9 jaar oud en een oudere broer of zus tussen de 10 en 15 jaar oud. Voor zover wij weten, beschrijft dit proefschrift de grootste onderzoekspopulatie tot nu toe bestaande uit gezonde tweelingparen met dezelfde leeftijd op het gebied van MRI-hersenonderzoek. Daarnaast is de relatie tussen puberteitshormonen en hersenstructuur nooit eerder onderzocht in een groep kinderen met een dergelijke omvang.

In **hoofdstuk 2** werd een overzicht gepresenteerd van 18 tweelingstudies op het gebied van hersenvolume –en structuur. Een aantal van deze studies is gebaseerd op volumemetingen (structuren die manueel zijn gesegmenteerd), corticale dikte metingen, en een aantal studies waarbij gebruik werd gemaakt van *voxel-based morphometry* (VBM). VBM is een analysetechniek waarbij individuele verschillen in grootte en vorm van een brein worden verwijderd door middel van transformatie naar een model brein, maar waarbij lokale verschillen behouden blijven. De grijze en witte stof mappen worden ‘uitgesmeerd’, op een manier dat ieder voxel (i.e. een volume-element) de gemiddelde waarde van zichzelf representeert en van naburige voxels, oftewel relatieve dichtheden grijze of witte stof. Uiteindelijk kan men op voxel-niveau uitspraken doen over deze relatieve dichtheid binnen bepaalde groepen personen.

De resultaten van deze 18 tweelingstudies lieten zien dat gedurende het leven totaal hersenvolume erg hoog erfelijk is: erfelijkheidschattingen die gerapporteerd worden lopen uiteen van 89% tot wel 97%. Daarnaast lijken individuele verschillen in globaal grijze en witte stof ook te worden verklaard door genetische verschillen. Echter, voor de laterale ventrikels, de hersenkamers gevuld met cerebrospinale vloeistof, geldt dit niet. Het volume van deze ruimtes wordt vooral door (gedeelde en unieke) omgevingsfactoren beïnvloed. Indien erfelijkheden van kleinere structuren in het brein worden onderzocht, blijken er meer uiteenlopende resultaten te zijn: erfelijkheidschattingen variëren van 90-95% in de frontale hersenschors tot 40-69% in de hippocampus, versus meer prominente omgevingsinvloeden die bijdragen aan verschillen in hersengebieden rondom de ventrikels. Studies die gebruik maakten van corticale dikte metingen of VBM vonden een hoog

erfelijkheidspercentage in de mediale frontale cortex, Heschl's gyrus en de postcentrale gyrus. Matige erfelijkheidspercentages werden vooral gevonden in (para) hippocampus, amygdala en in de witte stof van de superior occipito-frontale fasciculus. Het blijkt dat de genetische invloed verandert met leeftijd: over een leeftijdspanne van de kindertijd tot late adolescentie is gevonden dat erfelijkheid van globaal grijze stof volume toeneemt. In dit hoofdstuk wordt veelal de nadruk gelegd op het belang van grote homogene (tweeling)populaties die geanalyseerd dienen te worden met geavanceerde statistische methoden, zoals structural equation modelling (SEM). Op deze manier kunnen betrouwbare uitspraken worden gedaan over genetische en omgevingsfactoren en de interactie tussen beide. Ook wordt in dit hoofdstuk het belang onderstreept van de bevindingen uit tweelingonderzoek indien men op zoek gaat naar specifieke genen en/of omgevingsfactoren die onze hersenontwikkeling gedurende het leven sturen.

In **hoofdstuk 3** werd de erfelijkheid van globale en regionale hersenmaten onderzocht in tweelingen rond de aanvang van de puberteit. Daarnaast werd de relatie tussen secundaire geslachtskenmerken (zoals borst-/penisgroei, schaamhaar ontwikkeling) en hersenstructuur in kaart gebracht door kinderen te vergelijken met en zonder deze kenmerken. In een groep kinderen bestaande uit 45 MZ en 62 DZ tweelingparen van 9 jaar oud werden globale hersenvolumes (intracranieel volume, totaal hersenvolume, grijze en witte stof, cerebellum en lateraal ventrikel volume) gemeten. Regionale grijze en witte stof-dichtheden werden gemeten met behulp van VBM. In overeenstemming met de resultaten besproken in hoofdstuk 2, lieten de resultaten van deze studie zien dat op 9-jarige leeftijd globale hersenvolumes zeer hoog erfelijk zijn: de erfelijkheidschattingen varieerden van 77% voor grijze stof volume tot 94% voor totaal hersenvolume. Een uitzondering vormde het ventrikelvolume dat maar voor 35% erfelijk werd geschat. De bevindingen waren meer variabel als het gaat om regionale schattingen. Omvangrijke witte stof gebieden gelegen met name achter in het brein (i.e. fronto-occipitale en superior longitudinale fasciculi) waren significant erfelijk. Een stuk minder omvangrijke grijze stof gebieden waren significant erfelijk, en werden gevonden in de amygdala, superior frontale gyrus en midden temporale gyrus. De resultaten impliceren dat er wellicht een stabiel genetische factor betrokken is bij de

ontwikkeling van witte stof dichtheid achter in het brein gedurende het leven: namelijk, achter in het brein gelegen witte stof is hoog erfelijk op 9 jaar wat overeenkomt met bevindingen in volwassenen. Daarnaast werd gevonden dat met het zichtbaar worden van de eerste secundaire geslachtskenmerken, grijze stof in frontale en pariëtale gebieden afneemt. Dit werd net name in meisjes gevonden en heeft hoogstwaarschijnlijk te maken met het feit dat relatief weinig jongens van 9 jaar secundaire geslachtskenmerken vertoonden.

Hoofdstuk 4 was gericht op de allereerste endocrinologische marker van de puberteit: luteïniserend hormoon (LH). Dit hormoon werd bij de 9-jarige kinderen gemeten in ochtendurine en waardes werden bepaald met een zeer sensitieve meetmethode (immunometrisch assay). Eerder was al aangetoond dat met deze methode nachtelijke pieken in LH afgifte betrouwbaar kunnen worden vastgesteld en duiden op het begin van de puberteit (Demir et al., 1996). Deze nachtelijke LH pieken starten ongeveer 1 tot 2 jaar alvorens zich de secundaire geslachtskenmerken openbaren in zowel jongens als meisjes. In dit hoofdstuk werd de relatie tussen LH niveau en grijze en witte stof onderzocht en gekeken of er een mogelijke genetische basis ten grondslag ligt aan dit verband. Resultaten lieten zien dat hoe hoger het LH niveau is, hoe groter de proportie totale witte stof in de hersenen. Op regionaal niveau voorspelde een hogere LH spiegel meer witte stof dichtheid in het splenium van het corpus callosum, het cingulum en in de temporaal schors. De relatie tussen LH spiegels en deze witte stof gebieden lijkt te worden veroorzaakt door een gemeenschappelijk genetische factor. Doordat LH in geen enkel opzicht gerelateerd was aan grijze stof volume of dichtheid, suggereren deze data dat LH specifiek een invloed heeft op de ontwikkeling van witte stof.

Wanneer de resultaten van hoofdstukken 3 en 4 met elkaar worden vergeleken, dan valt op dat het vroege puberteitshormoon LH voornamelijk is geassocieerd met witte stof (toename), terwijl secundaire geslachtskenmerken, welke een resultaat zijn van de opvolgers van LH, namelijk oestradiol en testosteron, gerelateerd zijn aan grijze stof afnamen.

Omdat eerder onderzoek heeft aangetoond dat de hersenen tijdens de puberteit en adolescentie een regio-specifiek ontwikkelingspatroon laten zien (Giedd et al., 2006) is het wellicht mogelijk dat de hersenen verschillend reageren op

blootstelling aan fluctuerende hormoonspiegels gedurende deze turbulente periode (Sisk en Zehr, 2005). Om dit nader te onderzoeken werd in **hoofdstuk 5** de relatie tussen testosteron –en oestradiolspiegels en hersenstructuur onderzocht in een groep van 78 kinderen tussen de 10 en 15 jaar. Deze kinderen zijn de oudere broers en zussen van de eerder beschreven 9-jarige tweelingen en zij waren al wat verder in de puberteit. Op grond van het gegeven dat geslachtshormonen betrokken zijn bij de ontwikkeling van geslachtsverschillen, werd ook onderzocht of verhoogde puberteitsproductie van testosteron en oestradiol verband hield met geslachtsverschillen in het brein. Analyses wezen uit dat hogere oestradiol spiegels in meisjes waren geassocieerd met lagere grijze stof dichtheid in (pre-)frontale, parietale en temporale gebieden. Deze oestradiolgerelateerde afname bleef bestaan nadat er voor leeftijdsgerelateerde totale grijze stof afname was gecontroleerd. In andere delen van de hersenen werden juist oestradiol gerelateerde toenames van de grijze stof gevonden, gelokaliseerd in occipitale, midden-temporale en midden-frontale gebieden van de cortex. Oestradiol spiegels in meisjes waren niet gerelateerd aan witte stof dichtheden. Oestradiol spiegels in jongens lieten geen verband zien met grijze als witte stof dichtheid. In geen van beide seksen konden testosteronniveaus worden gerelateerd aan grijze of witte stof. Conform eerdere studies werden er prominente geslachtsverschillen gevonden in grijze stof dichtheid, onder andere in de amygdala, putamen, thalamus, insula, rostrale anterior cingulate, en superior temporale gyrus (hogere dichtheid in jongens) en in de hippocampus, caudate nucleus, caudale anterior cingulate, midden temporale gyrus en inferior occipitale gyrus (hogere dichtheid in meisjes). Echter, deze seksueel dimorfe gebieden lieten tegen de verwachting in geen associatie zien met testosteron of oestradiol spiegels. Uit dit hoofdstuk kan worden geconcludeerd dat in meisjes die al wat verder in de puberteit zijn dan jongens, oestradiol betrokken lijkt te zijn bij de ontwikkeling van heteromodale gebieden in de cortex. De bevinding dat er in jongens geen dergelijk verband was tussen geslachtshormonen en breinstructuur, zou kunnen liggen aan het feit dat op deze leeftijd hormoonspiegels nog relatief laag zijn en/of dat de effecten zich mogelijk in een andere periode manifesteren.

Dus, tegen de verwachting in kon er geen associatie worden vastgesteld tussen geslachtshormoonspiegels in de (vroeg) puberteit en geslachtsverschillen in het brein. Zodoende werd de hypothese opgesteld dat geslachtsverschillen in het brein wellicht al veel eerder dan de puberteit ontstaan, namelijk in de prenatale fase waarin het brein sterk gevoelig is voor de invloed van geslachtshormonen. Uit dierstudies kwam eerder al naar voren dat prenatale testosteron blootstelling een rol speelt bij het ‘masculiniseren’ van de hersenen, terwijl in de afwezigheid van testosteron blootstelling er juist ‘feminisatie’ optreedt (Collaer and Hines, 1995). Daarnaast werd in dieren gevonden dat de positie van een foetus in de baarmoeder ook prenatale testosteron blootstelling kan beïnvloeden, door middel van de nabijheid van een mannelijke foetus (Vom Saal, 1989). In mensen is er vlak na de geboorte al een duidelijk geslachtsverschil in breingrootte: pasgeboren jongens hebben grotere globale hersenvolumes (ongeveer 10% groter) dan pasgeboren meisjes (Gilmore et al., 2007). Ook na correctie voor lichaamslengte blijft dit opvallende verschil bestaan. Gegeven deze bevindingen, werd in het laatste **hoofdstuk 6** geprobeerd om een relatie te vinden tussen het delen van de baarmoeder met een broertje en masculinisatie van hersenvolumes ten opzichte van het delen van een baarmoeder met een zusje tijdens de zwangerschap. Vier groepen kinderen afkomstig van dizygote tweelingen werden onderzocht: jongens met een broertje (SSM), jongens met een zusje (OSM), meisjes met een broertje (OSF) en meisjes met een zusje (SSF), allemaal 9 jaar oud (119 individuen). Gebaseerd op hun vermoedelijke blootstelling aan prenatale testosteronspiegels, werd verwacht dat kinderen met een broertje (SSM en OSF) een groter hersenvolume zouden hebben dan kinderen met een zusje (OSM en SSF). Hierbij werd rekening gehouden met ‘eigen’ geslachtsverschillen en effecten van geboortevolgorde. Resultaten lieten zien dat kinderen met een broertje inderdaad een groter totaal breinvolume, witte stof volume en cerebellum hebben dan kinderen met een zusje, bovenop het “gewone” geslachtsverschil. SSM kinderen, van wie verwacht werd dat zij blootgesteld zijn aan de hoogste prenatale testosteronspiegels, vertoonden de meest ‘mannelijke’ (grootste) hersenvolumes gevolgd door OSM, OSF en SSF kinderen. Van belang is dat huidige testosteron (en/of oestradiol) spiegels of lichaamslengte deze verschillen niet konden verklaren. Deze resultaten suggereren

dat prenatale testosteron blootstelling mogelijk een rol kan spelen in ‘masculinisatie’ (vergroting) van totaal hersenvolume. Daarnaast bleek uit een post-hoc analyse dat het masculiniserende effect van een tweelingbroertje op de hersenen even sterk was in kinderen met een oudere broer en in kinderen met oudere zus. Deze bevinding maakt de rol van post-natale (sociale) effecten op totaal hersenvolume onwaarschijnlijker dan prenatale effecten.

Uit de resultaten van dit proefschrift blijkt dat erfelijke factoren ten grondslag liggen aan het tot stand komen van individuele verschillen in hersenvolume op 9 jaar. Echter, wanneer er op een meer regionaal niveau in het brein wordt gekeken, lijkt grijze stof in de voorste delen van de hersenen een stuk minder erfelijk dan de witte stof gelegen achter in het brein. Eerdere studies van andere onderzoeksgroepen toonden al aan dat het brein rond de puberteit en adolescentie nog niet is uitontwikkeld. Vooral de zogenoemde heteromodale cortex (prefrontale, parietale en temporale gebieden) ontwikkelt zich nog verder in die periode (e.g. Giedd et al., 1999; Sowell et al., 2002; Gogtay et al., 2004). De studies in dit proefschrift geven een eerste voorzichtige aanwijzing dat grijze stof in juist die gebieden meer gevoelig lijkt te zijn voor omgevingsinvloeden. Wat voor invloeden dat dan zijn moet nader worden onderzocht.

In de zojuist aangehaalde studies naar de hersenen in deze periode werd puberteitsontwikkeling nooit direct gemeten. Uit dit proefschrift wordt duidelijk dat in relatie met hormonale veranderingen in de (vroeg) puberteit, grijze en witte stof zich verder lijken te ontwikkelen. Specifieker kan gesuggereerd worden dat voornamelijk in een allereerst stadium van de puberteit, LH productie witte stof groei zou kunnen moduleren in bepaalde gebieden. Het is goed wel mogelijk dat gemeenschappelijke genen die zowel LH productie als witte stof groei beïnvloeden hieraan een essentiële bijdrage leveren. In een meer gevorderd puberteitsstadium lijkt juist een verhoogde productie van oestradiol in meisjes gerelateerd te zijn aan grijze stof veranderingen (toe –evenals een afname). In jongens werd er geen verband gevonden tussen huidige geslachtshormoonspiegels en hersenstructuur. Een verklaring voor het feit dat in jongens (nog) geen dergelijk verband tussen geslachtshormonen en hersenstructuur kon worden gevonden, zou kunnen liggen aan een latere puberteitsontwikkeling in jongens dan meisjes. Echter, longitudinale

studies zijn noodzakelijk om daarover uitsluitsel te kunnen geven. Daarnaast kan het wellicht zo zijn dat prenatale testosteronspiegels hersenstructuur op deze leeftijd (tussen 9 en 14 jaar) beter voorspellen dan testosteronspiegels in de (vroeg) puberteit.

Concluderend kan worden gezegd dat het puberbrein een ‘werk in uitvoering’ is. Dit proefschrift draagt bij aan een beter begrip van het samenspel tussen genetische en omgevingsfactoren, hormonen en hersenstructuur in deze belangrijke levensfase. Vervolgmetingen bij deze populatie zullen zich onder andere richten op de mogelijke interactie tussen leeftijd en genotype in relatie tot hersenontwikkeling. Ook zal de associatie tussen geslachtshormonen en hersenontwikkeling verder worden onderzocht.