

Nederlandse samenvatting

Achtergrond

Het risico op het ontwikkelen van een psychiatrische ziekte, zoals ‘attention deficit hyperactivity disorder’ (ADHD), schizofrenie of verslaving, wordt voor een aanzienlijk deel bepaald door genetische aanleg. Het identificeren van genen die bijdragen aan de ontwikkeling van een psychiatrische ziekte kan inzicht verschaffen in de moleculaire processen ten grondslag aan de ziekte, en daarnaast mogelijk handvatten bieden om de ziekte te behandelen. Ondanks grote genetische associatie studies is het aantal genen dat tot dus ver in verband is gebracht met het risico om deze ziektes te ontwikkelen beperkt gebleven. Bovendien verklaren deze genen tezamen slechts een kleine fractie van het totale genetische risico om de betreffende ziekte te ontwikkelen. De verwachting is dan ook dat er veel genen niet geïdentificeerd zijn gebleven.

Psychiatrische aandoeningen worden gediagnostiseerd aan de hand van het optreden van een scala aan symptomen. Er is daarbij een grote heterogeniteit onder patiënten met dezelfde aandoening waarbij niet alle symptomen in dezelfde mate voorkomen in iedere patiënt. Een wetenschappelijk breed gedragen idee is dat verschillende genen ten grondslag liggen aan verschillende ziekte symptomen. Om nieuwe relaties te leggen tussen genen en psychiatrische ziekten wordt daarom voorgesteld om de aandoening op te splitsen in goed gedefinieerde symptomen en te zoeken naar genen die specifiek bijdragen aan deze ziekteverschijnselen. In deze context zijn symptomen van overmatige impulsiviteit en aandachtsproblemen zeer relevant, omdat ze worden waargenomen bij meerdere ziektes, zoals ADHD, schizofrenie en verslaving.

Er bestaan uitstekende mogelijkheden om aspecten van aandacht en impulsiviteit in modelorganismen te meten. Het grote voordeel van het uitvoeren van studies in modelorganismen, zoals knaagdieren, is de mogelijkheid om een statistisch verband tussen een gen en een bepaald gedrag experimenteel vast te stellen. Door het ingrijpen in de functie van een gen kan het functionele verband tussen gen en gedrag worden onderzocht, iets dat in humane studies zeer ingrijpend, zo niet onmogelijk is. Het doel van het onderzoek in dit proefschrift was het identificeren van genen die een rol spelen in impulsiviteit en aandacht in knaagdieren en, waar mogelijk binnen de looptijd van het onderzoek, de functionele rol van het betreffende gen nader te onderzoeken.

Hoofdstuk 2

Zowel mensen als dieren devalueren de waarde van een beloning indien die beloning lang op zich zal laten wachten. Bij patiënten met ADHD of een

verslaving is vastgesteld dat zij gemiddeld genomen minder lang op een grote beloning willen wachten. De neiging om een snelle, kleinere beloning te kiezen wordt omschreven als een impulsieve keuze, een gedrag dat dankzij een operante taak ook in ratten kan worden gemeten. In hoofdstuk 2 heb ik gevonden dat impulsief keuzegedrag van een individuele rat kan worden voorspeld aan de hand van de expressie van dopamine receptor D_1 en D_5 in de mediale prefrontale cortex (mPFC) van de desbetreffende rat. Deze correlatie, een statistisch verband, heb ik functioneel onderzocht door stoffen, die signalering via dopamine receptor D_1 en D_5 beïnvloeden, in de mPFC te injecteren voorafgaand aan de taak. De daarop volgende verandering in impulsief keuze gedrag toonde het causale verband aan tussen deze dopamine receptoren en het impulsieve gedrag. Dit was de eerste studie die een verband aantoonde tussen dopamine receptor D_1 en D_5 in de mPFC en impulsief keuze gedrag. Dit resultaat verschaftte het inzicht in de signaalsystemen die impulsieve keuze sturen en daarmee mogelijk een rol spelen in de etiologie van ADHD.

Hoofdstuk 3

Voor kwantificeren van aandacht en impulsiviteit in de mens zijn verschillende gecomputeriseerde responstaken ontwikkeld. In hoofdstuk 3 heb ik deze humane taken vertaald naar bestaande en nieuwe gedragstesten en parameters om aandacht en impulsiviteit in muizen te meten. Ter validatie van deze muizentaken heb ik het effect van amfetamine onderzocht, een stof die aandacht en impulsiviteit in de mens beïnvloed. In de zogenaamde 5-choice serial reaction time task (5-CSRTT) gaat gedurende 1 s een licht stimulus aan één van de vijf response gaten in de wand van een zogenaamde operante kooi. Een correcte respons in het verlichtte gat werd beloond door het verstrekken van een smakelijke voedselbeloning in een bakje in de tegenoverliggende wand van de kooi. Impulsief gedrag in deze taak was gedefinieerd als het responderen vóórdát het stimuluslicht aan gaat. De klassieke maat voor aandacht in deze taak is het percentage correcte responsen. Daarnaast heb ik een nieuwe parameter geïntroduceerd, de variabiliteit in correcte reactie snelheden, een parameter die zeer gevoelig bleek in verschillende studies met ADHD patiënten versus controles. Daarnaast heb ik een Go/No-Go taak ontwikkeld, waarin muizen werden beloond als ze reageerden op een lichtstimulus (Go-stimulus) in een respons gaatje. Om responsinhibitie te meten werd één op de vijf stimuluspresentaties gekoppeld aan een luide toon (No-Go stimulus). Onder die conditie werd een muis beloond als er géén respons werd gemaakt (inhibitie van responsen). Het aantal niet geïnhibeerde responsen tijdens No-Go stimuli was een maat voor impulsief gedrag. Daarnaast werd wederom in deze taak de variabiliteit in correcte reactie snelheden gemeten als maat voor aandacht. Twee muizenlijnen, DBA/2J and C57BL/6J, vertoonden verschillen in deze en andere ADHD-gerelateerde gedragsparameters, in het bijzonder in de 5-CSRTT. Daarnaast bleek amfetamine voornamelijk op gedrag in de 5-CSRTT effect te

hebben. Daaruit concludeerde ik de 5-CSRTT van grote waarde was voor vervolgonderzoek naar de genetische basis aandacht en impulsiviteit.

Hoofdstuk 4

'Novelty seeking' en impulsiviteit worden beiden in verband gebracht met het risico op het ontwikkelen van een verslaving en zouden daarom een overeenkomstige genetische basis kunnen hebben. Er bestaan veel ingeteelde muizenlijnen, waarvan broertjes en zusjes genetisch identiek zijn, vergelijkbaar met eeneïge tweelingen. Deze lijnen zijn uitermate geschikt om de genetische aanleg van een bepaald gedrag te bepalen. In dit hoofdstuk heb ik de mate van novelty seeking en impulsiviteit gemeten in meerdere individuen van 12 genetisch diverse muizenlijnen. Het bleek dat 34% van de fenotypische variatie tussen muizen in de mate van impulsief gedrag werd verklaard door genetische variatie. Ik heb aangetoond dat de mate van novelty seeking geen voorspellende waarde had voor de mate van impulsiviteit in de 5-CSRTT, waaruit ik kon concluderen dat beide vormen van gedrag een verschillende genetische basis hebben. Het is daarom uitermate relevant om voor beide typen van gedrag de onderliggende genen te identificeren, in de verwachting dat die genen bijdragen aan verschillende aspecten van verslavingsgedrag.

Hoofdstuk 5

In mens en muis wordt een luide geluidspuls gevolgd door een schrikreactie waarbij verschillende spieren worden samengetrokken. De intensiteit van de schrikreactie is kleiner dan normaal wanneer ongeveer 30 tot 500 ms vóór de luide puls een zachte puls, de zogenaamde prepulse, wordt gegeven. Dit fenomeen heet prepulse inhibitie (PPI). Schizofrenie wordt in verband gebracht met verminderde PPI en aandachtscapaciteit. In hoofdstuk 5 heb ik de vraag gesteld in hoeverre deze twee symptomen genetisch gerelateerd zijn. Ik heb aangetoond dat de mate van PPI in muizenlijnen (zogenaamde BXD lijnen) geen voorspellende waarde hebben voor de mate van aandacht in de 5-CSRTT. Door gebruik te maken van de bekende genetische architectuur van het cohort BXD lijnen kon ik segmenten op het muizengenoom identificeren, zogenaamde 'quantitative trait loci' (QTL), waarin genen liggen die verantwoordelijk zijn voor de gedetecteerde verschillen in gedrag. Ik heb een QTL voor PPI gedetecteerd op chromosoom 17 en een QTL voor aandacht op chromosoom 16. Beide QTL bevatten vele genen. Door gebruik te maken van verschillende databases heb ik een lijst met meest waarschijnlijke kandidaat genen geselecteerd. Vervolgstudies aan zowel PPI, en aan aandacht-gerelateerde genen zullen meer inzicht geven in de verschillende moleculaire mechanismen, die ten grondslag liggen aan psychiatrische ziektes zoals schizofrenie.

Hoofdstuk 6

In hoofdstuk 6 heb ik een QTL voor impulsief gedrag in de 5-CSRTT geïdentificeerd op chromosoom 14. In het QTL voor impulsiviteit bevonden zich 4 genen met daarin verschillen in DNA sequentie die leiden tot een verandering in het eiwit. Naast deze 4 mogelijke kandidaten heb ik een gen geïdentificeerd (Nrg3) dat in de mens geassocieerd is met schizofrenie. Bovendien heeft Nrg3 van alle 36 genen in het impulsiviteit QTL de meest significante associatie met de ADHD diagnose, waardoor dit gen een zeer bruikbare kandidaat is voor vervolgstudies. Uit het feit dat het QTL voor aandacht op een ander chromosoom ligt (hoofdstuk 5), in combinatie met de afwezigheid van een significante correlatie tussen impulsiviteit en aandacht, kan worden geconcludeerd dat aandacht en impulsiviteit genetisch niet zijn gerelateerd. De afzonderlijke genetische basis voor aandacht en impulsiviteit in de muis bevestigen het idee dat subgroepen van ADHD patiënten kunnen bestaan met voornamelijk symptomen van aandachtsstoornissen dan wel impulsiviteit, hetgeen van invloed kan zijn op de diagnose van ADHD.

Hoofdstuk 7

Impulsiviteit is vaak in verband gebracht met alcoholverslaving in de mens. In dit hoofdstuk heb ik in een proefdiermodel onderzocht of verhoogde impulsiviteit een oorzaak of een gevolg is van alcohol zoekgedrag. Ik heb de meest impulsieve BXD lijn in de 5-CSRTT (BXD16, zie Hoofdstuk 6) en een controle lijn (C57BL/6J) onderzocht in een nieuwe taak van aandacht en impulsiviteit. Evenals in de 5-CSRTT was BXD16 ook in de nieuwe simpele reactie tijd taak impulsiever dan C57BL/6J en had een verhoogde variabiliteit in reactietijden. Ik heb een tweede groep muizen getraind in een zelfadministratie taak, waarin muizen zichzelf eerst sucrose konden toedienen, gevolgd door een transitie fase, waarna muizen uiteindelijk respondeerden voor een 15% alcohol oplossing. Terwijl BXD16 en C57BL/6J even gemotiveerd waren om zichzelf sucrose toe te dienen, was de motivatie en zoekgedrag voor alcohol hoger in BXD16 dan in C57BL/6J. Ondanks dat aanvullende studies nodig zijn om de genetische relatie tussen impulsiviteit en alcohol zoekgedrag aan te tonen, kon ik voor de eerste keer in de muis vaststellen dat verhoogde impulsiviteit een risicofactor is voor alcohol zoekgedrag.

Conclusie

In dit proefschrift heb ik proefondervindelijk kunnen vast stellen dat het opsplitsen van complexe ziektes in duidelijk gedefinieerde symptomen de translatie naar proefdiermodellen mogelijk maakt, en dat dit een efficiënte wijze is om genen en ziekte met elkaar in verband te brengen. Dankzij deze dissectie van complexe ziektebeelden zijn kandidaat genen gevonden voor schizofrenie die ófwel bijdragen aan symptomen van verlaagde PPI ófwel aan symptomen van gebrek aan aandacht. Ook de concepten 'novelty seeking' en impulsiviteit bleken

op genetisch niveau goed te onderscheiden te zijn. Hetzelfde geldt voor de belangrijkste ADHD symptomen, waarvoor ik kandidaat genen heb gevonden, die ófwel bijdragen aan impulsiviteit, ófwel aan aandachtsgebrek. Door het gebruik van modelorganismen zoals muizen en ratten in dit proefschrift, is de vervolgstap, het aantonen van een causaal verband tussen gen en gedrag, binnen handbereik. De QTL en genen geïdentificeerd in dit proefschrift maken het mogelijk een beter inzicht te krijgen in moleculaire processen die ten grondslag liggen aan ziektes zoals ADHD, schizofrenie en verslaving, en brengen daarmee behandelmethoden dichterbij.