



**Universiteit  
Leiden**  
The Netherlands

## **Hypocretin deficiency : neuronal loss and functional consequences**

Fronczek, R.

### **Citation**

Fronczek, R. (2008, January 30). *Hypocretin deficiency : neuronal loss and functional consequences*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/12580>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/12580>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

# Nederlandse Samenvatting

Narcolepsie is een slaap/waak stoornis die gekarakteriseerd wordt door instabiliteit van waak en de verschillende slaapstadia. De klassieke symptomen van narcolepsie zijn overmatige slaperigheid overdag, kataplexie (een plotseling, symmetrisch verlies van spierspanning uitgelokt door sterke emotionele stimuli - zoals bij lachen - met behouden bewustzijn), hypnagoge hallucinaties (zeer levendige en vaak beangstigende droomervaringen die voorkomen bij de overgang van waak naar slaap of andersom) en slaaparalyse (waarbij een patiënt zich na het ontwaken of vlak voor het in slaap vallen niet kan bewegen maar wel wakker is). Andere belangrijke symptomen zijn een gefragmenteerde nachtslaap, verminderde alertheid en overgewicht. De oorzaak van narcolepsie is een gebrek aan hypocretine (ook wel orexine genaamd), waarschijnlijk veroorzaakt door een selectief verlies van de cellen in de hypothalamus die deze neurotransmitter maken. Bij patiënten met narcolepsie is hypocretine niet of nauwelijks aantoonbaar in het hersenvocht.

---

## Deel 1 - De hypothalamus en hypocretine neuronen

In het eerste deel van dit proefschrift wordt het hypocretinesysteem bestudeerd in neurodegeneratieve aandoeningen die gepaard gaan met slaapstoornissen lijkend op die van narcolepsie, zoals de ziekten van Parkinson en Huntington. Ook wordt het hypocretinesysteem onderzocht bij het Prader-Willi syndroom.

### *Ziekte van Parkinson*

Hoewel de ziekte van Parkinson primair gekenmerkt wordt door motorische symptomen, zoals tremor, traagheid en rigiditeit, komen ook slaapstoornissen frequent voor. Deze lijken op de symptomen van narcolepsie. De hypocretineconcentratie in het lumbale hersenvocht blijkt normaal te zijn. Echter, een verlaagde concentratie of zelfs afwezigheid van hypocretine in de hersenventricels werd gerapporteerd. Wij bestudeerden post-mortem het hypocretinesysteem van negen patiënten met deze ziekte en negen controlepersonen. Het hypocretinesysteem bleek aangedaan bij de ziekte van Parkinson. Het aantal hypocretineneuronen is gemiddeld met 50% afgenomen. De hypocretineconcentratie in de cortex was 40% lager en de concentratie in het hersenvocht 25% lager dan bij gezonde controlepersonen. Deze bevindingen zouden de slaapstoornissen die vaak optreden bij de ziekte van Parkinson ten dele kunnen verklaren.

### *Ziekte van Huntington*

De ziekte van Huntington is een neurodegeneratieve, genetisch bepaalde 'repeat'-stoornis met een dominante overerving, gekenmerkt door abnormale dans-achtige lichaamsbewegingen (chorea) en dementie. Patiënten hebben tevens last van ernstig gewichtsverlies, slaapstoornissen en autonome dysfunctie. Deze symptomen zouden

veroorzaakt kunnen worden door veranderingen in de neurotransmissie van hypocretine. Hoewel de hypocretineconcentratie normaal is in het spinale hersenvocht van patiënten, bleek de dichtheid van hypocretineneuronen verminderd bij twee muismodellen van deze ziekte. Om na te gaan of dit ook bij mensen het geval is, onderzochten wij post-mortem het hypocretinesysteem bij patiënten met de ziekte van Huntington en controlepersonen. Het aantal hypocretineneuronen en de hypocretineconcentratie in de cortex bleek 30% afgenomen. De concentratie in het hersenvocht uit de ventrikels was normaal. Deze bevinding staat in schril contrast met de sterke afname die aangetoond is bij het R6/2 muismodel van de ziekte. In hoeverre deze afname bijdraagt tot de symptomen van patiënten met de ziekte van Huntington moet verder worden onderzocht.

### *Prader-Willi Syndroom*

Het Prader-Willi syndroom is een genetisch bepaald syndroom met mentale retardatie, hypogonadisme en groeideficiëntie. Het meest kernmerkende symptoom is onverzadigbare honger. Het is de meest voorkomende genetische oorzaak van overgewicht. Patiënten met dit syndroom hebben tevens last van slaapstoornissen en er zijn zelfs beschrijvingen van kataplexie. De hypocretineconcentratie in het hersenvocht is echter niet abnormaal laag. Wij bestudeerden de hypocretineneuronen in de hypothalamus van acht volwassenen en drie kinderen met het Prader-Willi syndroom en elf gezonde controlepersonen. Het aantal hypocretineneuronen bleek niet verlaagd bij patiënten. Het is onwaarschijnlijk dat een afname van het aantal hypocretineneuronen de oorzaak is van de overmatige slaperigheid en kataplexie die gerapporteerd worden bij dit syndroom.

### *Oorzaak van hypocretinecelverlies*

Bij narcolepsie is er een verlies van meer dan 95% van hypocretine-bevattende neuronen in de laterale hypothalamus, met als gevolg een afwezigheid van hypocretine in het hersenvocht en de cortex. Het is onbekend hoe deze neuronen verdwijnen. Volgens de meest gehuldigde hypothese is een auto-immuun proces verantwoordelijk voor deze selectieve celdood. Wij onderzochten het hersenvocht van 54 narcolepsiepatiënten en het serum van 76 patiënten en 63 controlepersonen op de aanwezigheid van auto-antilichamen gericht tegen hypocretineneuronen in de laterale hypothalamus. Detecteerbare auto-antilichamen waren aanwezig bij twee patiënten, maar ook bij twee controlepersonen. Immuunkleuring leverde dan ook geen direct bewijs voor de theorie dat autoantilichamen een rol spelen bij het selectief verlies van hypocretineneuronen bij narcolepsie.

### *Behandeling met intraveneuze immunoglobulinen*

In lijn met de heersende auto-immuun theorie om de pathogenese van narcolepsie te verklaren, heeft men geprobeerd een jongen van 8 jaar oud bij acute manifestatie van de symptomen van narcolepsie te behandelen met een hoge dosis prednison. Dit was niet effectief. Twee open onderzoeken met intraveneuze immunoglobulinen (IVIg) kort na aanvang van de ziekte lieten echter een dramatische reductie in de frequentie en ernst van kataplexie zien. Wij voerden een dubbelblinde, placebogecontroleerde n=1 studie uit in een patiënte die al zeven jaar last had van ernstige kataplexie die niet op medicatie reageerde. Een voorafgaande open behandeling met intraveneuze immunoglobulinen resulteerde in een dramatische verbetering. Dit effect verdween echter in de daarop

volgende dubbelblinde, placebogecontroleerde N=1 studie. Er was geen verschil tussen de placebo en de intraveneuze immunoglobuline behandeling. Het placebo-effect was indrukwekkend groot.

---

## **Deel 2 - Afwezigheid van hypocretine neuronen: Narcolepsie**

In het tweede deel van dit proefschrift worden de gevolgen van het verlies van hypocretine onderzocht, met name wat betreft alertheid, metabolisme, het autonoom zenuwstelsel en temperatuurregulatie.

### *Alertheid*

Overmatige slaperigheid overdag wordt beschouwd als het hoofdsymptoom van narcolepsie. Dit focus op ongewild in slaap vallen heeft ervoor gezorgd dat wellicht de meest serieuze klacht onderbelicht is gebleven, namelijk verminderde prestatie tijdens het wakker zijn. Dit gebrek aan vigilantie (alertheid) overdag mag worden beschouwd als een van de meest invaliderende klachten bij narcolepsie. Deze realisatie leidde tot het besef dat een test die dit aspect meet nuttig zou kunnen zijn. De Sustained Attention to Response Task (SART) leek een goede kandidaat, omdat deze test slechts vier minuten duurt en gemakkelijk uitgevoerd kan worden. We vergeleken de SART met twee instrumenten die worden gebruikt om slaperigheid te meten: de Multipele Slaap Latentie Test (MSLT) en de Epworth Sleepiness Scale (ESS). De SART bleek even vaak abnormaal als de MSLT en de ESS en bleek een ander aspect dan in slaap vallen te meten. Er bestond geen significante correlatie tussen de instrumenten. Geconcludeerd wordt dat de SART een valide, eenvoudig uit te voeren test is die weinig tijd kost en een vaak verwaarloosd aspect van narcolepsie kan kwantificeren.

### *Metabolisme en autonoom zenuwstelsel*

Overwicht is een kenmerkend symptoom van narcolepsie met een vooralsnog onbekende oorzaak. Natuurlijk zijn te veel eten of te weinig bewegen verklaringen die al snel gesuggereerd worden in relatie tot narcolepsie. Tegen de verwachting in lijken narcolepsiepatiënten echter minder te eten dan gezonde controlepersonen, terwijl er geen overtuigende aanwijzingen waren voor een veranderd activiteitsniveau. De link tussen een gebrek aan hypocretine en overgewicht moet dus complexer zijn dan aanvankelijk werd gedacht. Wij bestudeerden het basaal metabolisme en autonome regulatie van hartslag en bloeddruk in hypocretine-deficiënte narcolepsiepatiënten en gezonde controlepersonen. We verwachtten een verlaagd basaal metabolisme en een verlaagde sympathische tonus bij de narcolepsie patiënten. Gebruik makend van indirecte calorimetrie kon echter geen verschil in basaal metabolisme gevonden worden. Narcolepsiepatiënten hadden wel een grotere variatie in hartslag en bloeddruk, hetgeen op een verlaagde sympathische tonus zou kunnen wijzen. De rol van deze bevinding in de pathofysiologie van het overgewicht bij narcolepsie moet nog opgehelderd worden.

### *Huidtemperatuur regulatie*

Bij gezonde controlepersonen is er een relatie tussen huidtemperatuur en slaap. Wanneer de distale huidtemperatuur (handen en voeten) stijgt ten opzichte van de

proximale huidtemperatuur (romp), wordt in slaap vallen gefaciliteerd. Deze stijging van de huidtemperatuur wordt veroorzaakt door toegenomen doorbloeding van de huid van de extremiteiten en wordt onder andere gecontroleerd door de hypothalamische circadiane klok, net zoals slaap. Omdat hypothalamische veranderingen kenmerkend zijn voor narcolepsie, bestudeerden wij huidtemperatuur bij narcolepsie en gezonde controlepersonen in relatie tot slaap. We vonden dat de temperatuur van de distale huid hoger is bij patiënten met narcolepsie in wakkere toestand, terwijl de temperatuur van de proximale huid lager is. Deze veranderingen zijn geassocieerd met de verhoogde slaapneiging. Tijdens de slaap bleef de distale huidtemperatuur relatief hoog, terwijl de proximale huidtemperatuur normaliseerde. Geconcludeerd wordt dat een gebrek aan hypofunctie de regulatie van huidtemperatuur beïnvloedt.

Ons volgende doel was te onderzoeken of veranderingen in huidtemperatuur bijdragen aan de klachten van narcolepsie. Hiertoe werden de Psychomotor Vigilance Task (PVT), die aandacht meet, en de Maintenance of Wakefulness Test (MWT), die meet hoe lang men wakker kan blijven overdag, herhaaldelijk uitgevoerd terwijl de lichaams- en huidtemperatuur gemanipuleerd werden door middel van een speciaal temperatuurpak en warme of koude hapjes en drankjes. Bij patiënten met narcolepsie was het mogelijk het aandachtsniveau overdag te verbeteren door de kerntemperatuur licht te verhogen tot een normaal niveau. Slaperigheid overdag kon verminderd worden door de handen en voeten te koelen. Alhoewel deze effecten beperkt van omvang waren, zou dit in de toekomst therapeutische consequenties kunnen hebben.

Naast slaperigheid en verminderde aandacht overdag, is een verstoorde nachtslaap een kernsymptoom van narcolepsie met een grote invloed op de kwaliteit van leven. Nachtelijke meting van de slaap laat een fragmentatie van het normale slaappatroon en frequent ontwaken zien. Om een causale relatie tussen temperatuurveranderingen en de verstoorde nachtslaap bij narcolepsie aan te tonen, manipuleerden we de proximale en distale huidtemperatuur door middel van het eerder genoemde temperatuurpak tijdens een nachtelijke meting van de slaap. Gedurende de nacht werd de huidtemperatuur zodanig gemanipuleerd dat deze langzaam schommelde binnen de grenzen die normaal tijdens de nacht geobserveerd worden. We waren op deze manier in staat de nachtslaap te verbeteren door het subtiel koelen van de distale huid en het verwarmen van de proximale huid, zodat de eerder bij narcolepsie gevonden veranderingen in huidtemperatuur werden tegengegaan. Op deze manier werd de nachtslaap van narcolepsiepatiënten meer vergelijkbaar met de nachtslaap van gezonde controlepersonen. Het manipuleren van de huidtemperatuur zou klinische relevantie kunnen hebben in het tegengaan van de verstoorde nachtslaap bij narcolepsie.

# Curriculum Vitae

Rolf Fronczek was born February 10, 1981 in Sittard. In 1987, his education began at “Basisschool Hulsberg”. He went to the “Sintermeerten College” in Heerlen in 1993, where he obtained his “gymnasium” diploma cum laude. In 1999 he started his study of medicine at Leiden University, where he passed his “propedeuse” level examination cum laude in 2000. While also working towards a minor in classical solo singing at the Royal Conservatory in The Hague through the Leiden Faculty of Arts, he obtained his Master’s Degree in medicine in 2005. During those years, he worked as a Student Assistant as well, teaching microscopy, brain anatomy and body dissection. He started his PhD training as part of the Leiden University Medical Centre (LUMC) excellent student program at the Department of Neurology of the LUMC and the Netherlands Institute for Neurosciences in Amsterdam. During his PhD training, he worked as an Autopsy Assistant for the Netherlands Brain Bank. In 2006, the European Sleep Research Society (ESRS) awarded his temperature and sleep research with the Helgi Kristbjarnarson Award for innovative research. Part of his research was performed in the Beth Israel Deaconess Medical Centre of Harvard Medical School in Boston.



# List of Publications

1. **Fronczek R**, Overeem S, Lee SY, Hegeman IM, van Pelt J, van Duinen SG, Lammers GJ, Swaab DF. Hypocretin (orexin) loss and sleep disturbances in Parkinson's Disease. *Brain* 2007, in press.
2. **Fronczek R**, Verschuuren J, Lammers GJ. Response to intravenous immunoglobulins and placebo in a patient with narcolepsy with cataplexy. *J Neurol.* 2007 Sep 4;
3. **Fronczek R**, van der Zande WL, van Dijk JG, Overeem S, Lammers GJ. [Narcolepsy: a new perspective on diagnosis and treatment]. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2007 Apr 14;151(15):856-61. Review. Dutch.
4. **Fronczek R**, Overeem S, Lee SY, Hegeman IM, van Pelt J, van Duinen SG, Lammers GJ, Swaab DF. Hypocretin (orexin) loss in Parkinson's disease. *Brain.* 2007 Jun;130(Pt 6):1577-85.
5. **Fronczek R**, Overeem S, Lammers GJ, van Dijk JG, Van Someren EJ. Altered skin-temperature regulation in narcolepsy relates to sleep propensity. *Sleep.* 2006 Nov 1;29(11):1444-9.
6. van Marken Lichtenbelt WD, Daanen HA, Wouters L, **Fronczek R**, Raymann RJ, Severens NM, Van Someren EJ. Evaluation of wireless determination of skin temperature using iButtons. *Physiol Behav.* 2006 Jul 30;88(4-5):489-97.
7. Overeem S, Verschuuren JJ, **Fronczek R**, Schreurs L, den Hertog H, Hegeman-Kleinn IM, van Duinen SG, Unmehopa UA, Swaab DF, Lammers GJ. Immunohistochemical screening for autoantibodies against lateral hypothalamic neurons in human narcolepsy. *J Neuroimmunol.* 2006 May;174(1-2):187-91.
8. **Fronczek R**, Middelkoop HA, van Dijk JG, Lammers GJ. Focusing on vigilance instead of sleepiness in the assessment of narcolepsy: high sensitivity of the Sustained Attention to Response Task (SART). *Sleep.* 2006 Feb 1;29(2):187-91.
9. **Fronczek R**, Lammers GJ, Balesar R, Unmehopa UA, Swaab DF. The number of hypothalamic hypocretin (orexin) neurons is not affected in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Sep;90(9):5466-70.
10. **Fronczek R**, Raymann RJ, Romeijn N, Overeem S, Fischer M, van Dijk JG, Lammers GJ, Someren EJW. Manipulation of core body and skin temperature improves vigilance and maintenance of wakefulness in narcolepsy. *Sleep*, in press.



11. Aziz NA, Fronczek R, Maat-Schieman MLC, Unmehopa UA, Roelandse FWC, Overeem S, Van Duinen SG, Lammers GJ, Swaab DF, Roos RAC. Hypocretin and Melanin-Concentrating Hormone in Patients with Huntington Disease. *Brain Pathology*, in press.