

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta

Studijní program: Neurovědy



MUDr. Eszter Maurovich Horvat

Imunologické a metabolické změny u poruch spánku

Disertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc.

Praha, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze 16. června 2014

MUDr. Eszter Maurovich Horvat

IDENTIFIKAČNÍ ZÁZNAM:

MAUROVICH HORVAT Eszter. Imunologické a metabolické změny u spánkových poruch. (Immunological and metabolic changes in sleep disorders). Praha, 2014. 104 s. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd

Školitel: Prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc.

Poděkování

Nebylo by možné napsat tuto doktorandskou práci bez pomoci a podpory mé rodiny, mých kolegů, kamarádů a bez ochotné spolupráce pacientů, kteří se zúčastnili všech studií.

Zvláštní poděkování patří panu profesorovi Šonkovi, za jeho vedení a podporu během celého mého doktorandského studia.

Práce vznikla za podpory grantu Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví ČR 1323838-4, grantu Univerzity Karlovy PRVOUK P26/LF1/4 a grantu SVV 260 020/2014.

OBSAH

ABSTRAKT	7
ABSTRACT	9
ÚVOD	11
Regulace glukózového metabolismu a spánek	12
Osa hypothalamus-hypofýza-nadledviny a spánek	13
Imunitní systém, cytokiny a nedostatečný spánek	15
Insomnie	17
Obstrukční spánková apnoe	18
Syndrom neklidných nohou	19
Narkolepsie	19
Narkolepsie a těhotenství	24
CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY STUDIE	26
STUDIE Č. 1	28
Cíl studie:	28
Účastníci studie	28
Metodika	29
Statistická analýza	30
Výsledky	30
STUDIE Č. 2	32
Cíl studie	32
Účastníci studie	33
Metodika	33
Statistická analýza	33
Výsledky	34
STUDIE Č. 3	35
Cíl studie	35
Účastníci studie	35
Metodika	35
Statistická analýza	36
Výsledky	36

STUDIE Č. 4	38
Cíl studie	38
Účastníci studie a metodika	38
Statistická analýza	39
Výsledky	39
Těhotenství	40
Porod	41
Novorozenci	42
Šestinedělí	43
DISKUZE	44
ZÁVĚREČNÉ SHRUTÍ	52
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	53
1. publikace in extenso, které jsou podkladem disertace	67
2. publikace in extenso, které nejsou podkladem disertace	68
Kapitoly a souborné články	69
Kongresové sborníky a abstrakta	69
POUŽÍVANÉ ZKRATKY	71
PŘÍLOHA Č. 1 Hypothalamo-pituitary-adrenal axis, glucose metabolism and TNF-alpha in narcolepsy	72
PŘÍLOHA Č. 2 Impaired glucose tolerance in sleep disorders	81
PŘÍLOHA Č. 3 The stress hormone system in various sleep disorders	88
PŘÍLOHA Č. 4 Narcolepsy and pregnancy: a retrospective European evaluation of 249 pregnancies	95

ABSTRAKT

Epidemiologické a experimentální studie ukazují na vliv nedostatečného nebo nekvalitního spánku na metabolismus glukózy. Navíc spánek ovlivňuje osu hypothalamus-hypofýza–nadledviny. Dopad nekvalitního nebo krátkého spánku při chronických nemocech spánku jako je insomnie, obstrukční spánková apnoe (OSA), syndrom neklidných nohou (RLS) a při narkolepsii, která sama k nekvalitnímu spánku (a spavosti) vede, nejsou dostatečně probádané. Stejně tak chybí informace o těhotenství v souvislosti s narkolepsií. Ve třech prospektivních studiích jsme porovnávali parametry glukózového metabolismu a dynamiky osy hypothalamus-hypofýza–nadledviny u 11 pacientů s narkolepsií a kataplexií s 11 párovanými kontrolními osobami a u 25 pacientů s OSA, u 18 pacientů s RLS a u 21 pacientů s primární insomnií s 33 zdravými kontrolami. Pacienti absolvovali test orální glukózové tolerance, dexametazon inhibiční-CRH stimulační test. U pacientů s narkolepsií a kataplexií jsme v průběhu testu orální glukózové tolerance stanovili hladiny TNF- α jeho solubilních receptorů a hladinu IL-6. Retrospektivní kohortová studie byla provedená ve 12 evropských zemích na 216 pacientkách s narkolepsií a kataplexií a na 33 pacientkách s narkolepsií bez kataplexie. Pacientky vyplnily dotazník týkající se těhotenství, porodu a novorozence.

V porovnání s kontrolami jsme nezjistili vyšší prevalenci poruch glukózového metabolismu u pacientů s narkolepsií a kataplexií, odpověď osy hypothalamus-hypofýza–nadledviny na stimulaci CRH nebyla změněna, ale našli jsme mírně zvýšenou negativní zpětnou vazbu. Pozorované hladiny cytokinů byly lehce zvýšené. U pacientů s OSA a RLS, ale ne s primární insomnií, jsme našli signifikantně vyšší výskyt poruchy glukózové tolerance v porovnání s kontrolní skupinou. Dále byla zjištěna statisticky významná pozitivní korelace mezi hladinou glukózy dvě hodiny po glukózové zátěži s indexem vyjadřujícím počet probouzecích reakcí vázaných na dýchací událost za jednu hodinu spánku u pacientů s OSA a mezi indexem ukazující počet probouzecích reakcí v návaznosti na periodické pohyby dolními končetinami za jednu hodinu spánku u pacientů s RLS. Dále jsme nenašli signifikantní rozdíly mezi patientskými skupinami a zdravou kontrolou v dexametazon supresním-CRH stimulačním testu.

Pacientky se symptomatickou narkolepsií během prvního těhotenství byly starší a měly vyšší body mass index před těhotenstvím než pacientky, které byly během těhotenství asymptomatické. Příbytek na váze byl větší u pacientek s narkolepsií a kataplexií než u pacientek s narkolepsií bez kataplexie. Více pacientek s narkolepsií a kataplexií mělo během těhotenství poruchu metabolismu nebo anémie, než pacientky s narkolepsií bez kataplexie. Tři pacientky udávaly kataplektický záchvat během porodu. Císářský řez byl proveden častěji u pacientek s narkolepsií a kataplexií, a to v porovnání s pacientkami s narkolepsií bez kataplexie. Průměrná délka a váha novorozence byla v normě a statisticky se nelišila mezi skupinami. Péče o novorozence byla stížená kvůli symptomům narkolepsie.

U narkolepsie s kataplexií jsme nepotvrdili poruchu metabolismu glukózy nebo změnu v dynamické odpovědi osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny (pouze negativní zpětná vazba po podání dexametazonu může být mírně zvýšena). U nemocných s narkolepsií a kataplexií je přítomná mírná dysregulace zánětlivých cytokinů. U pacientů s RLS a OSA jsme našli v porovnání se zdravou kontrolní skupinou zvýšený výskyt poruchy glukózového metabolismu, což považujeme za důsledek fragmentace spánku při opakovaných probouzecích reakcích. Fungování osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny měřeno dexametazon inhibiční-CRH stimulačním testem je u pacientů s RLS, OSA nebo insomnií normální. Tak často pozorovaná abnormalita systému hypothalamus-hypofýza-nadledviny u duševních onemocnění pravděpodobně není následek porušeného spánku. Naše mezinárodní dotazníková studie naznačuje, že pacientky s narkolepsií mají výsledky těhotenství srovnatelné s běžnou populací, ale ženy s narkolepsií potřebují podporu a pomoc během péče o dítě.

Klíčová slova:

Narkolepsie – Metabolizmus - Osa hypothalamus-hypofýza-nadledviny - Těhotenství

ABSTRACT

Epidemiological and experimental studies have shown that insufficient or disturbed sleep can have a strong effect on glucose metabolism. In addition, sleep plays an important modulatory role in the hypothalamic-pituitary adrenal axis. The impact of disturbed or short sleep in chronic sleep disorders, such as insomnia, obstructive sleep apnoea (OSA), restless legs syndrome (RLS) and narcolepsy that alone results in poor quality of sleep and sleepiness, has not been sufficiently explored. Similarly, there is a lack of adequate research that examines the effect of narcolepsy on pregnancy.

In prospective study, we compared 11 patients with narcolepsy and cataplexy with 11 matched controls, and next we investigated three other patients groups (25 patients with OSA, 18 with RLS and 21 with primary insomnia) compared with 33 healthy controls. To examine the glucose metabolism and the function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, the patients underwent an oral glucose tolerance test and a dexamethasone suppression- CRH stimulation test. In addition, we measured the level of TNF-alpha and its soluble receptors and the level of IL-6 in patients with narcolepsy. In a retrospective cohort study conducted in 12 European countries, we collected 216 patients with narcolepsy and cataplexy and 33 patients with narcolepsy without cataplexy. The patients filled out structured questionnaires about narcolepsy, delivery and newborns.

In comparison to controls, we did not find a higher prevalence of impaired glucose metabolism in patients with narcolepsy and cataplexy. The response of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in stimulation on CRH was not changed, and we found mildly enhanced negative feedback activity. The level of cytokines was slightly increased. In patients with OSA and RLS, but not with primary insomnia we found significantly higher prevalence of impaired glucose tolerance when compared to healthy controls. Further, there was a statistically significant positive correlation between 2 hours plasma glucose values and the apnea-arousal index in OSA and the periodic leg movement index in RLS. Furthermore, we did not find significant differences between patient groups and healthy controls in dexamethasone suppression- CRH stimulation test.

Patients with symptomatic narcolepsy during the first pregnancy were older and had higher body mass index before pregnancy than patients who were asymptomatic before pregnancy. Weight gain during pregnancy was higher in patients with narcolepsy and cataplexy than in patients with narcolepsy without cataplexy. More patients with narcolepsy and cataplexy had impaired glucose tolerance or anaemia during pregnancy compared to patients with narcolepsy without cataplexy. Three patients had cataplexy episode during delivery. Caesarean section was performed more frequently in patients with narcolepsy and cataplexy. The main weight and height of newborn did not differ between groups. The care of newborn was more difficult because of narcolepsy symptoms.

Our study confirms that narcolepsy with cataplexy by itself is not associated with disturbance of glucose metabolism, but goes along with a subtle dysregulation of inflammatory cytokine production. We also found that dynamic hypothalamic-pituitary-adrenalin system response is not altered, whereas negative feedback to dexamethasone might be slightly enhanced. In patients with RLS and OSA we found higher prevalence of impaired glucose metabolism in comparison to healthy controls, which we consider as the effect of sleep fragmentation after repeated arousals. The function of hypothalamo-pituitary-adrenal axis tested by dexamethasone suppression-CRH stimulation test in patients with RLS, OSA or insomnia is normal. It suggests that the frequently observed abnormalities of the hypothalamic-pituitary-adrenal system in psychiatric disorders are unlikely to be a consequence of altered sleep. Our international retrospective study suggests that women with narcolepsy have pregnancy outcomes comparable to women in the general population, but may require more psychological and practical childcare support from families during the postpartum period.

Key words:

Narcolepsy – Metabolism - Hypothalamo-pituitary - adrenal axis – Pregnancy

ÚVOD

Dobrý spánek hraje důležitou úlohu v regulaci nálady, zachování kognitivní bystrosti tak jako fyziologické rovnováhy organismu.

V posledních 50 letech došlo k postupnému zkrácení spánku, suboptimální délka spánku a jeho špatná kvalita se staly rozšířenými v moderní společnosti. Paralelně se zkrácením spánku se zjistil postupný nárůst obezity, kardiovaskulárních onemocnění a diabetu 2. typu, tak hledání kauzálního účinku délky spánku na vzniku metabolických onemocnění se stalo předmětem zájmu mnoha epidemiologických a experimentálních studiích.

První velkou studii poskytující důkazy o nedostatečném trvání spánku a jeho vlivu na zdraví je "Studie prevence rakoviny" (Cancer Prevention Study) z roku 1964 (Hammond, 1964). Analýza více než jednoho milionu účastníků ukázala, že pravidelný spánek, který je kratší nebo delší než sedm hodin, je spojený s vyšší mortalitou. Další epidemiologické studie včetně těch nejrecentnějších postupně demonstrovaly asociaci mezi délkou spánku a obezitou, diabetem nebo kardiovaskulárním onemocněním (Grandner et al., 2010; Holliday et al., 2013).

Krátké trvání spánku je většinou důsledkem svévolného zkrácení doby spánku. Vliv chronických poruch spánku, které také zkracují trvání spánku a nebo jeho kvalitu, na zdraví je často přehlížený jednotlivci i společností celkově, i když prevalence poruch spánku v populaci je vysoká.

V mojí práci jsem se soustředila na některé metabolické a imunologické aspekty vybraných poruch spánku a bdění. Choroby, které jsou předmětem této disertace, byly vybrány s ohledem na již známé, zajímavé metabolické a imunologické souvislosti, jejich poměrně vysoké prevalence v populaci (insomnie, RLS, OSA) nebo protože jsou kvantifikovatelné způsobem, který ruší spánek (OSA, RLS). Mají jednoznačně diagnostická kritéria a jejich imunopatologické aspekty (narkolepsie s kataplexií) jsou všeobecně známé. Informace o těhotenství u narkolepsie měly poskytnout informace

o možných akcentovaných projevech předpokládané poruše glukozového řízení a případně o důsledcích předpokládané autoimunity. Navíc tato studie byla cílená na chybějící další klinické údaje.

Regulace glukózového metabolismu a spánek

Současné výsledky experimentálních studií naznačují, že nedostatek spánku ovlivní metabolismus glukózy, a tak se může podílet v patofyziologii na vzniku diabetu.

Během spánku je zachována hladina glukózy tak, aby mozek měl dostatečný energetický příjem navzdory absenci příjmu potravy. Tak je hladina glukózy během nočního spánku stabilní nebo klesne pouze minimálně. Naopak u bdělých dobrovolníků, kteří drželi půst v ležící poloze, bez jakéhokoliv fyzické aktivity, klesla jejich hladina glukózy během 12 hodin v průměru o 0,5 - 1,0 mmol/l (Van Cauter et al., 1997).

Velké množství studií v spánkových laboratořích dokazuje, že hladina inzulínu zůstává během spánku stabilní nebo klesne pouze minimálně (Clore et al., 1989; Polonsky et al., 1988). Plasmatická hladina glukózy a inzulínová senzitivita je zvýšená během první části noci, což je způsobeno sníženou potřebou glukózy mozkovou tkání během hlubokých spánkových stádií a v menší míře sníženým periferním vychytáváním glukózy. Nižší svalový tonus během spánku a uvolnění růstového hormonu se rovněž spolupodílí na nižší spotřebě glukózy. Během druhé poloviny noci hladina glukózy a sekrece inzulínu postupně klesá a vrací se na hodnoty před usnutím (Scheen et al., 1996).

Velké rozdíly v hladinách inzulínu a glukózy byly pozorované během spánkové restriktce. Spiegel a jeho spolupracovníci (Spiegel et al., 1999) ukázali, že pokud zdraví mladí dobrovolníci podstoupili spánkovou restriktci (během 6 dnů 4 hodiny spánku), jejich průměrná hladina glukózy byla o 0,83 mmol/l vyšší, jejich inzulínová odpověď vzrostla o 30 % a byla o 40 % pomalejší v porovnání se situací, při níž ti samí dobrovolníci spali normální dobu. To znamená, že 6 dnů experimentální spánkové restriktce vyvolalo reverzibilní prediabetický stav u zdravých osob.

Kromě přímého ovlivnění regulace glukózy, nedostatečný spánek a porucha spánku mohou přispívat k rozvoji inzulinové rezistence a diabetes mellitus i nepřímo, regulací chutí k jídlu nebo snížením energetického vývoje, což vede k nárůstům tělesné hmotnosti a obezity.

Osa hypothalamus-hypofýza-nadledviny a spánek

Osa hypothalamus-hypofýza-nadledviny mne zajímala, protože kromě její důležité funkce v endokrinním systému a v reakci na stres je dobře známý její vztah ke spánku.

Osa hypothalamus-hypofýza-nadledviny je regulovaná suprachiasmatickým jádrem, které je primárním endogenním cirkadiánním pacemakerem.

Stresový podnět vede k uvolňování kortikoliberinu (CRH) z paraventriculárního jádra hypothalamu. Následně stimuluje sekreci adrenokortikotropního hormonu z hypofýzy, který vyvolá uvolnění glukokortikoidů z nadledvin. Kortizol má několik funkcí, mezi jinými funguje jako zpětná vazba inhibující další tvorbu kortikoliberinu a adrenokortikotropního hormonu.

Základní aktivita osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny ukazuje jasný denní rytmus: hladina kortizolu a adrenokortikotropního hormonu je vysoká brzo ráno, následuje pokles během celého dne s nejnižší hladinou během půlnoci. Poté následuje vzestup ve druhé části noci směřující k zmíněnému rannímu maximu (Weitzman et al., 1971).

Delší dobu je známa reciproční interakce mezi spánkem a regulací osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny (Steiger, 2007). Exogenní podávání CRH zvyšuje frekvenci elektroencefalogramu, prodlužuje povrchní spánek, REM spánek a bdělost (Ehlers et al., 1986; Chang and Opp, 2001; Kimura et al., 2010) a zkracuje hluboký spánek (Holsboer et al., 1988). Studie zaměřené na přímý vliv glukokortikoidů ukazují, že efekt je závislý na dávce. Nízké dávky glukokortikoidu zkracují bdělost a prodlužují hluboký spánek inhibicí paraventriculárního jádra přes mineralokortikoidní receptor s vysokou afinitou (Born et al., 1989; Friess et al., 1994). Dále nízká dávka syntetického glukokortikoidu

dexametazonu, který se selektivně váže na glukokortikoidní receptor s nízkou afinitou v paraventriculárním jádře, vede ke snížení hladiny adrenokortikotropního hormonu a zkrácení hlubokého i REM spánku (Born et al., 1991). Oproti tomu, vyšší dávky kortizolu zvyšují bdělost a snižují množství hlubokého spánku (Vazquez-Palacios et al., 2001).

Spánek a spánková deprivace mají modulační účinek na osu hypothalamus-hypofýza-nadledviny. V roce 1983 Weitzman poprvé ukázal, že spánek, hlavně ten hluboký, má inhibiční vliv na uvolňování kortizolu (Weitzman et al., 1983). Další výzkumné týmy tento inhibiční efekt potvrdily a zjistily zvýšenou plazmatickou hladinu kortizolu během spánkové deprivace (von Treuer et al., 1996; Weibel et al., 1995). Leproult a její spolupracovníci dokumentovali po spánkové deprivaci zvýšenou aktivitu osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny spojenou s pozdním začátkem klidové fáze vylučování kortizolu (Leproult et al., 1997), následně Spiegel a spoluautoři popsali poruchu čtyřadvacetihodinového profilu kortizolu po spánkové deprivaci, včetně kratší klidové fáze, a zvýšené hladiny v odpoledních hodinách a časně ráno (Spiegel et al., 2000; Spiegel et al., 2004; Spiegelet al., 1999).

Nedostatek spánku ovlivňuje regulaci glukokortikoidů a jeho zpětnou vazbu. Noční probouzení je spojené s pulzním vylučováním kortizolu a s následným, přechodným utlumením sekrece kortizolu, což naznačuje, že probouzení nebo probouzecí reakce během spánku vedou ke zvýšení senzitivity negativní zpětné vazby osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny. Na rozdíl od toho, spontánně se vyskytující peak v endogenní sekreci kortizolu během nerušeného spánku nevede k dočasné inhibici sekrece kortizolu (Spath-Schwalbe et al., 1991).

Vliv krátkodobé poruchy spánku na sekreci kortizolu v experimentálních studiích na zdravých dobrovolnících není jednoznačný. Některé studie neukázaly žádnou změnu v sekreci kortizolu po krátkodobé spánkové restrikci (Moldofsky et al., 1989; Scheen et al., 1996), další zjistily sníženou sekreci kortizolu (Vgontzas et al., 1999).

Výsledky studií u pacientů s onemocněním spánku jsou rovněž nejednoznačné. U pacientů s OSA některé studie ukazovaly zvýšenou sekreci kortizolu (Bratel et al., 1999; Schmoller et al., 2009; Vgontzas et al., 2007) zatímco další nenašly žádné změny v aktivitě osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny (Dadoun et al., 2007; Meston et al., 2003). Pacienti trpící insomnií mají zvýšenou 24hodinovou hladinu adrenokortikotropního hormonu a kortizolu (Rodenbeck et al., 2002), s největším vzestupem večer a v první polovině noci (Vgontzas et al., 2001). Čtyři studie zkoumaly aktivity osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny u pacientů s RLS. Wetter a Garcia-Borreguero se spolupracovníky ukázali normální hladinu kortizolu (Garcia-Borreguero et al., 2004; Wetter et al., 2002). Hornyak a jeho spoluautoři během a po intravenózní aplikaci hydrokortizonu zjistili mírně sníženou hladinu kortizolu a adrenokortikotropního hormonu, ukazující na intaktní zpětnovazebnou inhibici aktivity osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny (Hornyak et al., 2008). Studie od Schillinga a spolupracovníků ukázala zvýšenou noční sekreci kortizolu (Schilling et al., 2010).

Imunitní systém, cytokiny a nedostatečný spánek

Imunita je z hlediska spánku a jeho poruch zajímavá z mnoha stránek. Jednak ji spánková deprivace ovlivňuje (Bryant et al., 2004), některé cytokiny mají hypnotické působení (Pollmacher et al., 2000) a narkolepsie má s největší pravděpodobností autoimunitní etiologii.

Experimentální studie spánkové restrikce popisují aktivaci imunitních dějů: byla popsána zvýšená hladina prozánětlivých cytokinů (Irwin et al., 2006; Vgontzas et al., 2004) a C-reaktivního proteinu (Meier-Ewert et al., 2004; van Leeuwen et al., 2009), jakož i aktivace nuclear factor kappa B (Irwin et al., 2008). Přitom dlouhodobá aktivace zánětlivých markerů je spojená s chronickými onemocněními včetně kardiovaskulárních a diabetu (Mullington et al., 2010).

Tumor necrosis factor alfa (TNF- α) je multifunkcionální signální molekula s důležitou funkcí v zánětu a v apoptóze (Goodsell, 2006). Hraje roli v obraně proti virové, bakteriální

a parazitární infekci, jakož i v autoimunních onemocněních a energetické homeostázi (Fiers, 1991). TNF- α je uvolňován monocyty/makrofágy, endotelem a tukovou tkání. Jeho funkce je zprostředkována dvěma receptory na povrchu buňky: TNF-R p55 a TNF-R p75. TNF-R p55 je přítomný ve většině tkání, zatímco exprese TNF-R p75 je regulovaná a typicky se vyskytuje v buňkách imunitního systému (Himmerich et al., 2008). Podle toho se zdá, že ve většině buněk je klíčovým mediátorem TNF- α signalizace TNF-R p55, kdežto v lymfatickém systému hraje hlavní úlohu TNF-R p75 (Wajant et al., 2003). TNF-R mohou být uvolněny z povrchu buňky proteolytickým enzymem TACE (TNF- α converting enzyme) (Pollmacher et al., 2007), tak solubilní TNF-R (sTNF-R) je rozpustnou variantou na membránu vázaného receptoru. Vazbou TNF- α na sTNF-R místo membránového receptoru se blokuje jejich biologická odpověď. Zvýšená plazmatická hladina sTNF-R p75 naznačuje zánětlivý proces u několika onemocnění, jako je např. revmatoidní artritida (Glossop et al., 2005). Při obezitě se tuková tkáň vyznačuje zvýšenou tvorbou a sekrecí cytokinů včetně TNF- α . Několik studií ukázalo, že množství tělesného tuku ovlivní plazmatickou hladinu TNF- α (Panagiotakos et al., 2005; Pedersen et al., 2003).

Prozánětlivé cytokiny, jako TNF- α nebo interleukin-6 (IL-6), hrají klíčovou roli ve spojení imunitního systému se systémem endokrinním nebo metabolickým. TNF- α , například přispívá k inzulínové rezistenci a poruše glukózové tolerance v zánětlivých stavech a u obezity (Nieto-Vazquez et al., 2008) a podobně jako je například IL-6, je silným aktivátorem systému hypothalamus-hypofýza-nadledviny vedoucí k uvolnění kortizolu jako nejdůležitějšího zpětnovazebního signálu, což vede k zabránění přestřelení obranného mechanismu (Straub et al., 2011). Glukokortikoidy potlačují produkci prozánětlivých cytokinů (Beishuizen and Thijs, 2003), a tak umožňují těsnou obousměrnou interakci mezi imunitním systémem a osou hypothalamus-hypofýza-nadledviny.

Insomnie

Nedostatečný spánek a problémy s usínáním, kontinuitou spánku nebo časným probouzením jsou charakteristické příznaky insomnie. Jednotlivé příznaky se mohou vyskytnout buď samostatně nebo se kumulují a jejich intenzita se může lišit ze dne na den, nebo v průběhu několika dnů, týdnů nebo měsíců.

Insomnie není definovaná specifickou délkou spánku, důležité je subjektivní vnímání trvání a kvality spánku pacientem, které se často může lišit od objektivně zjištěného nálezů. Pacienti nejčastěji udávají poruchu kontinuity spánku (50-74%), poruchu usínání (35-60%) nebo neosvěžující spánek (20-25%) (Morin et al., 2011). Důležitou charakteristikou je však i následný vliv na denní kondici, myšlení a chování. Prevalence insomnie je mezi 12 - 20 % (Roth et al., 2011). Je to chronické onemocnění u 40 až 70 % pacientů s délkou trvání trváním 1 - 20 roků.

Nespavost lze diagnostikovat dle tíže, frekvence a trvání problémů a podle vlivů na denní činnost jednotlivce. Tíže nespavosti je mezi jinými určena jako latence usnutí delší než 30 min, nemožnost opětovného usnutí déle než za 30 min, spánková efektivita kratší než 85 %. Kritéria pro frekvenci a trvání obtíží jsou nastavena na minimálně 3x týdně po dobu jednoho měsíce.

Do letošního roku je platná klasifikace Americké společnosti pro výzkum spánku (AASM, 2005) která rozděluje insomnii do několika základních typů. Nejčastějším typem je psychofyziologická, jejíž příčinou jsou naučené patologické vzorce chování při zátěžových situacích související se spánkem, které i po odeznění zátěže brání jedince v normálním spánku. Nové vydání klasifikace porucha spánku Americké společnosti pro výzkum spánku akcentovalo hlavně patofyziologický dopad nespavosti a uvádí insomnii jako jednu nosologickou jednotku „chronic insomnia disorder“ (AASM, 2014), podobně jako DSM V přestává rozdělovat primární a sekundární insomnii (AAP, 2013).

Dle epidemiologických studií rizikovým faktorem vzniku insomnie je deprese, ženské pohlaví, vyšší věk, nízký socioekonomický status, současné interní nebo psychické onemocnění, rodinný stav a etnicita (Ohayon, 2002), ale na druhé straně přítomnost insomnie je rovněž rizikovým faktorem některých onemocnění jako např. ischemická choroba srdeční, arteriální hypertenze nebo deprese (Baglioni et al., 2011; Laugsand et al., 2011; Silvertsen et al., 2014).

Obstrukční spánková apnoe

Dalším onemocněním působící nekvalitní spánek je obstrukční spánková apnoe (OSA). Je charakterizována opakovanými zúženími horních dýchacích cest, při kterých dochází k úplnému (apnoe) nebo částečnému (hypopnoe) přerušení ventilace na víc než 10 vteřin. Pacienti jsou podle počtu apnoí a hypopnoí za hodinu spánku (AHI) rozděleni do kategorie lehká (5 – 15/h), středně těžká (15 - 30/h) a těžká OSA (AHI více než 30/h). Prevalenční ukazatele OSA se liší dle etnicity zkoumané populace a dle použité metodiky, ale shodují se na vysokém výskytu této choroby. Dle recentní studie přibližně 14 % mužů a 5 % žen má AHI > 5 a symptom denní spavosti a 13 % mužů a 6 % žen má středně těžkou až těžkou OSA (AHI > 15) (Peppard et al., 2013). Dýchací události většinou vyvolávají poklesy saturace hemoglobinu kyslíkem a jsou ukončovány probouzením nebo probouzecími reakcemi se zrychlením srdeční frekvence, se zrychlením dýchání, se zvýšením dýchacího úsilí a se zvýšením krevního tlaku. Opakované probouzecí reakce způsobují fragmentaci spánku, která je zodpovědná za nadměrnou denní spavost, únavu a snížení kognitivních funkcí.

Faktory, které se podílejí na vzniku OSA, zahrnují strukturální změny v horních dýchacích cestách a atypie v řízení tonusu svalů horních cest dýchacích. Predispozičním faktorem je obezita, kouření, mužské pohlaví a menopauza u žen. Obezita je hlavním rizikovým faktorem OSA, 60 až 90 % pacientů jsou obézní. Je také silná pozitivní korelace mezi BMI a OSA (Young et al., 2002). Výsledky klinických studií ukazují, že OSA je nezávislým rizikovým faktorem kardiovaskulárních onemocnění, jako je vysoký krevní tlak, cévní mozková příhoda a ischemická choroba srdeční.

Prevalence diabetu u pacientů s OSA je v rozmezí od 15 % do 30 %. Ve Wisconsinské studii spánku se prevalence diabetu 2. typu zvýšila podle závažnosti OSA. Riziko výskytu diabetu 2. typu u pacientů se středně těžkou spánkovou apnoe (AHI ≥ 15) byl 2,3krát vyšší v porovnávání s kontrolní skupinou. Pokud byli porovnáváni pacienti s těžkou apnoe (AHI > 30) s kontrolní skupinou s ohledem na věk, pohlaví, obvod pasu, riziko výskytu diabetu bylo ještě 3,48krát větší (Reichmuth et al., 2005). Punjabi a spolupracovníci ve své studii našli signifikantní korelaci mezi inzulinovou senzitivitou a počtem nočních desaturací po statistické opravě věku, pohlaví, etnicitu a procenta tuku v těle (Punjabi and Beamer, 2009). Pamidi et al. porovnávali inzulinovou senzitivitu mezi pacienty s OSA a kontrolní skupinou bez poruchy dýchání ve spánku a zjistili, že pacienti s OSA mají nižší inzulinovou senzitivitu (Pamidi et al., 2012). Jestli snížená inzulinová senzitivita a následná porucha glukózové tolerance je způsobená opakovanými desaturacemi nebo je následkem fragmentovaného spánku, to zatím není jisté. Výsledky ukazují, že intermitentní hypoxie a fragmentace spánku u OSA vede k aktivaci sympatiku, chronickému zánětu, aktivaci osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny a ke zvýšenému oxidativnímu stresu (Levy et al., 2008).

Syndrom neklidných nohou

Dalším onemocněním vedoucím k nekvalitnímu a/nebo zkrácenému spánku je syndrom neklidných nohou (RLS). Je to sensorimotorické onemocnění charakterizované někdy až nepřekonatelným pocitem nucení pohybovat převážně dolními končetinami s doprovázejícím nepříjemným pocitem, paresteziemi až bolestí v částech těla, které jsou postiženy nutkáním k pohybu. Symptomy se obvykle objevují v klidu večer a v noci a jsou často spojené s periodickými pohyby dolních končetin ve spánku. Periodické pohyby dolními končetinami jsou opakované, vysoce stereotypní pohyby dolními končetinami, vyskytují se u 80 % nemocných s RLS (Montplaisir et al., 1997) a vedou také k poruše nočního spánku, zhoršenému usínání, opakovaným probouzecím reakcím, probouzením a zhoršenému opětovnému usnutí.

Diagnostika je založená na klinických symptomech pacienta. Prevalence RLS je v Evropě mezi 7 až 10 %, nicméně velká část pacientů zůstává nediodagnostikovaná nebo neléčená (Garcia-Borreguero et al., 2004).

Onemocnění lze rozdělit na primární (idiopatické) a sekundární. Primární RLS se manifestuje dříve a má silnou genetickou vazbu, což ukazuje i pozitivní rodinná anamnéza. Sekundární RLS se objevuje nejčastěji kolem 45 roku věku a je spojené nebo je důsledkem dalších onemocnění a změn celkového stavu (např. nedostatek železa, terminální stádium ledvinového selhání, těhotenství, roztroušená skleróza mozkomíšní, Parkinsonova nemoc a další).

Patofyziologie není zcela jasná, na výskytu se na ní spolupodílí genetická predispozice, dopaminergní dysfunkce a nedostatek železa v centrálním nervovém systému. Gao et al. ve své studii zjistili, že prevalence RLS se postupně zvyšuje se zvýšeným BMI a obvodem pasu. Tato asociace nebyla závislá na věku, kouření, míře úzkosti, použití antidepressiv nebo přítomnosti chronických onemocnění (Gao et al., 2009). Jedním z mechanismů, na základě kterého obezita může být spojená s RLS, je signifikantně nižší počet D2 dopaminergních receptorů v centrálním nervovém systému u obézních pacientů (Wang et al., 2001). Merlino a spolupracovníci zjistili statisticky významnou souvislost mezi RLS a diabetem 2. typu a konstatovali, že diabetes je nezávislým rizikovým faktorem RLS, přičemž polyneuropatie není jedinou příčinou vyšší prevalence RLS u diabetiků (Merlino et al., 2007). Dále dle studie Bosca a jeho kolektivu je porucha glukózové tolerance často asociovaná s primárním RLS (Bosco et al., 2009).

Narkolepsie

Mezi nejvýznamnější neurofyziologické objevy poslední dekády minulého století patří excitační neuromediátor orexin/hypokretin (de Lecea et al., 1998; Sakurai et al., 1998).

Orexin A/hypokretin -1 a orexin B/hypokretin-2 jsou hypothalamické peptidy produkované v posteriolaterálním hypothalamu ze společného prekurzoru prepro-orexinu/preprohypokretinu a jejich účinek se vyjadřuje prostřednictvím specifických

receptorů orexin/hypokretin-1 a orexin/hypokretin-2. Ačkoli počet hypokretinových neuronů je malý, mají spoje do různých oblastí mozku vyjma cerebella, a tak kromě funkce v regulaci spánku a bdění, jsou zapojené do celé řady dalších fyziologických funkcí jako regulace apetitu, energetická homeostáza a některé další neuro-endokrinní regulace (Date et al., 1999; Peyron et al., 1998; Tsujino and Sakurai, 2009). Hypokretinové neurony jsou citlivé na změny hladiny glukózy, zvýšená koncentrace glukózy inhibuje a naopak její snížení stimuluje jejich aktivitu (Tsujino and Sakurai, 2009). Podobně hormon tukových buněk, leptin, potlačuje aktivitu hypokretinových neuronů (Kohno et al., 2008), zatímco ghrelin aktivuje (Toshinai et al., 2003). Hypokretin má stimulační úlohu v hlavním stresovém systému. Například intraventrikulárně podávaný hypokretin stimuluje osu hypothalamus-hypofýza-nadledviny (Kuru et al., 2000). Spojení mezi stresovým systémem a hypokretinovými neurony je reciproční (Winsky-Sommerer et al., 2004) a pomáhá udržet bdělost během stresových situací (Sakurai, 2007).

Unikátní onemocnění spánku, v jejíž patofyziologii hraje důležitou roli hypokretin, je narkolepsie s kataplexií. Narkolepsie s kataplexií je vzácné, chronické onemocnění postihující 0,02 až 0,18 % populace v západní Evropě a v USA (Longstreth et al., 2007) a je pro něj charakteristická nadměrná denní spavost, chaotické přechody mezi jednotlivými stádii spánku a bdělosti a porucha řízení REM spánku, které se projevuje výskytem spánkové obrny, hypnagogických halucinací a časným nástupem REM spánku po usnutí.

Přítomnost kataplektických záchvatů, náhlých, krátkodobých svalových atonií v návaznosti na emocionálním podnětu, rozděluje onemocnění do dvou nosologických jednotek: narkolepsie s kataplexií a narkolepsie bez kataplexie (AASM, 2005). Pro narkolepsii s kataplexií je charakteristické úplné vymizení hypokretinových neuronů v laterálním hypotalamu (Peyron et al., 2000) projevující se nízkou hladinou hypokretinu v likvoru, kdežto u narkolepsie bez kataplexie se předpokládá pouze parciální ztráta hypokretinových buněk (Thannickal et al., 2000), která umožňuje, aby hladina hypokretinu v likvoru byla téměř normální. Patofyziologie narkolepsie bez kataplexie přes identický charakter spavosti s narkolepsií s kataplexií je nyní považována za

zcela nejasnou. Narkolepsie bez kataplexie má menší prevalenci než narkolepsie s kataplexií. V úvodu disertační práci se budu zabývat pouze narkolepsií s kataplexií pokud není uvedeno, že se informace týkají obou forem narkolepsie popřípadě jen narkolepsie bez kataplexie.

Ve většině případů onemocnění začíná mezi 15 a 40 lety věku, muže a ženy postihuje ve stejné míře. Autoimunitní příčina onemocnění je dlouho předpokládána a to kvůli silné vazbě na specifickou HLA alelu DQB1*06:02 (Mahlios et al., 2013; Mignot and Thorsby, 2001). HLA alely kódují různé proteiny třídy I a II hlavního histokompatibilního komplexu (Major Histocompatibility Complex- MHC). Ty mají za úkol během infekce prezentovat cizí peptidy T buňkám a spouštět imunitní odpověď přes aktivaci receptoru T buněk. Během autoimunitní reakci dochází k mylnému rozpoznání vlastních proteinů za cizí a k následnému zničení tkáně. Mezi autoimunitním onemocněním má narkolepsie unikátní místo, jednak kvůli téměř stoprocentní pozitivitě haplotypu HLA DQB1*06:02 a téměř stoprocentní negativitě HLA DQB1*06:03 (Hor et al., 2010) a dále kvůli nedávno zjištěné vazbě na specifický segment v receptoru T buněk (Hallmayer et al., 2009) ukazující zásadní úlohu receptoru T buněk při vzniku onemocnění.

Další studie ukázaly zvýšenou míru vzniku narkolepsie u dětí po streptokokové infekci (Aran et al., 2009) a po očkování proti chřipce H1N1 (Nohynek et al., 2012; Partinen et al., 2012; Wijnans et al., 2013) nebo po onemocnění infekcí H1N1 (Han et al., 2011) u predisponovaných jedinců (HLA DQB1*06:02 pozitivita) (Tafti et al., 2014).

Pacienti s narkolepsií a kataplexií jsou obézní (Schuld et al., 2002; Sonka et al., 2010) a je již delší dobu známo, že změna tělesné váhy koreluje se začátkem onemocnění (Takahashi S, 1976). Původně předpokládané příčiny obezity u narkolepsie jako je snížená motorická aktivita během dne kvůli spavosti a zvýšený příjem potravy nebo přibýtek váhy z tricyklických antidepresiv se nepotvrdily. Dále není jednoznačný význam leptinu ve vzniku obezity u narkolepsie: dvě dobře kontrolované studie ukázaly signifikantní snížení hladiny leptinu u pacientů (Kok et al., 2002a; Schuld et al., 2000),

kdežto další dvě, méně kontrolované ale mnohem větší studie tyto výsledky nepotvrdily (Arnulf et al., 2006; Dahmen et al., 2007).

Poli a její spolupracovníci zjistili u pacientů s narkolepsií a kataplexií v porovnání s pacienty s idiopatickou hypersomnií na BMI nezávislé metabolické změny jako je patologický obvod pasu, index inzulinové rezistence nebo koncentrace HDL cholesterolu. Přes nižší denní příjem potravy byly u pacientů narkolepsií a kataplexií zobrazené změny v metabolických parametřích vedoucí k diagnóze metabolického syndromu u víc než polovině případů (Poli et al., 2009). Chabas a spolupracovníci ukázali, že pacienti s narkolepsií mají nižší bazální metabolismus než kontrolní skupina (Chabas et al., 2007). Vyšší prevalence diabetu byla v některých studiích potvrzená (Honda et al., 1986; Roberts, 1964), v jiných se nenašel žádný signifikantní rozdíl (Beitinger et al., 2012). Dánská práce Jennuma a kolektivu našla zvýšený výskyt endokrinních a metabolických poruch ještě před stanovením diagnózy (Jennum et al., 2013), což potvrzuje domněnku, že narkolepsie je pravděpodobně složité neuroendokrinní onemocnění.

U pacientů s narkolepsií a kataplexií byly pozorované jemné změny v imunitních parametrech, hlavně v hladině zánětlivých cytokinů. Himmerich a jeho spolupracovníci zjistili, že hladina TNF- α nebo jeho solubilních receptorů sTNF-R p55 a p75 je u pacientů s narkolepsií vyšší (Himmerich et al., 2006b; Okun et al., 2004; Vgontzas et al., 1997).

Několik studií se u pacientů s narkolepsií a kataplexií zabývalo osou hypothalamus-hypofýza-nadledviny a jenom jedna studie našla abnormalitu: Kok a jeho spolupracovníci referovali 60% pokles bazální sekrece ACTH, zatímco pulzní vylučování ACTH, bazální a pulzační sekrece kortizolu a plazmatická hladina kortizolu byly stejné mezi pacienty s narkolepsií a kataplexií skupinou zdravých dobrovolníků (Kok et al., 2002b). Žádná studie zatím u pacientů s narkolepsií netestovala odpověď systému hypothalamus-hypofýza -nadledviny po stimulaci.

Specifická metoda k dynamickému testování aktivity systému hypothalamus-hypofýza -nadledviny je dexametazon supresní-CRH stimulační test (DEX/CRH test) (Heuser

et al., 1994). Tento test byl vypracován ke studiu neuroendokrinních abnormalit v psychiatrických onemocnění. Bylo prokázáno, že tento test citlivě dokumentuje hyperaktivitu systému hypothalamus-hypofýza -nadledviny při afektivních poruchách a sníženou aktivitu u posttraumatických onemocnění (Heuser et al., 1994; Yehuda, 2009).

Narkolepsie a těhotenství

V těhotenství dochází ke složitým endokrinním změnám, ale o těhotenství, porodu a zdravotním stavu novorozence u pacientek s narkolepsií nebylo nic známé, přitom jsou narkolepsií postiženy i ženy ve fertilním věku.

Pacienti s narkolepsií často potřebují medikaci v podobě stimulancií ke kontrole nadměrné denní spavosti. Centrální stimulancia snižují projevy únavy, ospalosti a tlumí ataky imperativního spánku. V Evropě se používají k symptomatickému léčení spavosti modafinil a deriváty amfetaminu včetně methylfenidátu. Amfetaminy a jeho deriváty (v ČR dříve fenmetrazin) byly často používanými léky, ale pro jejich potenciál vyvolat závislost a vliv na kardiovaskulární systém se od jejich používání upouští (Sonka and Susta, 2012). Proti projevům souvisejícím s patologickou facilitací REM spánku včetně kataplexie se od 60. let podávají antidepressiva. Nadějným symptomatickým lékem narkolepsie s kataplexií je oxybát sodný, který příznivě ovlivňuje všechny příznaky nemoci včetně nekvalitního nočního spánku (Sonka and Susta, 2012).

Mnohé z léků užívaných proti symptomům narkolepsie během těhotenství patří do skupiny C, to znamená, že v této skupině nejsou známa data ohledně jejich vlivu na plod a novorozence. Předčasné narození, nízká porodní váha a abstinční syndrom byly zjištěny u matek užívající amfetamin pro rekreační účely během těhotenství (Littner et al., 2001).

Údaje o roztroušené skleróze a dalších autoimunitních onemocněních mozku neukázaly negativní vliv na těhotenství nebo porod (Jalkanen et al., 2010; van der Kop et al., 2011), naopak je tomu u těhotenství, které průběh roztroušené sklerózy

ovlivňuje. Počet relapsu je typicky redukováný během pozdního těhotenství a zvýšený v poporodním období (Confavreux et al., 1998; Saraste et al., 2007).

Většina článků věnovaných problematice narkolepsie a těhotenství jsou kazuistiky, (Ping et al., 2007; Williams et al., 2008) nebo doporučené postupy, které nejsou založená na studiích (Hoover-Stevens and Kovacevic-Ristanovic, 2000; Hoque and Chesson, 2008). Dotazníkovou studii týkající se léčby narkolepsie během těhotenství provedla naše skupina (Maurovich-Horvat et al., 2010) a Thorpy a jeho spolupracovníci (Thorpy et al., 2011). V naší retrospektivní studii jsme našli vyšší výskyt nezávažných komplikací u pacientek, u kterých se symptomy narkolepsie objevily před těhotenstvím v porovnání s pacientkami, které byly asymptomické během těhotenství. Limitace této studie byla malý počet účastňujících pacientek ze českých a slovenských spánkových center.

Thorpy a jeho kolektiv po dotázání 75 specialistů na narkolepsii z celého světa nezjistil teratogenní efekt léků užívaných během těhotenství proti symptomům narkolepsie, avšak nemohli vyloučit možné vzácné komplikace během těhotenství a kongenitální abnormality. Dále konstatovali, že většina pacientek měla vaginální porod bez komplikace a pokud bylo nutné provést císařský řez, nebylo to spojené se zvýšeným rizikem chirurgických nebo anesteziologických komplikací (Thorpy et al., 2011). Jejich studie má z několika důvodů omezený význam, například protože je retrospektivní a dotazovaní odborníci předávali informace o svých zkušenostech podle různě kvalitní dokumentace.

CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY STUDIE

Cíle práce

V mojí disertační práci jsem se zaměřila na několik cílů spojených s nevyřešenými aspekty metabolismu a imunity u narkolepsie včetně informací o výskytu metabolických problémů při těhotenství nemocných s narkolepsií. Studie zaměřená na eventuelní metabolické aspekty těhotenství narkoleptiček byla širěji pojata, aby přinesla i obecnější informace o těhotenství v narkolepsii (studie začala dříve než svoje šetření zahájil Thorpy a spolupracovníci).

Práce je rozdělena na 4 studie, ve kterých jsem řešila následující hypotézy.

Hypotézy studie:

Studie č. 1

1. Prevalence poruchy glukózového metabolismu u pacientů s narkolepsií a kataplexií je vyšší v porovnání s kontrolní skupinou se stejnou BMI.
2. Pacienti s narkolepsií a kataplexií po inhibici osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny dexametazonem mají vyšší koncentraci kortizolu.
3. Pacienti s narkolepsií a kataplexií mají zvýšenou hladinu TNF- α , jeho solubilních receptorů a cytokinu IL-6.

Studie č. 2

Nekvalitní spánek vede nezávisle na obezitě k poruše glukózové tolerance u vybraných spánkových onemocnění jako je obstrukční spánková apnoe, syndrom neklidných nohou nebo insomnie.

Studie č. 3

Porucha spánku vede ke změnám fungování osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny u vybraných spánkových onemocnění - obstrukční spánková apnoe, syndrom neklidných nohou nebo insomnie – měřeno DEX/CRH testem.

Studie č. 4.

1. Prevalence poruchy glukózové tolerance nebo diabetu 2. typu je vyšší u pacientek s narkolepsií během těhotenství.
2. Porody pacientek se komplikují kataplektickými záchvaty.
3. Péče o novorozence a kojence je ztížena symptomy narkolepsie u matky.

STUDIE Č. 1

Příloha č. 1

Maurovich-Horvat E, Keckeis M, Lattová Z, Kemlink D, Wetter TC, Schuld A, Sonka K, Pollmächer T. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis, glucose metabolism and TNF-alpha in narcolepsy. J Sleep Res. 2014 (přijato k publikaci).

Cíl studie:

Cílem studie bylo zjistit u pacientů s narkolepsií a kataplexií a párovaných kontrol pomocí dexametazon supresní-CRH stimulačního testu dynamickou funkcí osy hypothalamus-hypofýza-nadledvina a použitím orálního glukózového tolerančního testu vyloučit patologii glukózového metabolismu. Zároveň jsme chtěli zjistit hladiny prozánětlivých markerů jako je TNF- α , sTNF-R a IL-6.

Účastníci studie

Studie se zúčastnilo 11 pacientů s narkolepsií a kataplexií z Centra pro poruchu spánku a bdění Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN a 11 zdravých kontrol. Pacienti byli zařazeni do studie po splnění kritérií, jako je diagnostikovaná narkolepsie s kataplexií dle ICSD2 (AASM, 2005), HLA-DQB1*0602 pozitivita, žádná chronická farmakoterapie ovlivňující CNS kromě modafinilu nebo methylfenidátu. V kontrolní skupině bylo 11 zdravých dobrovolníků. Těhotné ženy, osoby s metabolickými chorobami, pracovníci ve směnném provozu nebo osoby cestující přes několik časových pásem v posledních třech měsících před studií, nebyly do studie zařazeni.

Metodika

Pacienti a kontrolní osoby absolvovali stejný protokol po té, co byli se studií seznámeni a s účastí souhlasili. Účastníci byli nejdříve podrobně vyšetřeni a vyplnili dotazníky jako je Beckova škála deprese (BDI) (Beck et al., 1961), Hamiltonova škála deprese (HAMD) (Hamilton, 1960), Hamiltonova škála úzkosti (HAMA) (Hamilton, 1959). Navíc kvalita spánku byla posouzena Pittsburgskou škálou kvality spánku (PSQI) (Buysse et al., 1989) a spavost Epworthskou škálou spavosti (ESS) (Johns, 1991).

K posouzení pravidelnosti cyklu spánek–bdění byla u osob v kontrolní skupině používaná osmidenní aktigrafie. K vyloučení dalších onemocnění spánku pacienti absolvovali noční polysomnografii. Kromě monitorování elektroencefalogramu, elektrookulogramu a povrchového elektromyogramu (mm. mentales, mm. tibiales anteriores na obou dolních končetinách) byl zaznamenáván elektrokardiogram dvěma hrudními svody, dýchací pohyby hrudníku a břicha, proudění vzduchu před nosem a ústy, saturace krve kyslíkem pulsním oxymetrem oxymetrem. Paralelně byl pořízen videozáznam v infračerveném osvětlení. Pacienti po této první noci podstoupili čtyřhodinový test orální glukózové tolerance (OGTT). Test začínal v osm hodin ráno. První odběry k měření hladiny glukózy (FPG), inzulínu (FPI), TNF- α , sTNF-R p55, sTNF-R p75 a IL-6 byly získány na začátku testu. Po standardním vypití 75 g glukózy proběhly další odběry po 30, 60, 120, 180 a 240 minutách od začátku testu. Prodloužený protokol OGTT byl převzatý z dřívější studie Beitingera a spolupracovníků et al. ke zjištění potenciální postprandiální hypoglykémie (Beitinger et al., 2012). Podle diagnostických kritérií Americké diabetické asociace (ADA, 2003) jsme definovali normální glukózové tolerance (NGT), jak dvouhodinovou koncentraci glukózy v lasmě pod 7,8 mmol/l; porucha glukózové tolerance byla definována jako 2h-PG >7,8 mmol/l a diabetes mellitus jako 2h-PG \geq 11,0 mmol/l. Celková plocha pod křivkou pro glukózu (AUC_G) a pro inzulín (AUC_I) byla vypočítána použitím trapezoidálního pravidla (Wolever and Jenkins, 1986). Inzulínová rezistence byla hodnocena použitím homeostatického modelu (HOMA-IR) původně popsaného Matthewsem (Matthews et al., 1985). HOMA-IR byl vypočítán dle rovnice $HOMA-IR (mg/dl \times \mu U/ml) = FPG \text{ mg/dl} \times FPI \text{ } \mu U/ml / 405$.

Inzulínová sensitivita se počítala dle modelu Matsudy: $ISI = 10\,000 / \sqrt{(FPG \times FPI) \times (\text{průměrná hladina glukózy} \times \text{průměrná hladina inzulínu})}$ (Matsuda and DeFronzo, 1999). Plazma k měření hladiny IL-6, sTNF-R p55 and sTNF-R p75 byla okamžitě centrifugována a zmrazená na -20°C do doby analýzy v Mnichově. Druhý den testované osoby absolvovaly DEX-CRH test. Večer ve 23 hodin před tímto testem – tedy den před testem, účastníci dostali perorálně 1,5 mg dexametazonu. Test začínal v 15 hodin, kdy byly odebrány první vzorky reprezentující tlumivý vliv dexametazonu. Pokud hladina kortizolu byla 40 ng/ml nebo vyšší, účastník byl považován za nonsupresora. V 15:02 byla během 30 sekund aplikována 100 μg humánní CRH v 1ml. Po aplikaci hCRH byly odebrány čtyři krevní vzorky, a to v 15:30; 15:45; 16:00 a v 16:15. Mezi odběry byla pacientům podávána infuze fyziologického roztoku s rychlostí 50 ml/hod. Odebrané vzorky byly ihned centrifugovány a zmrazeny na -20°C do doby analýzy. Po aplikaci hCRH byla odpověď kortizolu a ACTH vypočítaná jako plocha pod časovou křivkou (AUC) (Wolever and Jenkins, 1986). Plocha korigovaná na bazální hladinu byla označena jako AUC net, bez korekce na bazální hladinu AUC total. Adrenokortikální odpověď na ACTH byla hodnocena vypočítáním poměru hormonů hypofýzy/nadledviny (pituitary adrenal ratio- PAR): $PAR\ total = AUC\ total\ ACTH / AUC\ total\ kortizol$, $PAR\ net = AUC\ net\ ACTH / AUC\ net\ kortizol$.

Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena používáním programu Statistica. Normalita byla testována použitím testu Shapiro – Wilks W test. Meziskupinová porovnávání abnormálně rozdělených parametrů (HOMA, ESS, PSQI, BDI, HAMA a HAMD) byly provedené testem Mann-Whitney U-test, ostatní parametry byly testovány nepárovým t-testem nebo analýzou kovariance, s BMI jako kovarianta.

Výsledky

Kromě zvýšené spavosti, která byla omezena na patientskou skupinu, jsme nenašli žádné signifikantní rozdíly mezi nemocnými a kontrolami ve věku, BMI, poměru délky pasu a boku, PSQI, BDI, HAMA a HAMD.

Výsledky testu OGTT ukazují, že dva pacienti s narkolepsií a jedna kontrolní osoba měli poruchu glukózové tolerance. Nenašli jsme žádný signifikantní rozdíl mezi skupinami v hodnotách FPG, FPI, 2h-PG, 2h-PI, HOMA-IR, ISI po přizpůsobení na BMI.

Výsledky testu DEX/CRH neukazovaly žádný signifikantní rozdíl v počtech supresorů (bazální hladina kortizolu < 40 ng/ml); a nonsupresorů (bazální hladina kortizolu > 40 ng/ml). Hladina kortizolu, ale nikoliv hladina ACTH po tlumení osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny dexametazonem, byla signifikantně nižší u pacientů s narkolepsií v porovnání s kontrolní skupinou. Množství kortizolu a ACTH a uvolnění po aplikaci hCRH byly podobné v obou skupinách. Dále jsme nenašli žádný signifikantní rozdíl mezi dvěma skupinami v peak, delta, AUC net a AUC total hladinách kortizolu a ACTH.

Pacienti trpící narkolepsií měli signifikantně vyšší hladinu TNF- α , sTNF-R p55, sTNF-R p75 po úpravě na BMI.

STUDIE Č. 2

Příloha č. 2

Keckeis M, Lattova Z, Maurovich-Horvat E, Beitinger PA, Birkmann S, Lauer CJ, Wetter TC, Wilde-Frenz J, Pollmächer T. Impaired glucose tolerance in sleep disorders. PLoS One. 2010, 5: e9444.

Cíl studie

Cílem studie bylo zjistit eventuální poruchu metabolismu glukózy u vybraných spánkových onemocnění, jakou je OSA, RLS nebo primární insomnie.

Účastníci studie

Ze zkoumaných 97 dospělých lidí, byla u 25 dříve diagnostikovaná OSA, u 21 primární insomnie, 18 trpělo syndromem RLS a 33 lidí patřilo do kontrolní skupiny. Účastníci se studií souhlasili. Všichni účastníci měli normální nález při fyzikálním vyšetření, neměli žádné psychiatrické onemocnění, měli pravidelný rytmus spánek–bdění a normální výsledky v základních biochemických krevních testech a normální krevní obraz.

Pacienti se syndromem neklidných nohou byli diagnostikováni dle mezinárodních kritérií International Restless Legs Syndrome Study Group (Allen et al., 2003). Pacienti neměli polyneuropatii a netrpěli sekundárním RLS. Závažnost onemocnění byla hodnocena škálou International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale (Walters et al., 2003). U pacientů s primární insomnií a obstrukční spánkovou apnoe byla diagnóza stanovena dle Mezinárodní klasifikace poruch spánku a bdění (AASM, 2005). Do studie byli jako nemocní s OSA zařazeni pacienti s AHI >15. Kontrolní osoby netrpěly žádným spánkovým onemocněním a porucha dýchání během spánku byla vyloučená pomocí limitované polysomnografie, při které se jedná o vyšetření registrující dech před ústy a nosem, dýchací pohyby hrudníku a břicha, dýchací zvuky, oxymetrii, EKG, polohu trupu a elektromyogram m.tibialis anterior.

Metodika

Pacienti a kontrolní osoby podstoupili detailní vyšetření a vyplnili dotazníky ohledně spánku jako je PSQI (Buysse, 2013) a ESS (Johns, 1991). Každý pacient absolvoval standardní polysomnografické vyšetření ve dvou následujících dnech. Vyšetření bylo provedeno standardně od 22 do 6 hodin a obsahovalo monitorování elektroencefalogramu, elektrookulogramu, elektromyogramu (mm. mentalis, mm. tibialis ant), EKG, pohyb hrudníku a břicha, proudění vzduchu před nosem a ústy, oxymetrii a videomonitorování. Spánková stadia byla skórována dle kritérií Rechtschaffena a Kalese (Rechtschaffen A., 1968). Probouzecí reakce periodické pohyby dolními končetinami a apnoe a hypopnoe byly manuálně označené a byly vypočítány jejich počty za hodinu spánku. K posouzení pravidelnosti cyklu spánek – bdění byla u osob v kontrolní skupině používána osmidenní aktigrafie.

Pacienti po první noci podstoupili čtyřhodinový test OGTT. Před vypitím standardního roztoku obsahující 75g glukózy byly odebrány vzorky na měření FPG, FPI a HbA1c. Následující odběry byly provedené po 30, 60, 180 a 240 minutách a byla vypočítaná AUCg a AUCi, inzulinová rezistence a inzulinová senzitivita. Podrobně viz metodika studie č. 1. Kombinace zvýšeného HbA1c (>5,5%) a zvýšené hladiny glukózy na lačno (FPG >5,6 mmol/l) byla hodnocena jako další riziko vzniku diabetu 2. typu.

Statistická analýza

Statistická analýza byla spočítána programem SPSS pro Windows 16.0. Pomocí testu ANOVA byly porovnané základní parametry jako věk, BMI, PSQI a ESS mezi skupinami. U parametrů HbA1c, FPG, 2h-PG, FPI, AUCi byla provedena z-transformace. U metabolických parametrů byla provedena analýza kovariance ANOVA s BMI jako kovarianta. Chi-kvadrát test byl použitý k vypočítání incidence IGT a/nebo kombinace zvýšené hladiny HbA1c a FPG hodnot mezi skupinami. Po vytvoření 2 x 2 kontingenční tabulky byl vypočítán poměr rizik (odds ratio – OR).

Výsledky

Skupiny se nelišily ve věku. Dle očekávání pacienti s OSA měli signifikantně zvýšenou hodnotu BMI, zatímco BMI u pacientů s RLS nebo insomnií se nelišilo od kontrolní skupiny. Výsledky testu OGTT ukazují, že čtyři pacienti s OSA a jeden s RLS měli diabetes. 12 % kontrolních osob mělo zvýšenou hladinu glukózy dvě hodiny po glukózové zátěži, což naznačuje poruchu glukózové tolerance. Tato hodnota byla signifikantně zvýšená u pacientů s OSA (40%, OR 4,9) a RLS (39%, OR 4,7), ale nikoliv u insomnie (18%, OR 4,7). Hodnoty HbA1c byly ve fyziologickém rozmezí (pod 5,8 %), ale lišily se signifikantně po úpravě dle BMI. V skupině OSA a RLS měli pacienti signifikantně vyšší hodnoty HbA1c a FPG. Tudíž 56 % pacientů s OSA (OR 20,0) a 35 % s RLS (OR 8,5) patřilo do skupiny s vysokým rizikem vzniku diabetu. Na rozdíl od toho pouze 5 % pacientů s insomnií (OR 0,82) a 6 % kontrol ukázalo zvýšený hodnot HbA1c a hladiny FPG. Denní spavost byla signifikantně vyšší u OSA, ale u pacientů s RLS a insomnie v porovnání s kontrolní skupinou se statisticky významný rozdíl nenašel. Noční spánek byl subjektivně narušený ve všech skupinách pacientů v porovnání s kontrolní skupinou. Pacienti se nelišili signifikantně v celkové době spánku a spánkové efektivitě dle polysomnografie. Délka bdělosti po usnutí byla podobná u všech skupin. K zjištění eventuální poruchy glukózové tolerance v návaznosti na probouzecí reakce, byly korelovány hodnoty 2h-PG s indexem vyjadřujícím počet probouzecích reakcí v návaznosti na apnoe/hypopne za hodinu spánku (apnea-arousal index, AAI), s počtem desaturací za hodinu spánku (oxygen desaturation index, ODI) u pacientů s OSA, a s PLMS-arousal indexem (počet probouzecích reakcí v návaznosti na periodické pohyby dolními končetinami za hodinu spánku) u pacientů s RLS. Korelace 2h-PG byla pozitivní s AAI ($r=0,56$, $p< 0,05$) a ODI ($r=0,59$, $p< 0,05$) u pacientů s OSA, a rovněž s PLMS –arousal index ($r=0,56$, $p< 0,05$) u RLS. HbA1c korelovalo pozitivně s AAI ($r=0,50$, $p< 0,05$) u OSA, to ale neplatilo na korelaci s ODI ($r=0,46$, $p>0,05$) anebo PLMS – probouzecí reakce index ($r=0,20$, $p>0,05$).

STUDIE Č. 3

Příloha č. 3

Lattova Z, Keckeis M, Maurovich-Horvat E, Wetter TC, Wilde-Frenz J, Schuld A, Pollmächer T. The stress hormone system in various sleep disorders. J Psychiatr Res. 2011, 45: 1223-1228.

Cíl studie

Cílem studie bylo zmapovat aktivitu osy hypothalamus-hypofýzy-nadledviny použitím dexametazon supresní- CRH stimulačního testu u OSA, RLS a primární insomnie.

Účastníci studie

Studie byla provedena v rámci většího výzkumu zahrnující studii č. 2, proto účastníci a část metodiky (základní vyšetření, dotazníky, polysomnografie) v obou studiích byly stejné: 25 pacientů s OSA, 21 s primární insomnie, 18 s RLS a 33 lidí patřilo do kontrolní skupiny.

Všichni účastníci měli normální fyzikální vyšetření, neměli žádná psychiatrická onemocnění, měli pravidelný cyklus spánek-bdění a ukázali normální výsledky v etných krevních testech a všichni projevíli souhlas se studií.

Metodika

Pacienti a kontrolní osoby podstoupili detailní vyšetření, vyplnili dotazníky PSQI, ESS, BDI, HAMD a HAMA. K posouzení pravidelnosti cyklu spánek – bdění byla u osob v kontrolní skupině používána osmidenní aktigrafie. K vyloučení dalších onemocnění spánku každý pacient absolvoval standardní polysomnografické vyšetření ve dvou následujících dnech (viz Metodika studie č. 1 a 2). Deset dnů před plánovaným PSG vyšetřením probandi podstoupili dexametazon supresní–CRH stimulační test. Večer ve 23 hodin před tímto testem – tedy den před

testem, probandi dostali perorálně 1,5 mg dexametazonu. Následující den začínal test v 15 hodin, kdy byly odebrány první vzorky reprezentující tlumivý vliv dexametazonu. Pokud byla hladina kortizolu vyšší nebo stejná jako 40 ng/ml, pacient byl považován za nonsupresora. V 15:02 byla aplikována během 30 vteřin 100 µg humánní CRH v 1ml. Po aplikaci hCRH byly odebrány čtyři krevní vzorky v 15:30, 15:45, 16:00 a 16:15. Mezi odběry byla pacientům podávána infuze fyziologického roztoku s rychlostí 50 ml/h. Odebrané vzorky byly ihned centrifugovány a zmrazeny na -20 °C do doby analýzy. Po aplikaci hCRH byla odpověď kortizolu a adrenokortikotropního hormonu vypočítána jako plocha pod časovou křivkou (AUC) (Wolever and Jenkins, 1986). Plocha pod časovou křivkou korigovaná na bazální hladinu byla označena jako AUC net, bez korekce na bazální hladinu AUC total. Adrenokortikální odpověď na ACTH byla hodnocena vypočítáním poměru hormonů hypofýzy/nadledviny (pituitary adrenal ratio- PAR): $PAR\ total = AUC_{total}\ ACTH / AUC_{total}\ kortizol$, $PAR\ net = AUC_{net}\ ACTH / AUC_{net}\ kortizol$.

Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena programem SPSS pro Windows 16.0. Základní parametry jako věk, BMI, PSQI, ESS, HAMD, HAMA a rovněž hodnoty testu byly vypočítané analýzou kovariance. U parametrů HAMD a HAMA byla provedena z-transformace. U metabolických parametrů byla provedena analýza kovariance s BMI jako kovarianta. Chi-kvadrát test byl mezi skupinami použitý k porovnání supresorů a nonsupresorů.

Výsledky

Pacienti s OSA měli signifikantně vyšší BMI. Všechny tři skupiny ukázaly vyšší skóre v dotaznících PSQI, ESS, BDI, HAMD a HAMA.

Výsledky dexametazon supresní-CRH stimulačního testu neukazovaly žádné signifikantní rozdíly v počtech supresorů (bazální hladina kortizolu <40 ng/ml)

a nonsupresorů (bazální hladina kortizolu >40 ng/ml). Zvýšenou bazální hladinu kortizolu mělo 4 % pacientů ze skupiny OSA, 12 % pacientů z RLS a 9 % z kontrolní skupiny.

U pacientů s RLS byla hladina ACTH po supresi osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny signifikantně nižší v porovnání se zdravou kontrolou.

Množství kortizolu a ACTH a uvolnění po aplikaci hCRH byly podobné ve všech skupinách. Nenašli jsme žádný signifikantní rozdíl mezi skupinami v peak-, delta, AUC net, AUC total hladinách kortizolu a ACTH.

4.4. STUDIE Č. 4

Příloha č. 4

Maurovich-Horvat E, Kemlink D, Högl B, Frauscher B, Ehrmann L, Geisler P, Ettenhuber K, Mayer G, Peraita-Adrados R, Calvo E, Lammers GJ, Van der Heide A, Ferini-Strambi L, Plazzi G, Poli F, Dauvilliers Y, Jennum P, Leonthin H, Mathis J, Wierzbicka A, Puertas FJ, Beitinger PA, Arnulf I, Riha RL, Tormášiová M, Slonková J, Nevšimalová S, Sonka K; European Narcolepsy Network. Narcolepsy and pregnancy: a retrospective European evaluation of 249 pregnancies. *J Sleep Res.* 2013, 22: 496-512.

Cíl studie

Cílem této multicentrické studie bylo zjistit možné změny a komplikace týkající se těhotenství, porodu a novorozenců u pacientek s narkolepsií.

Účastníci studie a metodika

Studie byla provedena v 16 evropských spánkových centrech v České republice, Dánsku, Francii, Německu, Itálii, Nizozemí, Polsku, Rakousku, Slovensku, Španělsku, Švýcarsku a Spojeném království.

Pro tuto studii byl sestavený dotazník v angličtině zaměřený na informace o těhotenství (jedno nebo více), která u nemocných proběhla. Zúčastněná spánková centra následně dle potřeby dotazník přeložila do lokálních jazyků a rozeslala ho pacientkám poštou nebo je pacientky vyplnily během rutinní ambulantní návštěvy. Informace byla potom anonymizována, případně doplněna ošetřujícím lékařem dle lékařských záznamů, odeslána do Prahy a centrálně zpracována.

U pacientek byla diagnostikována narkolepsie s kataplexií a nebo narkolepsie bez kataplexie v jednotlivých centrech dle Mezinárodní klasifikace poruch spánku, 2. vydání (AASM, 2005).

Práce byla sice zaměřena na výskyt změn a komplikací, ale byla také provedena dvě srovnání: 1) nemocné s narkolepsií versus narkolepsie bez kataplexie a 2) těhotenství v asymptomatickém a v symptomatickém období.

Celkem bylo ze spánkových center rozesláno 458 dotazníků pacientkám, které měly těhotenství v anamnéze (včetně dotazníků předaných a vyplněných při ambulantní kontrole), z kterých bylo navraceno celkem 310 (68% míra odpovědi). Z těchto dotazníků, 61 bylo vyplněno neúplně, zůstalo tedy 249 dotazníků k závěrečné analýze

Statistická analýza

K porovnávání kontinuálních a normálně rozložených parametrů jsme používali Studentův t-test, pro abnormálně rozložené Mann–Whitney U-test. Normální distribuce byla testována testem Shapiro Wilk. Chi-kvadrát a Fisherův exaktní test byly používány k porovnání diskretních proměnných. Statistika kontrolující věk byla provedena analýzou kovariance používaný věk jako kovarianta. Statistická signifikace byla brána jako $p < 0.05$.

Výsledky

Průměrný věk respondentek byl $49,1 \pm 14,9$ (SD - standardní odchylka) roků. Narkolepsií a kataplexií trpělo 216 pacientek a 33 pacientek narkolepsií bez kataplexie.

V skupině pacientek s narkolepsií a kataplexií byl výsledek HLA vyšetření k dispozici u 144 matek, 93,1 % pacientek bylo HLA DQB1*06:02 pozitivní. Ve skupině pacientek s narkolepsií bez kataplexie, HLA status byl dostupný u 18 pacientek, z nichž 72,2% bylo HLA DQB1*06:02 pozitivní. Patientky hlásily celkem 421 těhotenství a 426 dětí včetně pěti párů dvojčat.

Nenašli jsme žádný signifikantní rozdíl mezi skupinami pacientek s narkolepsií a kataplexií a narkolepsií bez kataplexie, co se týče věku během prvního těhotenství, věku při začátku symptomů narkolepsie, času mezi prvním těhotenstvím a objevením

prvních symptomů, času mezi prvním těhotenstvím a účastí ve studii. Symptomatické pacientky bez a s přítomností kataplexie, a symptomatické pacientky s narkolepsií a ataplexií byly mladší během studie a v době začátku onemocnění, a starší během prvního těhotenství v porovnání s pacientkami, u kterých se onemocnění objevilo po porodu.

Těhotenství

Nebyl žádný signifikantní rozdíl mezi skupinami v podílu zastoupení pacientek s potratem v anamnéze.

Pacientky těhotné v období po vzniku symptomů měly vyšší BMI před těhotenstvím, před porodem a rok po porodu, než asymptomatické pacientky během těhotenství. Příbytek na váze byl signifikantně vyšší u pacientek s narkolepsií a kataplexií než ve skupině pacientek bez kataplexie. Protože pacientky se symptomatickým onemocněním byly v průměru starší, statistiku jsme kontrolovali podle věku, ale výsledek zůstal stejný.

Méně pacientek kouřilo během těhotenství v symptomatické než v asymptomatické skupině. Medikace proti symptomům narkolepsie byla alespoň po část doby těhotenství užívána během 29 těhotenství u pacientek s narkolepsií a kataplexií (11,9 %) a v průběhu dvou těhotenství u pacientek s narkolepsií bez kataplexie (7,7 %).

Těhotné pacientky užívaly následující léky: modafinil (12 těhotenství), metylfenidát (6 těhotenství), klomipramin (3 těhotenství), fenmetrazin (3 těhotenství), fenterminum resinatum (2 těhotenství), oxybát sodný (1 těhotenství), amfetamin (1 těhotenství), fluoxetin (1 těhotenství) a fendimetrazin (1 těhotenství). Dvě matky užívaly v skupině narkolepsií bez kataplexie modafinil. Nebyl žádný signifikantní rozdíl v počtech komplikací mezi skupinou užívající a neužívající léky proti symptomům narkolepsie.

U symptomatických pacientek s narkolepsií a kataplexií bylo signifikantně víc těhotenství s komplikacemi v porovnání s asymptomatickými pacientkami, ale komplikace nebyly závažné.

Prevalence anémie během těhotenství byla signifikantně vyšší v skupině narkolepsie a kataplexie než ve skupině narkolepsie bez kataplexie, a u symptomatických než u asymptomatických pacientek. Porucha glukozové tolerance během těhotenství (gestační diabetes mellitus nebo porucha glukozové tolerance) byla častější u symptomatických pacientek s narkolepsií a kataplexií. Žádná pacientka nehlásila diabetes mellitus 1., nebo 2. typu během nebo před těhotenství.

5,8 % matek zjistilo zlepšení závažnosti atak spavosti během prvního trimestru, 61,4 % neudávalo žádnou změnu a 32,8 % ucítilo zhoršení. Během druhého trimestru se objevilo zmírnění atak spavosti v 16,8 % těhotenství, žádná změna v 57,3 % a ke zhoršení došlo v 25,9 %. Během třetího trimestru se objevilo zlepšení u 9,6 %, žádná změna nebyla u 53,9 % a bylo zaznamenáno zhoršení v 36,5 % těhotenství.

Pacientky, které přestaly používat medikaci proti symptomům narkolepsie během prvního trimestru, neudávaly žádnou změnu závažnosti spavosti ve 40,1 %. Zhoršení udávaly ve 40,1 % a zlepšení v 18,2 %.

Porod

Podle Světové zdravotnické organizace, normální termín porodu je mezi 37. a 42. týdnem těhotenství (<http://data.euro.who.int/hfad/>).

Průměrná doba těhotenství byla odpovídající výše uvedené normě pro všechny skupiny a rozdíly v jednotlivých skupinách nebyly signifikantní. Nenašli jsme žádné rozdíly v prevalenci indukovaného porodu. Nejčastějším důvodem pro indukci porodu bylo přenášení (33 těhotenství), nebo asfyxie plodu (11 těhotenství).

Ve třech případech byl porod indukovaný kvůli diagnóze narkolepsie (nebylo dále specifikováno), v jednom případě byla důvodem obava z kataplektického záchvatu.

Ve skupině pacientek s narkolepsií a kataplexií podstoupilo císařský řez signifikantně

víc pacientek než ve skupině pacientek s narkolepsií bez kataplexie; nejčastějším důvodem byla tíseň plodu, prodloužená doba porodu, poloha plodu koncem pánevním, neúspěšná indukce porodu, nebo byl naplánovaný císařský řez z gynekologických důvodů (problémy s placentou, velikost plodu, abnormalita pupečníku, vícečetné těhotenství, vysoký krevní tlak, problémy se srdcem, deformace pánve). Diagnóza narkolepsie byla důvodem císařského řezu ve dvou případech a v pěti anticipace kataplektického záchvatu.

Tři pacientky hlásily kataplexii během porodu (0,9 % těhotenství ve skupině pacientek s narkolepsií a kataplexií). Ve všech případech porod začínal spontánně. V jednom případě byl následně porod dokončen kleštěmi a ve druhém došlo na císařský řez. Z těchto tří žen užívala jedna pacientka během prvního trimestru modafinil a klomipramin. V počtech komplikací nebyly na straně matky zaznamenány signifikantní rozdíly mezi skupinami a to během nebo po porodu nebo v případě komplikací týkajících se novorozence (dušení, aspirace plodové vody etc). Nejčastější příčinou resuscitace (23 případů) byla asfyxie plodu (8 případů).

Jedno dítě zemřelo během normálního těhotenství v 42. týdnu. 25letá matka s diagnózou narkolepsie s kataplexií měla normální těhotenství a nebyla v těhotenství z hlediska narkolepsie medikovaná. Další detaily nejsou známy.

Novorozenci

Váha a délka dítěte byly normální a nelišily se mezi skupinami. Dle pohlaví, 55 % bylo chlapců a 45 % dívek. Nejčastější novorozeneckou komplikací byla žloutenka. Jedinou vážnou udávanou komplikací byla asfyxie z neznámé příčiny v 43. týdnu, která vedla k mentální retardaci. Matce s diagnózou narkolepsie s kataplexií bylo 35 let, celé těhotenství bylo bez komplikací, pacientka nekouřila, nepila alkohol, nebrala žádné léky.

Šestinedělí

Větší podíl matek v symptomatické skupině kojilo než v asymptomatické skupině, a více dětí matek s narkolepsií a kataplexií než matek s narkolepsií bez kataplexie bylo kojené déle než jeden rok.

Signifikantně více symptomatických matek potřebovalo psychologickou terapii kvůli problémům jako je smutek, únava, změna chuti k jídlu, epizody pláče, úzkost, podrážděnost v měsících po porodu, ale tento výsledek má limitovanou hodnotu kvůli nízkému počtu respondentů. Pět žen (čtyři v symptomatické skupině a jedna v asymptomatické skupině) trpělo depresí před těhotenstvím, ale žádná z nich neužívala během těhotenství žádné antidepresivum. Péče o novorozence byla ovlivněna aspoň jedním symptomem narkolepsie u 60,1 % v symptomatické skupině. Na nadměrnou denní spavost si stěžovalo 14,1 % žen v asymptomatické skupině.

Ženy v symptomatické skupině nejvíc trápily problémy spojené s nadměrnou denní spavostí (46,9 %), dále to byly ataky spánku během krmení nebo kojení (33,9 %), strach z některého ze symptomů narkolepsie (14 %), kataplexie s dítětem v náručí (12 % a 14 %) a automatické jednání během krmení nebo procházky (6 %).

DISKUZE

V první studii jsme porovnávali pacienty s narkolepsií a kataplexií se zdravými dobrovolníky s ohledem na glukózový metabolismus, dynamiku osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny a hladinu cytokinů. Použili jsme široký experimentální model, protože metabolismus glukózy, stresová osa a produkce cytokinů jsou úzce spojené a přibývajících důkazy ukazující, že narkolepsie je komplexní neuroendokrinní porucha (Pollmacher, 2011).

Ke zjištění informace o glukózovém metabolismu a fungování osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny u chronických onemocnění spánku, jako je OSA, RLS a insomnie, jsme použili podobně jako v první studii orální glukózový toleranční test a dexametazon supresní-CRH stimulační test. V porovnání se zdravou kontrolou jsme našli zvýšený výskyt poruchy glukózového metabolismu u pacientů s RLS a s OSA, ale ne u pacientů trpících narkolepsií s kataplexií nebo primární insomnií. Pacienti s RLS a s OSA měli téměř pětkrát větší pravděpodobnost poruchy glukózové tolerance než zdravé kontroly. Navíc jsme zjistili, že průměrná hladina HbA1c byla zvýšená u pacientů s RLS a OSA v porovnání s kontrolou. Zvýšená hladina HbA1c a glukózy nalačno naznačují zvýšené riziko vzniku diabetu u pacientů s RLS (9x zvýšené) a s OSA (20x zvýšené).

Porucha glukózové tolerance a zvýšená míra diabetu byla pozorována u pacientů s OSA i jinými studiemi (Tasali et al., 2008b) a může velkou mírou souviset se zvýšením BMI, což bylo dokumentováno i v této studii. Nicméně některé studie ukazují, že OSA souvisí s diabetem 2. typu nezávisle na obezitě (Reichmuth et al., 2005). Důvodem mohou být opakovaná přerušování dýchání během spánku ovlivňující metabolismus přes opakované desaturace nebo porucha spánku per se. Pozitivní korelace mezi kvantitativně vyjádřenou fragmentací spánku v návaznosti na AHI u pacientů s OSA a v návaznosti na PLMI u pacientů s RLS s hladinou glukózy 2h po glukózové zátěži naznačuje, že opakované probouzení je možným společným mechanismem vzniku porušené glukózové tolerance u obou sledovaných onemocnění. Nicméně opakované probouzení reakce mohou mít také přímý vliv na glukózový metabolismus aktivací

sympatického nervového systému (Narkiewicz and Somers, 2003; Walters and Rye, 2009).

Naše výsledky jsou ve shodě s výsledkem další studie od Tasaliho, který vyvolal poruchu glukózové tolerance u zdravých dobrovolníků rušením spánku akustickými stimulacemi ve třech po sobě jdoucích nocích (Tasali et al., 2008a). Akustické rušení přitom neovlivnilo celkovou dobu spánku, což naznačuje specifický vliv opakovaných probouzecích reakcí. Naše výsledky tuto teorii potvrzují, jelikož pacienti s insomnií měli normální glukózovou toleranci podobnou celkové době spánku v porovnání s OSA a RLS, ale netrpěli opakovanými probouzeními jako pacienti s RLS a OSA.

Co se týče pacientů s narkolepsií a kataplexií, nenašli jsme žádný signifikantní rozdíl mezi pacienty a kontrolní skupinou v testu OGTT. Naše výsledky jsou ve shodě se studií Beitingera a kolektivu (Beitinger et al., 2012) a údaji inzulinové senzitivity od Engela a spolupracovníků (Engel et al., 2011). To naznačuje, že narkolepsie s kataplexií není přímo spojená s poruchou glukózového metabolismu, ale vyšší prevalence DM je pravděpodobně sekundární k vyššímu BMI. Podobně jako je to u pacientů s insomnií, ani pacienti s narkolepsií a kataplexií netrpěli opakovanými probouzecími reakcemi. Na rozdíl od našich studií, Honda a jeho spoluautoři zaznamenali signifikantně zvýšenou prevalenci diabetes mellitus u pacientů s narkolepsií (Honda et al., 1986). Protože mezi obezními a neobezními pacienty nebyly rozdíly, tyto autoři dospěli k názoru, že diabetes mellitus nebyl důsledkem obezity.

Protože jsme omezili polysomnografické vyšetření pouze na patientské skupiny, naše studie přímo nepřispívá k odpovědi na otázku, jestli trvání spánku nebo další kvantitativní aspekty nočního spánku, nezávisle na podnětech vedoucích k probouzecím reakcím, ovlivní glukózový metabolismus. Nepřímo z toho plyne, kvůli podobnému trvání spánku kolem 5,5 hodin ve všech patientských skupinách včetně pacientů s primární insomnií, že jenom výraznější redukce spánku může mít bezprostřední negativní efekt na uhlohydrátový metabolismus. Příkladem může být omezení spánku na čtyři

hodiny na několik dnů, které vedlo k poruše glukózového metabolismu i u zdravých lidí (Spiegelet al., 1999).

V porovnání se zdravými dobrovolníky jsme našli signifikantně nižší bazální hladinu kortizolu u pacientů s narkolepsií a kataplexií po potlačení dexametazonem a před aplikaci CRH, ale nebyl zde žádný rozdíl mezi nemocnými a kontrolami v odpovědi kortizolu nebo ACTH na CRH. Toto zjištění, v souladu se studií od Kok a spol. (Kok et al., 2002b) naznačuje nepatrnou bazální „podregulaci“ a/nebo lehce zvýšenou negativní zpětnou vazbu hlavního endokrinního systému u narkolepsie s kataplexií.

Dynamická odpověď systému hypothalamus-hypofýza-nadledviny, zkoumaná poprvé u pacientů s narkolepsií, nebyla odlišná od kontrol. To napovídá, že odpověď hlavního endokrinního systému na stimulaci není změněná v porovnání se zdravými dobrovolníky. Abnormalitu v hladinách ACTH nebo kortizolu v odpovědi na stimulaci CRH po předchozím ztlumení osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny dexametazonem nevykazovali ani pacienti s OSA ani pacienti s RLS nebo s insomnií.

Naše výsledky ukazují, že pacienti, kteří byli pečlivě vybráni, aby netrpěli poruchou nálady nebo jiným psychiatrickým onemocněním, měli v podstatě dle standardního dexametazon supresní-CRH stimulačního testu normální funkci osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny. Na druhé straně, Hori a spolupracovníci (Hori et al., 2011) našli zvýšenou hladinu kortizolu během dexametazon supresní-CRH stimulačního testu u osob udávajících zhoršenou kvalitu spánku dle Pittsburgské škály kvality. Na rozdíl od naší studie, deprese v této studii nebyla systematicky vyřazena; v literatuře je přitom opakovaně prokázána porucha osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny u psychiatrických chorob (von Bardeleben and Holsboer, 1991). Dle našeho pozorování se lze domnívat, že porucha osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny u psychiatrických onemocnění není důsledkem často se spolu vyskytující poruchy spánku. To potvrzuje i výsledek od Steigera a spolupracovníků, ukazující normalizaci hladinu kortizolu u depresivních pacientů po remisi s přetrvávající poruchou spánku (Steiger et al., 1989).

Naše výsledky týkající se pacientů s RLS jsou ve shodě s literaturou. Ani Wetter, Garcia-Borreguero nebo Hornyak nenašli abnormality ve fungování osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny u RLS (Garcia-Borreguero et al., 2004; Hornyak et al., 2008; Wetter et al., 2002).

Výsledky fungování osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny u pacientů s OSA jiných prací nejsou jednoznačné - několik studií ukazuje normální sekreci kortizolu (Dadoun et al., 2007; Entzian et al., 1996; Grunstein et al., 1989; Mestonet al., 2003); zatímco ostatní popisují zvýšenou aktivitu osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny (Bratel et al., 1999; Schmoller et al., 2009; Vgontzas et al., 2007).

Kortizol v těchto studiích byl měřen v jednom časovém bodě, což kvůli možným interindividuálním odlišnostem v cirkadiánním rytmu hormonu je nedostatečné. Navíc u většiny těchto studií nebyla zkoumaná eventuální psychiatrická komorbidita (možnost ovlivnění osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny je zmíněna výše). Jedna studie byla zaměřena na výzkum zpětné vazby osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny (Carneiro et al., 2008). V této studii po podání dexametazonu bylo pozorováno menší potlačení hladiny kortizolu po aplikaci dexametazonu u pacientů s OSA ve srovnání se zdravou kontrolní skupinou. V naší studii jsme tento rozdíl nemohli potvrdit, což může být výsledkem metodologické odlišnosti studie.

Studie ukázaly, že chronická primární insomnie je spojená se zvýšenou večerní a noční hladinou kortizolu ukazující na poruchu rytmu kortizolu (Rodenbeck et al., 2002; Vgontzas et al., 2001). Večerní hladina kortizolu může souviset s počtem probouzení během noci u pacientů s chronickou insomnií. Naše výsledky ukazují, že není postižena negativní zpětnovazebná senzitivita opakovanými probouzecími reakcemi ani u pacientů s RLS, insomnie nebo OSA. Tento výsledek je v souladu s prací publikovanou skupinou Spath-Schalbe et al., která referovala o rychlém návyku systému hypothalamus-hypofýza-nadledviny na opakované probouzecí reakce (Spath-Schwalbe et al., 1991).

Našli jsme vyšší hladinu TNF- α , sTNF-R p55, sTNF-R p75, IL-6 u pacientů s narkolepsií a kataplexií v porovnání se zdravou kontrolní skupinou. Z hlediska TNF- α a IL-6 jsou naše data shodná s předchozími nálezy Okuna a Vgontzase s jejich kolektivy (Okun et al., 2004; Vgontzas et al., 2007). Nicméně, dvě další studie (Himmerich et al., 2006a; Hinze-Selch et al., 1998) nenašly signifikantně zvýšenou hladinu TNF- α . Himmerich a spolupracovníci popsali zvýšenou hladinu sTNF-R p75, ale hladina sTNF-R p55 v jejich studii zvýšená nebyla.

Nejpravděpodobnější příčinou rozporuplnosti mezi studii jsou subtilní změny a nízký počet pacientů. Hladina TNF- α , jeho solubilních receptorů a IL-6 je zvýšená u obézních lidí (Gustafson, 2010). To však nevysvětluje současné zjištění, protože naše výsledky jsou stejné i po adjustaci na BMI. Aktivace systému hypothalamus-hypofýza-nadledviny, konkrétně kortizolu, může potlačit sekreci cytokinu (Straub et al., 2011). Proto zjištěné subtilní snížení basální hladiny kortizolu může vést ke zvýšené produkci zánětlivých cytokinů. Mírné změny v sekreci cytokinů, zejména TNF- α , mohou souviset s polymorfismem TNF promotoru, který byl zjištěn u narkolepsie s kataplexií (Wieczorek et al., 2003). Rovněž mírně zvýšená hladina cirkulujících cytokinů a cytokinového receptoru může odrážet předpokládanou imunologickou příčinu (Fontana et al., 2010). K lepšímu objasnění by pacienti měli být studováni dlouhodobě a na počátku onemocnění.

V naší mezinárodní studii týkající se těhotenství, porodu a narkolepsie jsme nepotvrdili vyšší míru spontánních potratů. Spontánní potrat se vyskytuje v 10 – 15 % potvrzených těhotenství, a je známo, že ženy s určitým autoimunitním onemocněním potrácejí častěji než ženy zdravé (Faussett and Branch, 2000). Tato skutečnost nebyla potvrzena, ale je nutné podotknout, že autoimunitní onemocnění je u narkolepsie s kataplexií s největší pravděpodobností časově limitované (nebyly zjištěny známky pokračujícího autoimunitního procesu po iniciálním stádiu rozvoje příznaků v průběhu dnů až týdnů). Pacienti v symptomatické skupině mají vyšší BMI před těhotenstvím a před porodem a rok po porodu v porovnání s asymptomatickou skupinou. Tato pozorování jsou v souladu s dřívějšími pracemi, ukazující vyšší BMI u pacientů s narkolepsií,

pokud bychom brali asymptomatickou skupinu jako kontrolní (Schuld et al., 2002). Procentuální příbytek na váze během těhotenství byl signifikantně vyšší v skupině pacientek s narkolepsií a kataplexií než ve skupině narkolepsií bez kataplexie, ale BMI před těhotenstvím nebo rok po porodu se mezi dvěma skupinami signifikantně nelišily. Uvedená zjištění jsou v rozporu s naší dřívější studií, která ukazuje vyšší BMI u pacientů s narkolepsií a kataplexií proti narkolepsií bez kataplexie (Sonka et al., 2010). Skupiny nejsou však identické, v recentní studii máme jen ženy a jejich věk je nižší. Příčina větší váhového příbytku není úplně jasná.

Není překvapující, že většina žen v naší studii neužívala medikaci proti symptomům narkolepsie během těhotenství. Důležité, že ani pacientky, ani lékaři nehlásili nežádoucí účinky léků užívaných během těhotenství, ale tuto informaci bereme s maximální rezervovaností vzhledem k malému počtu pacientek a k retrospektivnímu charakteru naší studie a druhé studie od Thorpyho a kolektivu (Thorpy et al., 2011).

Co se týče komplikací během těhotenství, pacientky s narkolepsií a kataplexií v symptomatické skupině měly vyšší prevalenci anémie a porušené glukózové tolerance, v porovnání s asymptomatickými pacientkami.

Vyšší výskyt porušené glukózové tolerance u matek s narkolepsií a kataplexií v symptomatické skupině byl pravděpodobně spojený s vyšším BMI. Nedostatek hypokretinu může mít hypoteticky původ v metabolické dysregulaci. Recentní studie včetně naší práce zmiňované v této disertaci vyšší prevalenci porušené glukozové tolerance u pacientů nezjistily (Beitinger et al., 2012; Engelet al., 2011). Na druhou stranu nelze pominout, že subtilní změny v glukózové regulaci mohou být při těhotenství akcentovány.

Světová zdravotnická organizace odhaduje, že 18 % žen ve vyspělých státech má během těhotenství anémii (WHO, 1992). Prevalence anémie během těhotenství byla vyšší u pacientek s narkolepsií a kataplexií v porovnání s pacientkami s narkolepsií bez kataplexie, a ve symptomatických skupinách v porovnání s asymptomatickými. Příčina není jasná.

Co se týče symptomů narkolepsie během těhotenství, většina žen neužívající žádné léky referovala pouze malou změnu v závažnosti atak spánku. Závažnost symptomu zřejmě nesouvisí se stadii těhotenství, ale údaje z dotazníků neumožňují žádnou jednoznačnou generalizaci, vzhledem k možné fluktuaci symptomu během těhotenství a retrospektivnímu charakteru studie.

Na rozdíl od očekávání (Hoque and Chesson, 2008), pouze u třech pacientek se vyskytla kataplexie během porodu. Frekvence kataplektických záchvatů během těhotenství nemusí nutně znamenat vyšší výskyt kataplexie během porodu. V zemích Evropské unie se císařský řez provádí ve stále se zvyšující míře - od 6,9 % v roce 1999 na 31,5 % v roce 2007 (<http://data.euro.who.int/hfadb/>). V naší studii postoupily ženy s narkolepsií a kataplexií signifikantně víc císařských řezů než ženy bez kataplexie. Vyšší počet elektivních císařských řezů u žen s narkolepsií a kataplexií může být důsledkem vyšší ostražitosti porodníků (Williams et al., 2008), což považujeme také za velice důležitý faktor.

Novorozenci matek s narkolepsií a kataplexií a s narkolepsií bez kataplexie neměli vyšší počet komplikací vyžadující resuscitaci během porodu. Hmotnost a délka novorozenců byly v mezích normy.

Dle průzkumu Světové zdravotnické organizace o kojení v Evropě v roce 2000 bylo zjištěno, že průměrný počet novorozenců kojených do tří měsíců byl 65,4 % do 6 měsíců 53,5 % (<http://data.euro.who.int/hfadb/>). Dle našich údajů, ani kataplexie ani nadměrná denní spavost nejsou limitujícím faktorem pro kojení, i když se stále doporučuje pacientkám, které se chtějí vrátit k užívání medikaci proti symptomům narkolepsie, aby přestaly kojít. Odhady o poporodní depresi uvádějí, že v západních zemích trpí depresí po porodu 6,5 % až 12 % žen (Gaynes et al., 2005).

V naší symptomatické skupině, signifikantně víc pacientek potřebovalo psychologickou terapii než v asymptomatické skupině. To je velice zajímavé, protože deprese je přítomná v signifikantně větší míře u pacientů s narkolepsií, než u lidí bez narkolepsie (Dauvilliers et al., 2009; Jara et al., 2011). Protože však naše studie neobsahovala

podrobnější dotazy týkající se poporodní deprese, nemůžeme určit prevalenci subklinické a klinické deprese.

Jedno z nejrelevantnějších zjištění v naší studii bylo omezení péče o novorozence kvůli symptomům narkolepsie. V symptomatické skupině víc než polovina pacientek hlásila komplikace během péče o dítě. Dle předpokladu, nejvíc omezující byla nadměrná denní spavost, následně ataky spánku během krmení nebo kojení. Nutno podotknout, že pacientky pečující o dítě v asymptomatickém období uváděly nadměrnou denní spavost, což koresponduje s údaji publikované od Montgomery-Downs a jeho spolupracovníků (Montgomery-Downs et al., 2010), které ukazují, že i u zdravých matek bez diagnózy narkolepsie může docházet k závažnému rušení spánku během prvních třech měsíců po porodu a zvýšená spavost může komplikovat péči o dítě.

Limitace dotazníkové studie se týkají především možnost ovlivnění informace při zpětném vybavování. Na druhou stranu těhotenství a porod jsou velmi významné události v životě každé ženy, proto přesné vybavování vzpomínek je pravděpodobně vysoké. Studii vlivu těhotenství u vzácné nemoci jako je narkolepsie s rozsahem podobným naší studii nebylo reálné uspořádat v prospektivním formátu, a pokud je nám známo, ani se podobná studie neplánuje. Při plánování této retrospektivní studie jsme řešili i srovnání se zdravými kontrolami, ale nakonec jsme k tomu nepřistoupili, protože kontroly, musely by být dvakrát spárované (vzhledem k aktuálnímu věku a věku porodu). Vzhledem k časově omezenému a hlavně poměrně náhle začínajícímu procesu postihujícímu laterální hypothalamus, který vede ke vzniku narkolepsie s kataplexií (Peyron et al., 2000) předpokládáme, že nemocné před vznikem klinické symptomatologie nemají ani jiné projevy poruchy řízení hypokretinovými neurony.

ZÁVĚREČNÉ SHRNUÍ

Tři prospektivní a jedna retrospektivní studie, které jsou podkladem této dizertace byly provedeny s cílem nalézt metabolické a imunologické souvislosti nekvalitního spánku při častých onemocnění spánku (insomnie, RLS, OSA) a souvislosti narkolepsie s kataplexií, která má sama autoimunitní příčinu a vyznačuje se nekvalitním nočním spánkem a nedostatečnou bdělostí s abnormálním řízením REM spánku.

První studie byly cílené na glukozový metabolismus, dynamiku osy HPA a hladinu cytokinů u pacientů s narkolepsií a kataplexií a zdravých dobrovolníků. Naše výsledky ukázaly, že narkolepsie sama o sobě není spojená s poruchou glukózového metabolismu. Nenašli jsme změněnou odpověď osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny, ale zjistili jsme, že negativní zpětná vazba po podání dexametazonu může být mírně zvýšená. Současně byla přítomná u pacientů s narkolepsií a kataplexií jemná dysregulace produkce zánětlivých cytokinů. V dalších prospektivních studiích jsme se zaměřili na porovnání parametrů metabolismu glukózy a fungování osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny mezi OSA, RLS a insomnií. V porovnání se zdravou kontrolní skupinou jsme našli zvýšený výskyt poruchy glukózového metabolismu u pacientů s OSA a RLS, což považujeme za důsledek fragmentace spánku opakovanými probouzecími reakcemi. Dále můžeme shrnout, že porucha spánku per se neměla velký vliv na fungování osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny měřené dynamickým dexametazon supresním-CRH stimulačním testem a pacientů s OSA, RLS a insomnie. Vzhledem k podrobnému prospektivnímu formátu našich studií, předpokládáme větší jistotu našich výsledků v případě rozporu s jinými studiemi.

Naše retrospektivní práce o těhotenství u narkolepsie nepřinesla výsledky, které by významně ukazovaly na metabolické nebo autoimunitní procesy v těhotenství u narkolepsie. Tato studie však přinesla první informace o průběhu těhotenství, porodu a šestinedělí u narkolepsie založenou na větší kohortě nemocných, a tak ukázala, že pacientky s narkolepsií by neměly být odrazovány od těhotenství.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AASM. *International Classification of Sleep Disorders: Diagnostic and Coding Manual*. Ed. American Academy of Sleep Medicine, Westchester, 2005.

AASM. *International Classification of Sleep Disorders*. Ed. American Academy of Sleep Medicine Darien, 2014.

Allen, R. P., Picchietti, D., Hening, W. A., Trenkwalder, C., Walters, A. S. and Montplaisi, J. Restless legs syndrome: diagnostic criteria, special considerations, and epidemiology. A report from the restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the National Institutes of Health. *Sleep Med.* 2003, 4: 101-119.

American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Ed. Amer Psychiatric Pub Incorporated, 2013.

Aran, A., Lin, L., Nevsimalova, S., et al. Elevated anti-streptococcal antibodies in patients with recent narcolepsy onset. *Sleep.* 2009, 32: 979-983.

Arnulf, I., Lin, L., Zhang, J., et al. CSF versus serum leptin in narcolepsy: is there an effect of hypocretin deficiency? *Sleep.* 2006, 29: 1017-1024.

Baglioni, C., Battagliese, G., Feige, B., et al. Insomnia as a predictor of depression: a meta-analytic evaluation of longitudinal epidemiological studies. *J Affect Disord.* 2011, 135: 10-19.

Beck, A. T., Ward, C. H., Mendelson, M., Mock, J. and Erbaugh, J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry.* 1961, 4: 561-571.

Beishuizen, A. and Thijs, L. G. Endotoxin and the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *J Endotoxin Res.* 2003, 9: 3-24.

Beitinger, P. A., Fulda, S., Dalal, M. A., et al. Glucose tolerance in patients with narcolepsy. *Sleep.* 2012, 35: 231-236.

Born, J., DeKloet, E. R., Wenz, H., Kern, W. and Fehm, H. L. Gluco- and antimineralocorticoid effects on human sleep: a role of central corticosteroid receptors. *Am J Physiol.* 1991, 260: E183-188.

Born, J., Spath-Schwalbe, E., Schwakenhofer, H., Kern, W. and Fehm, H. L. Influences of corticotropin-releasing hormone, adrenocorticotropin, and cortisol on sleep in normal man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989, 68: 904-911.

Bosco, D., Plastino, M., Fava, A., et al. Role of the Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) in the idiopathic restless legs syndrome. *J Neurol Sci.* 2009, 287: 60-63.

Bratel, T., Wennlund, A. and Carlstrom, K. Pituitary reactivity, androgens and catecholamines in obstructive sleep apnoea. Effects of continuous positive airway pressure treatment (CPAP). *Respir Med.* 1999, 93: 1-7.

Bryant, P. A., Trinder, J. and Curtis, N. Sick and tired: Does sleep have a vital role in the immune system? *Nat Rev Immunol.* 2004, 4: 457-467.

Buysse, D. J. Insomnia. *Jama.* 2013, 309: 706-716.

Buysse, D. J., Reynolds, C. F., Monk, T. H., Berman, S. R. and Kupfer, D. J. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989, 28: 193-213.

Carneiro, G., Togeiro, S. M., Hayashi, L. F., *et al.* Effect of continuous positive airway pressure therapy on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and 24-h blood pressure profile in obese men with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008, 295: E380-384.

Clore, J. N., Nestler, J. E. and Blackard, W. G. Sleep-associated fall in glucose disposal and hepatic glucose output in normal humans. Putative signaling mechanism linking peripheral and hepatic events. *Diabetes.* 1989, 38: 285-290.

Confavreux, C., Hutchinson, M., Hours, M. M., Cortinovis-Tourniaire, P. and Moreau, T. Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. Pregnancy in Multiple Sclerosis Group. *N Engl J Med.* 1998, 339: 285-291.

Dadoun, F., Darmon, P., Achard, V., *et al.* Effect of sleep apnea syndrome on the circadian profile of cortisol in obese men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007, 293: E466-474.

Dahmen, N., Engel, A., Helfrich, J., *et al.* Peripheral leptin levels in narcoleptic patients. *Diabetes Technol Ther.* 2007, 9: 348-353.

Date, Y., Ueta, Y., Yamashita, H., *et al.* Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999, 96: 748-753.

Dauvilliers, Y., Paquereau, J., Bastuji, H., Drouot, X., Weil, J. S. and Viot-Blanc, V. Psychological health in central hypersomnias: the French Harmony study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2009, 80: 636-641.

de Lecea, L., Kilduff, T. S., Peyron, C., *et al.* The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998, 95: 322-327.

Ehlers, C. L., Reed, T. K. and Henriksen, S. J. Effects of corticotropin-releasing factor and growth hormone-releasing factor on sleep and activity in rats. *Neuroendocrinology*. 1986, 42: 467-474.

Engel, A., Helfrich, J., Manderscheid, N., *et al.* Investigation of insulin resistance in narcoleptic patients: dependent or independent of body mass index? *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2011, 7: 351–356.

Entzian, P., Linnemann, K., Schlaak, M. and Zabel, P. Obstructive sleep apnea syndrome and circadian rhythms of hormones and cytokines. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996, 153: 1080-1086.

Faussett, M. B. and Branch, D. W. Autoimmunity and pregnancy loss. *Semin Reprod Med*. 2000, 18: 379-392.

Fiers, W. Tumor necrosis factor. Characterization at the molecular, cellular and in vivo level. *FEBS Lett*. 1991, 285: 199-212.

Fontana, A., Gast, H., Reith, W., Recher, M., Birchler, T. and Bassetti, C. L. Narcolepsy: autoimmunity, effector T cell activation due to infection, or T cell independent, major histocompatibility complex class II induced neuronal loss? *Brain*. 2010, 133: 1300-1311.

Friess, E., U, V. B., Wiedemann, K., Lauer, C. J. and Holsboer, F. Effects of pulsatile cortisol infusion on sleep-EEG and nocturnal growth hormone release in healthy men. *J Sleep Res*. 1994, 3: 73-79.

Gao, X., Schwarzschild, M. A., Wang, H. and Ascherio, A. Obesity and restless legs syndrome in men and women. *Neurology*. 2009, 72: 1255-1261.

Garcia-Borreguero, D., Larrosa, O., Granizo, J. J., de la Llave, Y. and Hening, W. A. Circadian variation in neuroendocrine response to L-dopa in patients with restless legs syndrome. *Sleep*. 2004, 27: 669-673.

Gaynes, B. N., Gavin, N., Meltzer-Brody, S., *et al.* Perinatal depression: prevalence, screening accuracy, and screening outcomes. *Evid Rep Technol Assess (Summ)*. 2005, 1-8.

Glossop, J. R., Dawes, P. T., Nixon, N. B. and Matthey, D. L. Polymorphism in the tumour necrosis factor receptor II gene is associated with circulating levels of soluble tumour necrosis factor receptors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005, 7: R1227-1234.

Goodsell, D. S. The molecular perspective: tumor necrosis factor. *Oncologist*. 2006, 11: 83-84.

Grandner, M. A., Hale, L., Moore, M. and Patel, N. P. Mortality associated with short sleep duration: The evidence, the possible mechanisms, and the future. *Sleep Med Rev.* 2010, 14: 191-203.

Grunstein, R. R., Handelsman, D. J., Lawrence, S. J., Blackwell, C., Caterson, I. D. and Sullivan, C. E. Neuroendocrine dysfunction in sleep apnea: reversal by continuous positive airways pressure therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989, 68: 352-358.

Gustafson, B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2010, 17: 332-341.

Hallmayer, J., Faraco, J., Lin, L., et al. Narcolepsy is strongly associated with the T-cell receptor alpha locus. *Nat Genet.* 2009, 41: 708-711.

Hamilton, M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol.* 1959, 32: 50-55.

Hamilton, M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960, 23: 56-62.

Hammond, E. C. Some Preliminary Findings on Physical Complaints from a Prospective Study of 1,064,004 Men and Women. *Am J Public Health Nations Health.* 1964, 54: 11-23.

Han, F., Lin, L., Warby, S. C., et al. Narcolepsy onset is seasonal and increased following the 2009 H1N1 pandemic in China. *Ann Neurol.* 2011, 70: 410-417.

Heuser, I., Yassouridis, A. and Holsboer, F. The combined dexamethasone/CRH test: a refined laboratory test for psychiatric disorders. *J Psychiatr Res.* 1994, 28: 341-356.

Himmerich, H., Beitinger, P. A., Fulda, S., et al. Plasma levels of tumor necrosis factor alpha and soluble tumor necrosis factor receptors in patients with narcolepsy. *Arch Intern Med.* 2006a, 166: 1739-1743.

Himmerich, H., Fulda, S., Linseisen, J., et al. Depression, comorbidities and the TNF-alpha system. *Eur Psychiatry.* 2008, 23: 421-429.

Himmerich, H., Fulda, S., Linseisen, J., et al. TNF-alpha, soluble TNF receptor and interleukin-6 plasma levels in the general population. *Eur Cytokine Netw.* 2006b, 17: 196-201.

Hinze-Selch, D., Wetter, T. C., Zhang, Y., et al. In vivo and in vitro immune variables in patients with narcolepsy and HLA-DR2 matched controls. *Neurology.* 1998, 50: 1149-1152.

Holliday, E. G., Magee, C. A., Kritharides, L., Banks, E. and Attia, J. Short sleep duration is associated with risk of future diabetes but not cardiovascular disease: a prospective study and meta-analysis. *PLoS One*. 8: e82305.

Holliday, E. G., Magee, C. A., Kritharides, L., Banks, E. and Attia, J. Short sleep duration is associated with risk of future diabetes but not cardiovascular disease: a prospective study and meta-analysis. *PLoS One*. 2013, 8: e82305.

Holsboer, F., von Bardeleben, U. and Steiger, A. Effects of intravenous corticotropin-releasing hormone upon sleep-related growth hormone surge and sleep EEG in man. *Neuroendocrinology*. 1988, 48: 32-38.

Honda, Y., Doi, Y., Ninomiya, R. and Ninomiya, C. Increased frequency of non-insulin-dependent diabetes mellitus among narcoleptic patients. *Sleep*. 1986, 9: 254-259.

Hoover-Stevens, S. and Kovacevic-Ristanovic, R. Management of narcolepsy in pregnancy. *Clin Neuropharmacol*. 2000, 23: 175-181.

Hoque, R. and Chesson, A. L., Jr. Conception, pregnancy, delivery, and breastfeeding in a narcoleptic patient with cataplexy. *J Clin Sleep Med*. 2008, 4: 601-603.

Hor, H., Kutalik, Z., Dauvilliers, Y., et al. Genome-wide association study identifies new HLA class II haplotypes strongly protective against narcolepsy. *Nat Genet*. 2010, 42: 786-789.

Hori, H., Teraishi, T., Sasayama, D., et al. Poor sleep is associated with exaggerated cortisol response to the combined dexamethasone/CRH test in a non-clinical population. *J Psychiatr Res*. 2011, 45: 1257-1263.

Hornyak, M., Rupp, A., Riemann, D., Feige, B., Berger, M. and Voderholzer, U. Low-dose hydrocortisone in the evening modulates symptom severity in restless legs syndrome. *Neurology*. 2008, 70: 1620-1622.

<http://data.euro.who.int/hfad/b/>.

Chabas, D., Foulon, C., Gonzalez, J., et al. Eating disorder and metabolism in narcoleptic patients. *Sleep*. 2007, 30: 1267-1273.

Chang, F. C. and Opp, M. R. Corticotropin-releasing hormone (CRH) as a regulator of waking. *Neurosci Biobehav Rev*. 2001, 25: 445-453.

Irwin, M. R., Wang, M., Campomayor, C. O., Collado-Hidalgo, A. and Cole, S. Sleep deprivation and activation of morning levels of cellular and genomic markers of inflammation. *Arch Intern Med*. 2006, 166: 1756-1762.

Irwin, M. R., Wang, M., Ribeiro, D., et al. Sleep loss activates cellular inflammatory signaling. *Biol Psychiatry*. 2008, 64: 538-540.

Jalkanen, A., Alanen, A. and Airas, L. Pregnancy outcome in women with multiple sclerosis: results from a prospective nationwide study in Finland. *Mult Scler*. 2010, 16: 950-955.

Jara, C. O., Popp, R., Zulley, J., Hajak, G. and Geisler, P. Determinants of depressive symptoms in narcoleptic patients with and without cataplexy. *J Nerv Ment Dis*. 2011, 199: 329-334.

Jennum, P., Ibsen, R., Knudsen, S. and Kjellberg, J. Comorbidity and mortality of narcolepsy: a controlled retro- and prospective national study. *Sleep*. 2013, 36: 835-840.

Johns, M. W. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep*. 1991, 14: 540-545.

Kimura, M., Muller-Preuss, P., Lu, A., et al. Conditional corticotropin-releasing hormone overexpression in the mouse forebrain enhances rapid eye movement sleep. *Mol Psychiatry*. 2010, 15: 154-165.

Kohno, D., Suyama, S. and Yada, T. Leptin transiently antagonizes ghrelin and long-lastingly orexin in regulation of Ca²⁺ signaling in neuropeptide Y neurons of the arcuate nucleus. *World J Gastroenterol*. 2008, 14: 6347-6354.

Kok, S. W., Meinders, A. E., Overeem, S., et al. Reduction of plasma leptin levels and loss of its circadian rhythmicity in hypocretin (orexin)-deficient narcoleptic humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002a, 87: 805-809.

Kok, S. W., Roelfsema, F., Overeem, S., et al. Dynamics of the pituitary-adrenal ensemble in hypocretin-deficient narcoleptic humans: blunted basal adrenocorticotropin release and evidence for normal time-keeping by the master pacemaker. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002b, 87: 5085-5091.

Kuru, M., Ueta, Y., Serino, R., et al. Centrally administered orexin/hypocretin activates HPA axis in rats. *Neuroreport*. 2000, 11: 1977-1980.

Laugsand, L. E., Vatten, L. J., Platou, C. and Janszky, I. Insomnia and the risk of acute myocardial infarction: a population study. *Circulation*. 2011, 124: 2073-2081.

Leproult, R., Copinschi, G., Buxton, O. and Van Cauter, E. Sleep loss results in an elevation of cortisol levels the next evening. *Sleep*. 1997, 20: 865-870.

Levy, P., Pepin, J. L., Arnaud, C., *et al.* Intermittent hypoxia and sleep-disordered breathing: current concepts and perspectives. *Eur Respir J.* 2008, 32: 1082-1095.

Littner, M., Johnson, S. F., McCall, W. V., *et al.* Practice parameters for the treatment of narcolepsy: an update for 2000. *Sleep.* 2001, 24: 451-466.

Longstreth, W. T., Jr., Koepsell, T. D., Ton, T. G., Hendrickson, A. F. and van Belle, G. The epidemiology of narcolepsy. *Sleep.* 2007, 30: 13-26.

Mahlios, J., De la Herran-Arita, A. K. and Mignot, E. The autoimmune basis of narcolepsy. *Curr Opin Neurobiol.* 2013, 23: 767-773.

Matsuda, M. and DeFronzo, R. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing. *Diabetes Care.* 1999, 22: 1462-1470.

Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F. and Turner, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985, 28: 412-419.

Maurovich-Horvat, E., Tormasiova, M., Slonkova, J., *et al.* Assessment of pregnancy outcomes in Czech and Slovak women with narcolepsy. *Med Sci Monit.* 2010, 16: SR35-40.

Meier-Ewert, H. K., Ridker, P. M., Rifai, N., *et al.* Effect of sleep loss on C-reactive protein, an inflammatory marker of cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol.* 2004, 43: 678-683.

Merlino, G., Fratticci, L., Valente, M., *et al.* Association of restless legs syndrome in type 2 diabetes: a case-control study. *Sleep.* 2007, 30: 866-871.

Meston, N., Davies, R. J., Mullins, R., Jenkinson, C., Wass, J. A. and Stradling, J. R. Endocrine effects of nasal continuous positive airway pressure in male patients with obstructive sleep apnoea. *J Intern Med.* 2003, 254: 447-454.

Mignot, E. and Thorsby, E. Narcolepsy and the HLA system. *N Engl J Med.* 2001, 344: 692.

Moldofsky, H., Lue, F. A., Davidson, J. R. and Gorczynski, R. Effects of sleep deprivation on human immune functions. *Faseb J.* 1989, 3: 1972-1977.

Montgomery-Downs, H. E., Insana, S. P., Clegg-Kraynok, M. M. and Mancini, L. M. Normative longitudinal maternal sleep: the first 4 postpartum months. *Am J Obstet Gynecol.* 2010, 203: 465 e461-467.

Montplaisir, J., Boucher, S., Poirier, G., Lavigne, G., Lapierre, O. and Lesperance, P. Clinical, polysomnographic, and genetic characteristics of restless legs syndrome: a study of 133 patients diagnosed with new standard criteria. *Mov Disord.* 1997, 12: 61-65.

Morin, C. M., LeBlanc, M., Belanger, L., Ivers, H., Merette, C. and Savard, J. Prevalence of insomnia and its treatment in Canada. *Can J Psychiatry.* 2011, 56: 540-548.

Mullington, J. M., Simpson, N. S., Meier-Ewert, H. K. and Haack, M. Sleep loss and inflammation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010, 24: 775-784.

Narkiewicz, K. and Somers, V. K. Sympathetic nerve activity in obstructive sleep apnoea. *Acta Physiol Scand.* 2003, 177: 385-390.

Nieto-Vazquez, I., Fernandez-Veledo, S., Kramer, D. K., Vila-Bedmar, R., Garcia-Guerra, L. and Lorenzo, M. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch Physiol Biochem.* 2008, 114: 183-194.

Nohynek, H., Jokinen, J., Partinen, M., et al. AS03 adjuvanted AH1N1 vaccine associated with an abrupt increase in the incidence of childhood narcolepsy in Finland. *PLoS One.* 2012, 7: e33536.

Ohayon, M. M. Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. *Sleep Med Rev.* 2002, 6: 97-111.

Okun, M. L., Giese, S., Lin, L., Einen, M., Mignot, E. and Coussons-Read, M. E. Exploring the cytokine and endocrine involvement in narcolepsy. *Brain Behav Immun.* 2004, 18: 326-332.

Pamidi, S., Wroblewski, K., Broussard, J., et al. Obstructive sleep apnea in young lean men: impact on insulin sensitivity and secretion. *Diabetes Care.* 2012, 35: 2384-2389.

Panagiotakos, D. B., Pitsavos, C., Yannakoulia, M., Chrysohoou, C. and Stefanadis, C. The implication of obesity and central fat on markers of chronic inflammation: The ATTICA study. *Atherosclerosis.* 2005, 183: 308-315.

Partinen, M., Saarenpaa-Heikkila, O., Ilveskoski, I., et al. Increased incidence and clinical picture of childhood narcolepsy following the 2009 H1N1 pandemic vaccination campaign in Finland. *PLoS One.* 2012, 7: e33723.

Pedersen, M., Bruunsgaard, H., Weis, N., et al. Circulating levels of TNF-alpha and IL-6-relation to truncal fat mass and muscle mass in healthy elderly individuals and in patients with type-2 diabetes. *Mech Ageing Dev.* 2003, 124: 495-502.

Peppard, P. E., Young, T., Barnet, J. H., Palta, M., Hagen, E. W. and Hla, K. M.

Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol.* 2013, 177: 1006-1014.

Peyron, C., Faraco, J., Rogers, W., *et al.* A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nat Med.* 2000, 6: 991-997.

Peyron, C., Tighe, D. K., van den Pol, A. N., *et al.* Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci.* 1998, 18: 9996-10015.

Ping, L. S., Yat, F. S. and Kwok, W. Y. Status cataplecticus leading to the obstetric complication of prolonged labor. *J Clin Sleep Med.* 2007, 3: 56-57.

Poli, F., Plazzi, G., Di Dalmazi, G., *et al.* Body mass index-independent metabolic alterations in narcolepsy with cataplexy. *Sleep.* 2009, 32: 1491-1497.

Pollmacher, T., Dalal, M. A. and Schuld, A. Immunoendocrine Abnormalities in Narcolepsy. *Sleep Med Clin.* 2007, 2: 293-302.

Pollmacher, T., Keckeis, M., Schuld, A. Endocrine Abnormalities in Narcolepsy. In B. C. L. Baumann C.R., Scammel T.E. (Ed.), *Narcolepsy. Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment* (pp. 217-225). Springer, 2011

Pollmacher, T., Schuld, A., Kraus, T., Haack, M., Hinze-Selch, D. and Mullington, J. Experimental immunomodulation, sleep, and sleepiness in humans. *Ann N Y Acad Sci.* 2000, 917: 488-499.

Polonsky, K. S., Given, B. D. and Van Cauter, E. Twenty-four-hour profiles and pulsatile patterns of insulin secretion in normal and obese subjects. *J Clin Invest.* 1988, 81: 442-448.

Punjabi, N. M. and Beamer, B. A. Alterations in Glucose Disposal in Sleep-disordered Breathing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009, 179: 235-240.

Rechtschaffen A., K. A. A manual of standardized terminology, techniques, and scoring systems for sleep stages of human subjects. 1968,

Reichmuth, K. J., Austin, D., Skatrud, J. B. and Young, T. Association of sleep apnea and type II diabetes: a population-based study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005, 172: 1590-1595.

Roberts, H. J. The Syndrome of Narcolepsy and Diabetogenic („Functional“) Hyperinsulinism, with Special Reference to Obesity, Diabetes, Idiopathic Edema, Cerebral Dysrhythmias and Multiple Sclerosis (200 Patients). *J Am Geriatr Soc.* 1964, 12: 926-976.

Rodenbeck, A., Huether, G., Ruther, E. and Hajak, G. Interactions between evening and nocturnal cortisol secretion and sleep parameters in patients with severe chronic primary insomnia. *Neurosci Lett.* 2002, 324: 159-163.

Roth, T., Coulouvrat, C., Hajak, G., *et al.* Prevalence and perceived health associated with insomnia based on DSM-IV-TR; International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, Tenth Revision; and Research Diagnostic Criteria/ International Classification of Sleep Disorders, Second Edition criteria: results from the America Insomnia Survey. *Biol Psychiatry.* 2011, 69: 592-600.

Sakurai, T. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nat Rev Neurosci.* 2007, 8: 171-181.

Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M., *et al.* Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.* 1998, 92: 1 page following 696.

Saraste, M., Vaisanen, S., Alanen, A. and Airas, L. Clinical and immunologic evaluation of women with multiple sclerosis during and after pregnancy. *Gend Med.* 2007, 4: 45-55.

Scheen, A. J., Byrne, M. M., Plat, L., Leproult, R. and Van Cauter, E. Relationships between sleep quality and glucose regulation in normal humans. *Am J Physiol.* 1996, 271: E261-270.

Schilling, C., Schredl, M., Strobl, P. and Deuschle, M. Restless legs syndrome: evidence for nocturnal hypothalamic-pituitary-adrenal system activation. *Mov Disord.* 2010, 25: 1047-1052.

Schmoller, A., Eberhardt, F., Jauch-Chara, K., *et al.* Continuous positive airway pressure therapy decreases evening cortisol concentrations in patients with severe obstructive sleep apnea. *Metabolism.* 2009, 58: 848-853.

Schuld, A., Beitinger, P. A., Dalal, M., *et al.* Increased body mass index (BMI) in male narcoleptic patients, but not in HLA-DR2-positive healthy male volunteers. *Sleep Med.* 2002, 3: 335-339.

Schuld, A., Blum, W. F., Uhr, M., *et al.* Reduced leptin levels in human narcolepsy. *Neuroendocrinology.* 2000, 72: 195-198.

Silvertsen, B., Lallukka, T., Pallesen, S., Hysing, M., Krokstad, S. and Overland, S. Insomnia as a risk factor for ill health: results from the large population-based prospective HUNT Study in Norway. *J Sleep Res.* 2014, 23: 124-132.

Sonka, K., Kemlink, D., Buskova, J., et al. Obesity accompanies narcolepsy with cataplexy but not narcolepsy without cataplexy. *Neuro Endocrinol Lett.* 2010, 31: 631-634.

Sonka, K. and Susta, M. Diagnosis and management of central hypersomnias. *Ther Adv Neurol Disord.* 2012, 5: 297-305.

Spath-Schwalbe, E., Gofferje, M., Kern, W., Born, J. and Fehm, H. L. Sleep disruption alters nocturnal ACTH and cortisol secretory patterns. *Biol Psychiatry.* 1991, 29: 575-584.

Spiegel, K., Leproult, R., Colecchia, E. F., et al. Adaptation of the 24-h growth hormone profile to a state of sleep debt. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000, 279: R874-883.

Spiegel, K., Leproult, R., L'Hermite-Baleriaux, M., Copinschi, G., Penev, P. D. and Van Cauter, E. Leptin levels are dependent on sleep duration: relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004, 89: 5762-5771.

Spiegel, K., Leproult, R. and Van Cauter, E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet.* 1999, 354: 1435-1439.

Steiger, A. Neurochemical regulation of sleep. *J Psychiatr Res.* 2007, 41: 537-552.

Steiger, A., von Bardeleben, U., Herth, T. and Holsboer, F. Sleep EEG and nocturnal secretion of cortisol and growth hormone in male patients with endogenous depression before treatment and after recovery. *J Affect Disord.* 1989, 16: 189-195.

Straub, R. H., Buttgereit, F. and Cutolo, M. Alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in systemic immune diseases - a role for misguided energy regulation. *Clin Exp Rheumatol.* 2011, 29: S23-31.

Tafti, M., Hor, H., Dauvilliers, Y., et al. DQB1 locus alone explains most of the risk and protection in narcolepsy with cataplexy in Europe. *Sleep.* 2014, 37: 19-25.

Takahashi S. In C. Guilleminault (Ed.), *Narcolepsy (Advances in Sleep Research)*. Spectrum Publications, New York. 1976.

Tasali, E., Leproult, R., Ehrmann, D. A. and Van Cauter, E. Slow-wave sleep and the risk of type 2 diabetes in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008a, 105: 1044-1049.

Tasali, E., Mokhlesi, B. and Van Cauter, E. Obstructive sleep apnea and type 2 diabetes: interacting epidemics. *Chest.* 2008b, 133: 496-506.

Thannickal, T. C., Moore, R. Y., Nienhuis, R., *et al.* Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron*. 2000, 27: 469-474.

The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003, 3160-3167.

Thorpy, M., Zhao, C. G. and Dauvilliers, Y. Management of narcolepsy during pregnancy. *Sleep Med*. 2011, 14: 367-376.

Toshinai, K., Date, Y., Murakami, N., *et al.* Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway. *Endocrinology*. 2003, 144: 1506-1512.

Tsujino, N. and Sakurai, T. Orexin/hypocretin: a neuropeptide at the interface of sleep, energy homeostasis, and reward system. *Pharmacol Rev*. 2009, 61: 162-176.

Van Cauter, E., Polonsky, K. S. and Scheen, A. J. Roles of circadian rhythmicity and sleep in human glucose regulation. *Endocr Rev*. 1997, 18: 716-738.

van der Kop, M. L., Pearce, M. S., Dahlgren, L., *et al.* Neonatal and delivery outcomes in women with multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2011, 70: 41-50.

van Leeuwen, W. M., Lehto, M., Karisola, P., *et al.* Sleep restriction increases the risk of developing cardiovascular diseases by augmenting proinflammatory responses through IL-17 and CRP. *PLoS One*. 2009, 4: e4589.

Vazquez-Palacios, G., Retana-Marquez, S., Bonilla-Jaime, H. and Velazquez-Moctezuma, J. Further definition of the effect of corticosterone on the sleep-wake pattern in the male rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 2001, 70: 305-310.

Vgontzas, A. N., Bixler, E. O., Lin, H. M., *et al.* Chronic insomnia is associated with nyctohemeral activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001, 86: 3787-3794.

Vgontzas, A. N., Mastorakos, G., Bixler, E. O., Kales, A., Gold, P. W. and Chrousos, G. P. Sleep deprivation effects on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal and growth axes: potential clinical implications. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999, 51: 205-215.

Vgontzas, A. N., Papanicolaou, D. A., Bixler, E. O., Kales, A., Tyson, K. and Chrousos, G. P. Elevation of plasma cytokines in disorders of excessive daytime sleepiness: role of sleep disturbance and obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997, 82: 1313-1316.

Vgontzas, A. N., Pejovic, S., Zoumakis, E., *et al.* Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in obese men with and without sleep apnea: effects of continuous positive airway pressure therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007, 92: 4199-4207.

Vgontzas, A. N., Zoumakis, E., Bixler, E. O., *et al.* Adverse effects of modest sleep restriction on sleepiness, performance, and inflammatory cytokines. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004, 89: 2119-2126.

von Bardeleben, U. and Holsboer, F. Effect of age on the cortisol response to human corticotropin-releasing hormone in depressed patients pretreated with dexamethasone. *Biol Psychiatry.* 1991, 29: 1042-1050.

von Treuer, K., Norman, T. R. and Armstrong, S. M. Overnight human plasma melatonin, cortisol, prolactin, TSH, under conditions of normal sleep, sleep deprivation, and sleep recovery. *J Pineal Res.* 1996, 20: 7-14.

Wajant, H., Pfizenmaier, K. and Scheurich, P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ.* 2003, 10: 45-65.

Walters, A. S., LeBrocq, C., Dhar, A., *et al.* Validation of the International Restless Legs Syndrome Study Group rating scale for restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2003, 4: 121-132.

Walters, A. S. and Rye, D. B. Review of the relationship of restless legs syndrome and periodic limb movements in sleep to hypertension, heart disease, and stroke. *Sleep.* 2009, 32: 589-597.

Wang, G. J., Volkow, N. D., Logan, J., *et al.* Brain dopamine and obesity. *Lancet.* 2001, 357: 354-357.

Weibel, L., Follenius, M., Spiegel, K., Ehrhart, J. and Brandenberger, G. Comparative effect of night and daytime sleep on the 24-hour cortisol secretory profile. *Sleep.* 1995, 18: 549-556.

Weitzman, E. D., Fukushima, D., Nogeire, C., Roffwarg, H., Gallagher, T. F. and Hellman, L. Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1971, 33: 14-22.

Weitzman, E. D., Zimmerman, J. C., Czeisler, C. A. and Ronda, J. Cortisol secretion is inhibited during sleep in normal man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983, 56: 352-358.

Wetter, T. C., Collado-Seidel, V., Oertel, H., Uhr, M., Yassouridis, A. and Trenkwalder, C. Endocrine rhythms in patients with restless legs syndrome. *J Neurol.* 2002, 249: 146-151.

WHO. The prevalence of anaemia in women: a tabulation of available information. *Ed. World Health Organization, Geneva, 1992.*

Wieczorek, S., Gencik, M., Rujescu, D., *et al.* TNFA promoter polymorphisms and narcolepsy. *Tissue Antigens*. 2003, 61: 437-442.

Wijnans, L., Lecomte, C., de Vries, C., *et al.* The incidence of narcolepsy in Europe: before, during, and after the influenza A(H1N1)pdm09 pandemic and vaccination campaigns. *Vaccine*. 2013, 31: 1246-1254.

Williams, S. F., Alvarez, J. R., Pedro, H. F. and Apuzzio, J. J. Glutaric aciduria type II and narcolepsy in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2008, 111: 522-524.

Winsky-Sommerer, R., Yamanaka, A., Diano, S., *et al.* Interaction between the corticotropin-releasing factor system and hypocretins (orexins): a novel circuit mediating stress response. *J Neurosci*. 2004, 24: 11439-11448.

Wolever, T. M. and Jenkins, D. J. The use of the glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. *Am J Clin Nutr*. 1986, 43: 167-172.

Yehuda, R. Status of glucocorticoid alterations in post-traumatic stress disorder. *Ann N Y Acad Sci*. 2009, 1179: 56-69.

Young, T., Peppard, P. E. and Gottlieb, D. J. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002, 165: 1217-1239.

SEZNAM PUBLIKACÍ

1. publikace in extenso, které jsou podkladem disertace

a) s IF

Maurovich-Horvat, E., Keckeis, M., Lattová, Z., Kemlink, D., Wetter, T.C., Schuld, A., Sonka, K., Pollmächer, T. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis, glucose metabolism and TNF- α in narcolepsy.

J Sleep Res. 2014 (přijato k publikaci) IF (2012): 3,043

Maurovich-Horvat, E., Kemlink, D., Högl, B., Frauscher, B., Ehrmann, L., Geisler, P., Ettenhuber, K., Mayer, G., Peraita-Adrados, R., Calvo, E., Lammers, G. J., Van der Heide, A., Ferini-Strambi, L., Plazzi, G., Poli, F., Dauvilliers, Y., Jennum, P., Leonthin, H., Mathis, J., Wierzbicka, A., Puertas, F. J., Beitinger, P. A, Arnulf, I., Riha, R. L, Tormášiová, M., Slonková, J., Nevšimalová, S., Sonka, K.; European Narcolepsy Network. Narcolepsy and pregnancy: a retrospective European evaluation of 249 pregnancies

J Sleep Res. 2013, 22: 496-512. IF(2012):3,043

Lattova, Z., Keckeis, M., Maurovich-Horvat, E., Wetter, T. C., Wilde-Frenz, J., Schuld, A., Pollmächer, T. The stress hormone system in various sleep disorders.

J.Psychiatr Res. 2011, 45: 1223-1228. IF 4,544

Keckeis, M., Lattova, Z., Maurovich-Horvat, E., Beitinger, P. A, Birkmann, S., Lauer C. J., Wetter, T.C., Wilde-Frenz, J., Pollmächer, T. Impaired glucose tolerance in sleep disorders.

PLoS One. 2010, 5: e9444. IF: 4,351

Maurovich-Horvat, E., Tormášiová, M., Slonková, J., Kemlink, D., Maurovich-Horvat, L., Nevšimalová, S., Pretl, M., Sonka, K. Assessment of pregnancy outcomes in Czech and Slovak women with narcolepsy.

Med Sci Monit. 2010, 16: SR35-40. IF:1,699

2. publikace in extenso, které nejsou podkladem disertace

a) s IF

Sonka, K., Kemlink, D., Busková, J., Pretl, M., Srůtková, Z., Maurovich Horvat, E., Vodicka, P., Poláková, V., Nevsímalová, S. Obesity accompanies narcolepsy with cataplexy but not narcolepsy without cataplexy.

Neuro Endocrinol Lett. 2010, 31: 631-634. IF:1,621

Sonka, K., Pazderová, L., Bušková, J., Pretl, M., Dostálová S, Vorlová, T., Piško, J., Maurovich-Horvat, E., Plchová, I., Volná, J., Příhodová, I, Suchá, D., Nevšímalová, S, kemlink, D. Přínos opakování nepotvrzujícího testu mnohočetné latence usnutí (MSLT) pro stanovení diagnózy narkolepsie.

Cesk Slov Neurol N 2014 (Přijato k publikaci) IF (2012) 0,366

b) bez IF

Šonka, K., Fiksa, J, Horváth, E., Kemlink, D., Sussová, J., Bohm, J., Šebesta, V., Volná, J., Nevšímalová, S. Sleep and fasciculations in amyotrophic lateral sclerosis. *Somnologie.* 2004; 8:25-30

Kapitoly a souborné články

Maurovich Horvat, E., Šonka, K. Experience taken from sleep laboratory measurement of excessive daytime sleepiness. M.Novák: In: Neuroinformatic databases and mininf of knowledge of them. ČR, Praha, 2007, s. 140-149. 1.vydání, *Neural Network World –Monografie*, Czech Technical University 978-80-87136-010

Maurovich-Horvat, E., Pollmacher T. Sonka K. The effects of sleep and sleep deprivation on metabolic, endocrine and immune parameters.

Prague Med Rep. 2008, 109: 275-285

Maurovich Horvat E., Šonka K. Kouření a poruchy spánku. In: Králíková E, ed. Závislost na tabáku, epidemiologie, prevence a léčba. Adamira, Břeclav 2013: 322-323

Kongresové sborníky a abstrakta

1. Sonka, K., Horvath, E., Fiksa, J., Sussová, J. Nocturnal sleep in amyotrophic lateral sclerosis.
J Sleep Res 2002;11(Suppl 1):213.
2. Lattova, Z., Maurovich-Horvat, E., Nia, S., Pollmächer, T. Prevalence of Restless Leg Syndrom in Psychiatric Population. *Pharmacopsychiatry* 2007; 40 - A165
3. Lattova, Z., Keckeis, M., Nia, S., Maurovich-Horvat, E. and Pollmacher, T. Prevalence of restless legs syndrome in psychiatric population. *J. Sleep Res.* 2008, 17:76.
4. Maurovich-Horvat, E., Tormášiová, M., Slonková, J., Kemlink, D., Pretl, M., Nevšímalová, S., Šonka, K. The effect of narcolepsy on pregnancies and newborns. Symposium on narcolepsy and hypersomnia in memory of Bedřich Roth (1919-1989); Prague 24.4.2009. Abstracts.
5. Maurovich-Horvat, E., Tormášiová M, Slonková J, Kemlink D, Pretl M, Nevšímalová S, Šonka K. Vliv narkolepsie na těhotenství, porod a novorozence. XI. Česká a VI. česko-slovenský sjezd spánkového lékařství. Abstracta.Praha 2009; Česká společnost pro výzkum spánku a spánkovou medicínu, s. 52.
6. Šonka K, Kemlink D, Bušková J, Šrůtková Z, Pretl M, Maurovich-Horvat E, Vodička P, Nevšímalová S: Obezita provází narkolepsii s kataplexií nikoliv narkolepsii bez kataplexie. *Via Practica* 2010;7 (S5): 20-21.
7. Maurovich Horvat E, Kemlink D, Högl B, Frauscher B, Ehrmann L, Geisler P, Ettenhuber K, Mayer G, Peraíta Adrados R, Calvo E, Lammers GJ, van der Heide A, Ferini-Strambi L, Plazzi G, Poli F, Dauvilliers Y, Jennum P, Leonthin H, Mathis J, Wierzbicka A, Puertas FJ, Beitinger PA, Arnulf I, Riha R, Tormášiová M, Slonková J, Nevšímalová S, Šonka K on behalf of European Narcolepsy Network: Retrospective

Evaluation of Pregnancies in European Narcoleptic Women. XII. Český a VIII. Česko-slovenský sjezd spánkového lékařství, Český Krumlov, 20.-22.10.2011. Sborník abstraktů. Česká společnost pro výzkum spánku a spánkovou medicínu: 43.

8. Maurovich Horvat E, Pollmacher T, Keckeis M, Lattova Z, Kemlink D, Nevšimalova S, Šonka K: Metabolizmus glukózy a osa hypothalamus-hypofýza-nadledviny u pacientů s narkolepsií. XII. Český a VIII. Česko-slovenský sjezd spánkového lékařství, Český Krumlov, 20.-22.10.2011. Sborník abstraktů. Česká společnost pro výzkum spánku a spánkovou medicínu: 49.

9. Maurovich Horvat E, Kemlink D, Högl B, Frauscher B, Ehrmann L, Geisler P, Ettenhuber K, Mayer G, Peraita Adrados R, Calvo E, Lammers GJ, van der Heide A, Ferini-Strambi L, Plazzi G, Poli F, Dauvilliers Y, Jennum P, Leonthin H, Mathis J, Wierzbicka A, Puertas FJ, Beitinger PA, Arnulf I, Riha R, Tormášiová M, Slonková J, Nevšimalová S, Šonka K za European Narcolepsy Network. Retrospektivní hodnocení těhotenství u Evropských pacientek s narkolepsií. *Cesk Slov Neurol N* 2011; 74/107(Suppl): S43.

10. Maurovich-Horvat E, Keckeis M, Lattová Z, Kemlink D, Wetter T-C, Šonka K, Pollmächer T. The hypothalamo- pituitary- adrenal axis, glucose metabolism and TNF- α in narcolepsy. *Sleep Med* 2013;14S:e154.

11. Maurovich Horvat E, Keckeis M, Lattová Z, Kemlink D, Wetter TC, Schuld A, Šonka K, Pollmächer T. Metabolizmus glukózy a osa hypothalamus-hypofýza-nadledviny u pacientů s narkolepsií. *Cesk Slov Neurol N* 2013;16/109 (Suppl 2):2S14.

POUŽÍVANÉ ZKRATKY

ACTH	adrenokortikotropin
AAI	počet probouzecích reakcí v návaznosti na apnoe/hypopnoe za hodinu spánku
AHI	apnoe/hypopnoe index (počet apnoí a hypopnoí za hodinu spánku)
AUCg	celková plocha pod křivkou pro glukózu
AUCi	celková plocha pod křivkou pro inzulin
AUCnet	plocha pod křivkou korigovaná na bazální hladinu
AUCtotal	plocha pod křivkou korigovaná bez korekce na bazální hladinu
BDI	Beckova škála deprese
BMI	Body mass index
CRH	kortikoliberin (cortisol releasing hormon)
DEX/CRH test	dexametazon inhibiční-CRH stimulační test
ESS	Epworthská škála spavosti
FPG	hladina glukózy nalačno (fasting plasma glucose)
FPI	hladina inzulinu nalačno
HAMA	Hamiltonova škála úzkosti
HAMD	Hamiltonova škála deprese
HOMA-IR	homeostatický model ke zhodnocení inzulinové rezistence

ICSD	Mezinárodní klasifikace poruch spánku, 2.vydání (International classification of sleep disorders)
ISI	inzulinová senzitivita
OGTT	test orální glukózové tolerance
OSA	obstrukční spánková apnoe
PAR	adrenokortikální odpověď na ACTH dle poměru hormonů hypofýzy/nadledviny (pituitary adrenal ratio- PAR):
PLMI	index PLM-počet periodických pohybů končetinami za hodinu spánku
PLMS	periodické pohyby ve spánku (periodic limb movement in sleep)
PSQI	Pittsburgská škála kvality spánku
RLS	syndrom neklidných nohou
sTNF-R	solubilní tumor necrosis factor receptor
TNF- α	Tumor necrosis factor
2h-PG	plazmatická hladina glukózy v testu OGTT po 2 hodinách
2h-PI	plazmatická hladina inzulínu v testu OGTT po 2 hodinách

PŘÍLOHA Č. 1

Hypothalamo-pituitary-adrenal axis, glucose metabolism and TNF- α in narcolepsy

Hypothalamo–pituitary–adrenal axis, glucose metabolism and TNF- α in narcolepsy

ESZTER MAUROVICH-HORVAT^{1,2,3}, MARIETTA KECKEIS^{2,3}, ZUZANA LATTOVÁ^{2,3}, DAVID KEMLINK¹, THOMAS-CHRISTIAN WETTER^{3,*}, ANDREAS SCHULD², KAREL SONKA¹ and THOMAS POLLMÄCHER^{2,3}

¹Department of Neurology and Center of Clinical Neuroscience, First Faculty of Medicine and General University Hospital, Charles University, Prague, Czech Republic, ²Centre of Mental Health, Klinikum Ingolstadt, Ingolstadt, Germany, ³Max Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany

Keywords

cytokines, glucose, immune system, metabolism, stress system

Correspondence

Thomas Pollmächer, Centre of Mental Health, Klinikum Ingolstadt, Krumenauerstraße 25, 85049 Ingolstadt, Germany.
Tel.: 0049 841 8 80-22 00;
fax: 0049-841-880-2209;
e-mail: thomas.pollmaecher@klinikum-ingolstadt.de

*Present address: Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Regensburg, Regensburg, Germany

Accepted in revised form 18 January 2014;
received 12 May 2013

DOI: 10.1111/jsr.12138

SUMMARY

Narcolepsy with cataplexy is caused by a deficiency in the production of hypocretin/orexin, which regulates sleep and wakefulness, and also influences appetite, neuroendocrine functions and metabolism. In this case–control study, 11 patients with narcolepsy with cataplexy and 11 healthy adults underwent an oral glucose tolerance test, and dexamethasone suppression/corticotropin-releasing hormone stimulation test. The average age of patients and controls was 35.1 ± 13.2 and 41.0 ± 2.9 years, respectively, body mass index was 28.1 ± 6.6 and 25.5 ± 4.7 kg m⁻². We did not find evidence of a significantly increased prevalence of disturbed glucose tolerance in patients with narcolepsy. After hypothalamo–pituitary–adrenal axis suppression, the number of non-suppressors did not differ between the groups, indicating normal negative feedback sensitivity. The level of cortisol after dexamethasone suppression was significantly lower in patients with narcolepsy, suggesting a slight basal downregulation and/or a slightly increased negative feedback sensitivity of the major endocrine stress system in narcolepsy. Following corticotropin-releasing hormone stimulation, there were no significant differences in levels of adrenocorticotrophic hormone or cortisol, and in adrenocortical responsivity to adrenocorticotrophic hormone. Finally, patients with narcolepsy displayed significantly higher plasma levels of tumour necrosis factor alpha, soluble tumour necrosis factor receptor p55, soluble tumour necrosis factor receptor p75 and interleukin 6 after adjustment for body mass index. The present study confirms that narcolepsy by itself is not associated with disturbances of glucose metabolism, but goes along with a subtle dysregulation of inflammatory cytokine production. We also found that dynamic hypothalamo–pituitary–adrenal system response is not altered, whereas negative feedback to dexamethasone might be slightly enhanced.

INTRODUCTION

Narcolepsy is a rare, chronic sleep disorder characterized by excessive daytime sleepiness, cataplexy, hypnagogic hallucinations and sleep paralysis. Low cerebral spinal fluid hypocretin/orexin levels, caused by selective loss of hypocretin-producing neurons in the prefrontal hypothalamus, due to possible autoimmune mechanisms, are reported in

95% of patients with narcolepsy with cataplexy (NC) (Baumann and Bassetti, 2005).

In addition to their crucial role as regulators of sleep and wakefulness, hypocretin neurons have been shown to play an important role in energy homeostasis. For example, hypocretins increase food intake, and are involved in glucose metabolism and insulin sensitivity. Furthermore, they have a stimulatory role on the major stress system and can activate

the hypothalamo–pituitary–adrenal (HPA) axis (Spinazzi *et al.*, 2006). Clinically, patients with narcolepsy show an increased rate of endocrine and metabolic disorders even prior to diagnosis (Jennum *et al.*, 2013).

Therefore, narcolepsy is likely to be a complex neuroendocrine disorder. Indeed, patients with narcolepsy are obese, show obesity-dependent disturbances in glucose metabolism (Beitinger *et al.*, 2012; Poli *et al.*, 2009) and have been reported to be at increased risk of diabetes (Honda *et al.*, 1986). Moreover, abnormalities in numerous endocrine variables have been described, although the respective studies are somewhat inconsistent (Pollmächer *et al.*, 2011) and subtle abnormalities in systemic immune parameters have been found, mainly changes in the levels of inflammatory cytokines. In particular, the systemic levels of tumour necrosis factor alpha (TNF- α) or its soluble receptors (sTNFR p55 and p75) have been found to be increased (Himmerich *et al.*, 2006; Okun *et al.*, 2004; Vgontzas *et al.*, 1997). Inflammatory cytokines, such as TNF- α or interleukin 6 (IL-6), play a key role in linking the immune system to endocrine and metabolic networks. TNF- α , for example, contributes to insulin resistance, and impaired glucose tolerance in inflammatory states and obesity (Nieto-Vazquez *et al.*, 2008) and, like IL-6, is a potent activator of the HPA system (Straub *et al.*, 2011). In turn, cortisol, the major effector hormone of the HPA system, is a potent suppressor of the release of TNF- α and IL-6 (Beishuizen and Thijis, 2003), suggesting an intimate bidirectional interaction between the immune and HPA systems.

Few studies have investigated the HPA system in narcolepsy (for an overview, see Pollmächer *et al.*, 2011), and only one study found an abnormality: Kok *et al.* (2002) reported a 60% reduction in basal secretion of adrenocorticotrophic hormone (ACTH), whereas pulsatile ACTH release, basal and pulsatile secretion of cortisol and plasma cortisol levels were not different between groups. Kok *et al.* (2002) suggested a disruption in the secretory dynamics of the ACTH/cortisol ensemble. No study as yet has tested the responsiveness of the HPA system to stimulation in patients with narcolepsy.

One specific approach to dynamically test HPA system activity is the dexamethasone suppression/corticotropin-releasing hormone stimulation test (DEX/CRH test; Heuser *et al.*, 1994). The DEX/CRH test was developed to study neuroendocrine abnormalities in psychiatric disorders. This test has been shown to be sensitive in documenting HPA system overactivity in affective disorders and diminished activity in post-traumatic stress disease (Heuser *et al.*, 1994; Yehuda, 2009). So far, the DEX/CRH test has been applied in various sleep disorders. Patients with obstructive sleep apnea syndrome, primary insomnia and restless legs syndrome were tested, but none of the groups showed abnormalities in the ACTH or cortisol responses to CRH after HPA system suppression by DEX (Lattova *et al.*, 2011).

The particular pathophysiology of narcolepsy calls for more specific studies on the interaction between endocrine,

metabolic and immunological networks. Hence, we applied the DEX/CRH test in patients with narcolepsy and matched controls to assess the dynamic function of the HPA system. In addition, we studied glucose metabolism using an oral glucose tolerance test (OGTT) and, finally, we measured TNF- α , sTNFR and IL-6 levels in plasma as inflammatory markers.

MATERIALS AND METHODS

Participants

Eleven patients with NC and 11 healthy controls participated in the study. Consecutive patients from the Sleep Medicine Centre at the Department of Neurology of the First Faculty of Medicine in Prague were included if they fulfilled the inclusion criteria [diagnosis of NC according to the International Classification of Sleep Disorders criteria, HLA-DQB1*0602-positivity, no pharmacotherapy influencing the central nervous system except modafinil or methylphenidate, and no other sleep disorders]. Four patients regularly took modafinil, one methylphenidate, one levothyroxine and one oral contraceptives. Patients off medication controlled their symptoms by napping. With the exception of a patient who could only withdraw modafinil the day before the polysomnographic (PSG) recording, none of the participants had taken any stimulants for at least 1 week prior to the study. The 11 healthy controls (five males/six females) were recruited through advertisement in local newspapers. All subjects (including the patients) had normal findings on medical examination, and they did not suffer from any psychiatric disorders. Pregnant women, shift workers and persons who had travelled across multiple time zones within 3 months prior to the study were excluded. Subjects exhibiting sleep disorders (except NC in the patient group) or known metabolic disorders including diabetes were excluded by standard blood tests. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Bavarian Medical Council Munich, and the Ethics Committee of the General University Hospital in Prague. All patients and control subjects gave written informed consent to take part in the study.

Procedure and measurements

Patients with narcolepsy and healthy controls underwent the same study protocol. First, the participants completed a detailed check-up, including a physical examination, anthropometric measurements, a survey of sleep history, and a detailed medical and psychiatric interview including the Beck Depression Inventory (BDI) (Beck *et al.*, 1961), Hamilton Depression Scale (HAMD) (Hamilton, 1960) and Hamilton Anxiety Scale (HAMA) (Hamilton, 1959). In addition, sleep quality was evaluated by means of the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) (Buysse *et al.*, 1989) and daytime sleepiness using the Epworth Sleepiness Scale (ESS) (Johns, 1991). To verify regular sleep–wake patterns, participants in the control group were asked to wear a wrist activity

monitor (Cambridge Neurotechnology, Cambridge, UK; Actiwatch Activity Analysis, Version 5.06) for 8 days prior to the study. To rule out other sleep disorders in all patients, standard nocturnal diagnostic PSG was conducted for one night from 23:00 to 06:00 hours, including monitoring of the electroencephalogram (C4-A1 and C3-A2), electrooculogram, submental electromyogram (EMG), the right and left anterior tibialis surface EMG, electrocardiogram, thoracic and abdominal movements, nasal airflow, finger oximetry and video monitoring. After the first night in the sleep laboratory, subjects underwent a 4-h OGTT. All OGTTs were started at 08:00 hours after an overnight fast. Fasting samples were taken at baseline to assess glucose, insulin, TNF- α , sTNFR p55, sTNFR p75 and IL-6. After an oral standard load of 75 g glucose, blood samples were taken at 30, 60, 120, 180 and 240 min. The prolonged OGTT protocol was adapted from an earlier study of Beutinger and colleagues in patients with narcolepsy to also ascertain potential postprandial hypoglycaemia (Beutinger *et al.*, 2012). Glucose was immediately measured using the glucose oxidase method.

According to the diagnostic criteria of the American Diabetes Association (2003), we defined normal glucose tolerance as 2-h plasma glucose (2 h-PG) concentrations (2 h after an oral glucose challenge) <140 mg dL $^{-1}$; impaired glucose tolerance was defined as 2 h-PG values ≥ 140 mg dL $^{-1}$ and diabetes as 2 h-PG ≥ 200 mg dL $^{-1}$. The total areas under the curve for glucose (AUCg) and insulin (AUCi) were calculated using the linear trapezoidal rule (Wolever and Jenkins, 1986). Insulin resistance was assessed using the homeostasis model assessment (HOMA-IR) originally described by Matthews *et al.* (1985). HOMA-IR was calculated using the following equation: $\text{HOMA-IR} = (\text{mg dL}^{-1} \times \mu\text{U mL}^{-1}) = \text{fasting plasma glucose (FPG; mg dL}^{-1}) \times \text{fasting plasma insulin (FPI; } \mu\text{U mL}^{-1})/405$. To encompass both hepatic and peripheral insulin sensitivity, we calculated a composite measure of whole body insulin sensitivity (ISIcomposite) recommended by Matsuda and DeFronzo (1999); ISIcomposite was calculated using the following formula: $\text{ISIcomposite} = 10\,000/\sqrt{[(\text{FPG} \times \text{FPI}) \times (\text{mean OGTT glucose} \times \text{mean OGTT insulin})]}$.

The plasma for measuring IL-6, sTNFR p55 and sTNFR p75 concentrations was stabilized with sodium ethylenediaminetetraacetic acid (1 mg mL $^{-1}$) and aprotinin (300 kIU mL $^{-1}$), and immediately centrifuged and stored at -20 °C until analysis in the Max-Planck Institute of Psychiatry (MPI), Munich. IL-6 plasma concentration was analysed using a high-sensitivity assay (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) with intra- and inter-assay coefficients of variation below 8%. TNF- α , sTNFR p55 and sTNFR p75 plasma concentrations were measured using commercial enzyme-linked immunosorbent assays (Biosource, Brussels, Belgium). For all these assays, the intra- and inter-assay coefficients of variation were below 7 and 9%, respectively. The second day after the PSG night, subjects underwent the DEX/CRH test. At 23:00 hours, subjects received 1.5 mg DEX (Zentiva, Prague, Czech Republic). On the

following day, at 15:02 hours, 100 μg human CRH (hCRH; Ferring, Kiel, Germany) reconstituted in 1 mL 0.02% HCl in 0.9% saline solution was infused within 30 s. After hCRH infusion, four blood samples were taken at 15:30, 15:45, 16:00 and 16:15 hours. Between sampling, the tubing was kept patent by saline infusion at a rate of 50 mL h $^{-1}$, and samples were immediately centrifuged and stored at -20 °C until analysis in the MPI. Cortisol plasma concentrations were analysed using a radioimmunoassay kit with a coated tube technique (DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany), the intra- and inter-assay coefficients of variation were 5 and 8%, respectively. For ACTH measurements, a dual-antibody immunoradiometric assay without extraction was used (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland), the intra- and inter-assay coefficients of variation were 3 and 6%, respectively. The baseline sample, which represents the suppressive effects of DEX, was drawn at 15:00 hours. It was used to identify non-suppressors, defined as subjects showing cortisol levels ≥ 40 ng mL $^{-1}$. Following hCRH infusion, cortisol and ACTH responses were calculated as the area under the time course curve (AUC) using the trapezoidal rule (Wolever and Jenkins, 1986). They are reported as AUCtotal (not baseline-corrected) and AUCnet (baseline-corrected). The maximal hormone response after CRH administration is reported as a peak value, and when corrected for baseline it is reported as delta. Finally, adrenocortical responsivity to ACTH is assessed by calculating two pituitary–adrenal ratios (PAR; AUCtotal ACTH/AUCtotal cortisol values and AUCnet ACTH/AUCnet cortisol values).

Statistical analyses

Statistical analysis was performed using Statistica (Version 10, StatSoft, Hamburg, Germany), STATISTICA (data analysis software system). Normality was tested using the Shapiro–Wilks *W*-test. Intergroup comparisons for non-normally distributed parameters (HOMA, ESS, PSQI, BDI, HAMA and HAMD) were carried out by the Mann–Whitney *U*-test, and all others either by non-paired Student's *t*-test or by ANCOVA, using body mass index (BMI) as covariate.

RESULTS

Table 1 displays the characteristics of the patients and the controls. Except for increased sleepiness, which was restricted to patients with narcolepsy, there were no differences between the groups, neither in insomnia ratings nor in psychopathology. Table 2 shows the PSG data of the NC group.

Oral glucose tolerance test data (Table 3) indicated that two patients with narcolepsy and one control subject had impaired glucose tolerance. We did not find any significant differences between the two groups after adjustment for BMI.

Dexamethasone/CRH data (Tables 4 and 5) showed no statistical significant differences in the number of suppressors

Table 1 Characteristics of patients with narcolepsy and control subjects

	Narcolepsy	Control	P-value
Females/males	6/5	6/5	
Age (years)	35.1 ± 13.2	41.0 ± 2.9	0.172
BMI (kg m ⁻²)	28.1 ± 6.6	25.5 ± 4.7	0.190
ESS	17.3 ± 4.3	6.6 ± 2.8	0.000
Waist-hip ratio	0.8 ± 0.9	0.86 ± 0.1	0.645
PSQI	4.5 ± 2.1	3.1 ± 2.1	0.138
BDI	3.6 ± 4.2	2.3 ± 2.2	0.356
HAMA	0.7 ± 2.1	1.3 ± 1.5	0.432
HAMD	0.4 ± 0.7	0.4 ± 0.7	0.852

BDI, Beck Depression Inventory; BMI, body mass index; ESS, Epworth Sleepiness Scale; HAMA, Hamilton Anxiety Scale; HAMD, Hamilton Depression Scale; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index.

Table 2 Sleep parameters of patients with narcolepsy (N = 11)

	Narcolepsy
Total sleep time (min)	430.8 ± 40.6
Sleep efficiency (%)	93.3 ± 4.3
Wake after sleep onset (min)	31.5 ± 21.3
Rapid eye movement (min)	87.2 ± 28.0
Stage 1 (min)	36.0 ± 12.4
Stage 2 (min)	229.1 ± 30.5
Stages 3 ± 4 (min)	78.4 ± 33.6
Sleep-onset latency (min)	4.1 ± 2.4
Rapid eye movement latency (min)	46.4 ± 50.9
Apnea-hypopnoea index (h ⁻¹)	1.4 ± 2.2
Periodic leg movement index (h ⁻¹)	13.0 ± 15.0

Sleep efficiency: total sleep time/sleep period time.

Table 3 Results of the OGTT (mean ± SD)

	Narcolepsy	Control	P-value
Normal glucose tolerance (n)	9	10	
Impaired glucose tolerance (n)	2	1	
FPG (mg dL ⁻¹)	90 ± 16.5	96.0 ± 8.0	0.320
FPI (μL mL ⁻¹)	13.4 ± 2.7	9.9 ± 4.9	0.078
2 h-PG (mg dL ⁻¹)	115.9 ± 30.1	114.3 ± 18.1	0.485
2 h-PI (μL mL ⁻¹)	56.2 ± 34.5	44.6 ± 41.7	0.478
AUCg (mg dL ⁻¹)	25837 ± 5140	25612 ± 2833	0.900
AUCi (μL mL ⁻¹)	10691 ± 4757	8737 ± 6849	0.446
HOMA1-IR	3.1 ± 1.1	2.3 ± 1.2	0.147
ISIcomposite	5.0 ± 1.9	6.8 ± 2.6	0.069

Statistical comparison was performed using ANCOVA. Normal glucose tolerance: 2 h-PG ≤ 140 mg dL⁻¹; impaired glucose tolerance: 2 h-PG > 140 mg dL⁻¹. 2 h-PG, 2-h plasma glucose; 2 h-PI, 2-h plasma insulin; AUCg, area under the curve for glucose; AUCi, area under the curve for insulin; FPG, fasting plasma glucose; FPI, fasting plasma insulin; HOMA1-IR, Homeostasis model assessment-1 of insulin resistance; ISIcomposite, insulin sensitivity index composite.

Table 4 Cortisol values obtained by the DEX/CRH test

	Narcolepsy	Control	P-value
Basal (ng mL ⁻¹)	10.6 ± 8.0	22.2 ± 15.8	0.039
Peak (ng mL ⁻¹)	66.4 ± 65.0	87.0 ± 87.6	0.531
Delta (ng mL ⁻¹)	55.8 ± 60.7	64.8 ± 76.0	0.759
AUCtotal (ng mL ⁻¹)	3091 ± 3203	4324 ± 4722	0.476
AUCnet (ng mL ⁻¹)	2299 ± 2901	2658 ± 3797	0.803
PARtotal (ng mL ⁻¹)	0.5 ± 0.3	0.3 ± 0.1	0.093
PARnet (ng mL ⁻¹)	-0.1 ± 3.4	-0.3 ± 0.8	0.840

AUCnet, baseline-corrected area under curve; AUCtotal, area under curve; basal, basal cortisol concentration after DEX; delta, baseline corrected peak value; PARnet, baseline-corrected pituitary-adrenal ratio; PARtotal, pituitary-adrenal ratio; peak, highest cortisol value after CRH.

Table 5 ACTH values in DEX/CRH test

	Narcolepsy	Control	P-value
Basal (pg mL ⁻¹)	1.4 ± 1.3	3.2 ± 3.6	0.131
Peak (pg mL ⁻¹)	20.2 ± 20.5	16.0 ± 13.4	0.559
Delta (pg mL ⁻¹)	18.9 ± 19.6	13.9 ± 10.6	0.474
AUCtotal (pg mL ⁻¹)	907.2 ± 808.0	858.9 ± 682.7	0.878
AUCnet (pg mL ⁻¹)	802.6 ± 745.6	649.9 ± 485.1	0.575

AUCnet, baseline-corrected area under curve; AUCtotal, area under curve; basal, basal ACTH concentration after DEX; delta, baseline-corrected peak value; peak, highest ACTH value after CRH.

(basal cortisol value <40 ng mL⁻¹) and non-suppressors (basal cortisol levels ≥40 ng mL⁻¹).

The levels of cortisol, but not those of ACTH after HPA axis suppression by dexamethasone were significantly lower in narcoleptic patients compared to healthy controls. The amounts of cortisol and ACTH released after the hCRH challenge were similar in both groups. Furthermore we did not find any significant differences between the two groups in the values of peak-, delta-, AUCtotal and AUCnet levels in cortisol and ACTH release.

Patients suffering from NC had significantly increased levels of TNF-α, sTNFR p55, sTNFR p75 and IL-6 after adjustment for BMI (Table 6).

DISCUSSION

The present study is the first one to compare patients with NC with healthy controls with respect to glucose metabolism, the secretory dynamics of the HPA axis and circulating cytokine levels. We choose this broad experimental approach because glucose metabolism, the stress hormone system and cytokine production are tightly connected, and because increasing evidence reveals narcolepsy to be a complex neuroendocrine disorder (Pollmächer *et al.*, 2011).

Table 6 Immune parameters

	Narcolepsy	Control	P-value
TNF- α (pg mL ⁻¹)	1.1 \pm 0.2	0.7 \pm 0.4	0.019
sTNFR p55 (ng mL ⁻¹)	1.7 \pm 0.3	1.3 \pm 0.2	0.010
sTNFR p75 (ng mL ⁻¹)	3.0 \pm 0.7	2.0 \pm 0.4	0.001
IL-6 (pg mL ⁻¹)	1.9 \pm 1.1	1.0 \pm 0.9	0.009

IL-6, interleukin-6; sTNFR p55, soluble tumour necrosis factor receptor p55; sTNFR p75, soluble tumour necrosis factor receptor p75; TNF- α , tumour necrosis factor alpha.

We did not find any significant differences between patients with narcolepsy and controls according to standard measurements of the OGTT. These results are in line with OGTT data from Beitinger *et al.* (2012) and data on insulin sensitivity from Engel *et al.* (2011), suggesting that narcolepsy is not directly associated with disturbances of glucose metabolism. In these studies and in ours, patients with narcolepsy and controls were matched for BMI. In contrast to our study, Honda *et al.* (1986) reported a significantly increased frequency of diabetes mellitus in patients with narcolepsy. As there were no differences in obesity indices of diabetic and non-diabetic patients, they concluded that diabetes mellitus could not be attributed to obesity.

Compared with healthy controls, we found significantly lower basal cortisol levels in patients with narcolepsy after DEX suppression and before the CRH challenge, but there was no difference between the two groups in the ACTH or cortisol responses to CRH. This finding, in line with the study of Kok *et al.* (2002), suggests a slight basal downregulation and/or slightly increased negative feedback sensitivity of the major endocrine stress system in narcolepsy. Whether this subtle finding will be replicable and of clinical significance must be shown by further studies.

The dynamic response of the HPA system, investigated here for the first time in narcolepsy, was not different from controls, indicating that the response of the major endocrine stress system to stimulation is not altered in these patients. Previous studies in various sleep disorders also indicated normal responses of the HPA system to CRH stimulation in restless legs syndrome, sleep apnea syndrome and primary insomnia (Lattova *et al.*, 2011). On the other hand, Hori *et al.* (2011) found increased cortisol release during the DEX/CRH test in subjects complaining about disturbed sleep assessed with the PSQI. In these subjects – in contrast to the present study and that by Lattova *et al.* (2011), depression was not systematically excluded, suggesting that mood (closely linked to disturbed sleep) might have been a major confounder.

In the present study, we found higher levels of TNF- α , sTNFR p55, sTNFR p75 and IL-6 in patients with narcolepsy compared with healthy controls. Regarding TNF- α and IL-6, our data are consistent with previous findings by Okun *et al.* (2004) and Vgontzas *et al.* (1997). However, two other studies (Himmerich *et al.*, 2006; Hinze-Selch *et al.*, 1998)

found no significant increases in TNF- α . Himmerich *et al.* (2006) found increased sTNFR p75 levels in narcolepsy, but sTNFR p55 levels were not increased. The most likely reasons for these inconsistencies between the studies are the very subtle changes reported and the low numbers of patients investigated. Hence, every single study has quite low power to detect alterations in cytokine secretion. Taken together, the available studies including the present one indicate a subtle activation of the inflammatory cytokine systems in narcolepsy. The underlying causes can not be unravelled by clinical studies, but some tentative conclusions can be drawn. TNF- α , TNFRs and IL-6 levels are increased in obese subjects (Gustafson, 2010). This, however, may not explain the present findings because we controlled for BMI. HPA system activation, in particular cortisol, may both suppress and stimulate cytokine secretion (Straub *et al.*, 2011). Hence, the subtle baseline reduction in cortisol levels we found might slightly disinhibit production of inflammatory cytokines. Subtle changes in the set-point of cytokine secretion, particularly of TNF- α , may also be related to polymorphisms of the TNF promoter, which have been found in narcolepsy (Wieczorek *et al.*, 2003). It is quite unlikely, but remains to be studied, that subtle increases in circulating cytokine and cytokine receptor levels in narcolepsy reflect the supposed underlying causative immunological process (Fontana *et al.*, 2010). To address this scientifically, patients should be studied longitudinally from close to disease onset.

In conclusion, the present study confirms that NC is not associated by an obesity-independent disturbance of glucose metabolism. Alterations of the dynamic responsiveness of the HPA system seem to be very subtle, as are the increases in circulating inflammatory cytokines as markers of immune activation. This suggests that the complete loss of functional orexin might be well compensated in patients with NC in terms of neuroendocrine and metabolic control, if obesity is controlled for.

The findings reported here should be interpreted in the context of a number of limitations, such as the small sample size, and the slight albeit not significant difference in BMI between groups, which was controlled for statistically. Further, we did not collect data on the menstrual cycles of the female participants, which may have affected HPA axis function (Magiakou *et al.*, 1997). Although we did not measure cerebrospinal fluid hypocretin level in the present patients, hypocretin deficiency is very likely because all patients showed cataplexy and were HLA DQB1*0602-positive, and this combination of features predicted hypocretin deficiency in a very large study by 100% (Mignot *et al.*, 2002).

CONCLUSION

The present study confirms that narcolepsy by itself is not associated with disturbances of glucose metabolism, but goes along with a subtle dysregulation of inflammatory cytokine production. We also found that dynamic HPA

system response is not altered, whereas negative feedback to DEX might be slightly enhanced.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Gabi Kohl from the Max-Planck Institute of Psychiatry for conducting the hormonal assays, the patients and volunteers for their participation, the staff of the Centre of Sleep and Wake Disorders of the Department of Neurology of the First Faculty of Medicine and General University Hospital in Prague, and the staff of the Centre of Mental Health of the Klinikum Ingolstadt for assistance. This study was supported by grant from the Czech Ministry of Health NT 13238-4/2012, PRVOUK-P26/LF1/4, and from the European Union Framework 6 (MCRTN-CT-2004-512362).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

EMH and TP designed the study, managed the literature searches and data collection, provided the statistical analysis, data interpretation, and edited the manuscript. MK and ZL designed the study, contributed to literature searches and data collection. DK managed the data collection and statistical analysis. TW, AS and KS were involved in data collection, data interpretation and editing the manuscript.

CONFLICT OF INTEREST

No conflicts of interest declared.

REFERENCES

American Diabetes Association and The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2003, 26: 3160–3167.

Baumann, C. R. and Bassetti, C. L. Hypocretins (orexins): clinical impact of the discovery of a neurotransmitter. *Sleep Med. Rev.*, 2005, 9: 253–268.

Beck, A. T., Ward, C. H., Mendelson, M., Mock, J. and Erbaugh, J. An inventory for measuring depression. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1961, 4: 561–571.

Beishuizen, A. and Thijss, L. G. Endotoxin and the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *J. Endotoxin Res.*, 2003, 9: 3–24.

Beitinger, P. A., Fulda, S., Dalal, M. A. *et al.* Glucose tolerance in patients with narcolepsy. *Sleep*, 2012, 35: 231–236.

Buysse, D. J., Reynolds, C. F., Monk, T. H., Berman, S. R. and Kupfer, D. J. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.*, 1989, 28: 193–213.

Engel, A., Helfrich, J., Manderscheid, N. *et al.* Investigation of insulin resistance in narcoleptic patients: dependent or independent of body mass index? *Neuropsych. Dis. Treat.*, 2011, 7: 351–356.

Fontana, A., Gast, H., Reith, W., Recher, M., Birchler, T. and Bassetti, C. L. Narcolepsy: autoimmunity, effector T cell activation due to infection, or T cell independent, major histocompatibility complex class II induced neuronal loss? *Brain*, 2010, 133: 1300–1311.

Gustafson, B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J. Atheroscler. Thromb.*, 2010, 17: 332–341.

Hamilton, M. The assessment of anxiety states by rating. *Br. J. Med. Psychol.*, 1959, 32: 50–55.

Hamilton, M. A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1960, 23: 56–62.

Heuser, I., Yassouridis, A. and Holsboer, F. The combined dexamethasone/CRH test: a refined laboratory test for psychiatric disorders. *J. Psychiatr. Res.*, 1994, 28: 341–356.

Himmerich, H., Beitinger, P. A., Fulda, S. *et al.* Plasma levels of tumor necrosis factor alpha and soluble tumor necrosis factor receptors in patients with narcolepsy. *Arch. Int. Med.*, 2006, 166: 1739–1743.

Hinze-Selch, D., Wetter, T. C., Zhang, Y. *et al.* In vivo and in vitro immune variables in patients with narcolepsy and HLA-DR2 matched controls. *Neurology*, 1998, 50: 1149–1152.

Honda, Y., Doi, Y., Ninomiya, R. and Ninomiya, C. Increased frequency of non-insulin-dependent diabetes mellitus among narcoleptic patients. *Sleep*, 1986, 9: 254–259.

Hori, H., Teraishi, T., Sasayama, D. *et al.* Poor sleep is associated with exaggerated cortisol response to the combined dexamethasone/CRH test in a non-clinical population. *J. Psychiatr. Res.*, 2011, 45: 1257–1263.

Jennum, P., Ibsen, R., Knudsen, S. and Kjellberg, J. Comorbidity and mortality of narcolepsy: a controlled retro- and prospective national study. *Sleep*, 2013, 36: 835–840.

Johns, M. W. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep*, 1991, 14: 540–545.

Kok, S. W., Roelfsema, F., Overeem, S. *et al.* Dynamics of the pituitary-adrenal ensemble in hypocretin-deficient narcoleptic humans: blunted basal adrenocorticotropin release and evidence for normal time-keeping by the master pacemaker. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87: 5085–5091.

Lattova, Z., Keckeis, M., Maurovich-Horvat, E. *et al.* The stress hormone system in various sleep disorders. *J. Psychiatr. Res.*, 2011, 45: 1223–1228.

Magiakou, M. A., Mastorakos, G., Webster, E. and Chrousos, G. P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1997, 816: 42–56.

Matsuda, M. and DeFronzo, R. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing. *Diabetes Care*, 1999, 22: 1462–1470.

Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F. and Turner, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 1985, 28: 412–419.

Mignot, E., Lammers, G. J., Ripley, B. *et al.* The role of cerebrospinal fluid hypocretin measurement in the diagnosis of narcolepsy and other hypersomnias. *Arch. Neurol.*, 2002, 59: 1553–1562.

Nieto-Vazquez, I., Fernandez-Veledo, S., Kramer, D. K., Vila-Bedmar, R., Garcia-Guerra, L. and Lorenzo, M. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch. Physiol. Biochem.*, 2008, 114: 183–194.

Okun, M. L., Giese, S., Lin, L., Eigen, M., Mignot, E. and Cousins-Read, M. E. Exploring the cytokine and endocrine involvement in narcolepsy. *Brain Behav. Immun.*, 2004, 18: 326–332.

Poli, F., Plaza, G., Di Dalasi, G. *et al.* Body mass index-independent metabolic alterations in narcolepsy with cataplexy. *Sleep*, 2009, 32: 1491–1497.

Pollmächer, T., Keckeis, M. and Schuld, A. Endocrine abnormalities in narcolepsy. In: C. R. Baumann and T. E. Scammell (Eds) *Narcolepsy. Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment*. Springer, New York, 2011: 217–225.

Spinazzi, R., Andreis, P. G., Rossi, G. P. and Nussdorfer, G. G. Orexins in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Pharmacol. Rev.*, 2006, 58: 46–57.

- Straub, R. H., Buttgereit, F. and Cutolo, M. Alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in systemic immune diseases – a role for misguided energy regulation. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2011, 29: S23–S31.
- Vgontzas, A. N., Papanicolaou, D. A., Bixler, E. O., Kales, A., Tyson, K. and Chrousos, G. P. Elevation of plasma cytokines in disorders of excessive daytime sleepiness: role of sleep disturbance and obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82: 1313–1316.
- Wieczorek, S., Gencik, M., Rujescu, D. *et al.* TNFA promoter polymorphisms and narcolepsy. *Tissue Antigens*, 2003, 61: 437–442.
- Wolever, T. M. and Jenkins, D. J. The use of the glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1986, 43: 167–172.
- Yehuda, R. Status of glucocorticoid alterations in post-traumatic stress disorder. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2009, 1179: 56–69.

PŘÍLOHA Č. 2

Impaired glucose tolerance in sleep disorders

Impaired Glucose Tolerance in Sleep Disorders

Marietta Keckeis^{1,2}, Zuzana Lattova^{1,2}, Eszter Maurovich-Horvat^{1,2}, Pierre A. Beitinger¹, Steffen Birkmann², Christoph J. Lauer², Thomas C. Wetter¹, Johanna Wilde-Frenz², Thomas Pollmächer^{1,2*}

1 Max Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany, **2** Klinikum Ingolstadt, Centre of Mental Health, Ingolstadt, Germany

Abstract

Background: Recent epidemiological and experimental data suggest a negative influence of shortened or disturbed night sleep on glucose tolerance. Due to the high prevalence of sleep disorders this might be a major health issue. However, no comparative studies of carbohydrate metabolism have been conducted in clinical sleep disorders.

Methodology/Principal Findings: We performed oral glucose tolerance tests (OGTT) and assessed additional parameters of carbohydrate metabolism in patients suffering from obstructive sleep apnea syndrome (OSAS, N=25), restless legs syndrome (RLS, N=18) or primary insomnia (N=21), and in healthy controls (N=33). Compared to controls, increased rates of impaired glucose tolerance were found in OSAS (OR: 4.9) and RLS (OR: 4.7) patients, but not in primary insomnia patients (OR: 1.6). In addition, HbA1c values were significantly increased in the same two patient groups. Significant positive correlations were found between 2-h plasma glucose values measured during the OGTT and the apnea-arousal-index in OSAS ($r=0.56$; $p<0.05$) and the periodic leg movement-arousal-index in RLS ($r=0.56$, $p<0.05$), respectively. Sleep duration and other quantitative aspects of sleep were similar between patient groups.

Conclusions/Significance: Our findings suggest that some, but not all sleep disorders considerably compromise glucose metabolism. Repeated arousals during sleep might be a pivotal causative factor deserving further experimental investigations to reveal potential novel targets for the prevention of metabolic diseases.

Citation: Keckeis M, Lattova Z, Maurovich-Horvat E, Beitinger PA, Birkmann S, et al. (2010) Impaired Glucose Tolerance in Sleep Disorders. PLoS ONE 5(3): e9444. doi:10.1371/journal.pone.0009444

Editor: David Finkelstein, The Mental Health Research Institute of Victoria, Australia

Received: October 20, 2009; **Accepted:** February 7, 2010; **Published:** March 1, 2010

Copyright: © 2010 Keckeis et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This study was supported by the European Union Framework 6 (MCRN-CT-2004-512362). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: thomas.pollmaecher@klinikum-ingolstadt.de

Introduction

Obesity and diabetes are closely linked medical conditions, which, to a great extent, account for long-term morbidity and mortality worldwide [1,2]. According to recent epidemiological evidence, both obesity and diabetes are related to chronic short sleep duration [3]. In healthy people even short-term sleep restriction or experimentally induced disturbed sleep have been shown to impair glucose tolerance [4,5] indicating that sleep might be pivotal for metabolic homeostasis. However, very little is known about metabolic alterations in defined sleep disorders.

Tentative evidence suggests that the obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) might be a risk factor for diabetes regardless of concomitant obesity [6]. However, in OSAS it cannot be determined whether impaired glucose tolerance is due to repeated nocturnal oxygen desaturation or due to disturbed sleep per se. In narcolepsy, increased incidence of diabetes is a long-standing finding [7], but here obesity as a confounding variable has not been ruled out [8]. Obesity has also been reported to be associated to the restless legs syndrome [9] and a relationship between RLS, diabetes [10] and impaired glucose tolerance [11] has been reported. In contrast, no studies are available on body weight or diabetes in primary insomnia. Hence, it would be of particular importance to gather more information on metabolic alterations in different sleep disorders.

To this end, we compared aspects of carbohydrate metabolism between healthy controls and patients suffering from OSAS, primary insomnia, or the restless legs syndrome (RLS). Insomnia and RLS are both highly prevalent (>5% in the general population [12,13]) yet clearly distinct conditions of chronically disturbed sleep. Whereas primary insomnia is characterized by prominent subjective difficulties in initiating and maintaining sleep with only minor changes in objectively recorded sleep parameters [14], RLS is characterized by an impairment of sleep onset due to unpleasant feelings and an urge to move the limbs. In addition, periodic limb movements in sleep (PLMS) are typical of RLS and compromise sleep continuity to a similar extent as repeated apneic events in OSAS [15].

Methods

Participants

The study protocol was approved by the ethics committee of the Bavarian Medical Council, Munich, Germany. All subjects provided written informed consent prior to entering the study. Of 97 subjects investigated, 25 suffered from OSAS, 21 from primary insomnia, 18 from RLS and 33 were healthy controls. Subjects were recruited through advertisements in local newspapers. All subjects had normal findings on medical examination; they did not suffer from any psychiatric disorder and had a regular

sleep-wake cycle. Subjects showing a shift of more than 2 hours during 8 days of wrist actigraphy were excluded. Pregnant women, shift workers, and persons who had travelled across multiple time zones within 3 months prior to the study were excluded. Similarly, subjects exhibiting other sleep disorders or known metabolic disorders including diabetes were excluded. All subjects showed normal results in numerous blood tests including a complete haemogram, prothrombin clotting time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, aspartate aminotransferase (AST/GOT) and alanine aminotransferase (ALT/GPT), LDH, lipase, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, albumin, transferrin, ferritin, iron, CRP, TSH, T3, T4, and cortisol levels, potassium, sodium, calcium, chloride, magnesium, phosphate, and urine drug monitoring. All subjects showed normal EEG findings during waking.

RLS patients met the diagnostic criteria defined by the International Restless Legs Syndrome Study Group [16] and did not suffer from any severe somatic condition such as polyneuropathy or secondary RLS. The severity of RLS was assessed using the International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale (IRLS) [17]. In patients suffering from primary insomnia as well as in patients suffering from OSAS, diagnosis was based on the International Classification of Sleep Disorders [18]. OSAS patients with an apnea-hypopnea-index (AHI) above 15 (moderate sleep apnea) were included. Controls did not suffer from any sleep disturbances, and sleep related breathing disorder (AHI >5) was excluded by an ambulatory sleep apnea screening (Weinmann Somnocheck, Hamburg, Germany).

Procedure and Measurements

Subjects underwent a detailed check-up including a physical examination, anthropometric measurements, a survey of sleep history, waking EEG recordings, and a detailed medical and psychiatric interview. In addition, sleep quality was evaluated by means of the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) [19] and daytime sleepiness using the Epworth Sleepiness Scale (ESS) [20]. To verify regular sleep-wake patterns participants were asked to wear a wrist activity monitor (Cambridge Neurotechnology, Cambridge, UK; Actiwatch Activity Analysis, Version 5.06) for 8 days prior to the study. In all patients standard nocturnal polysomnography (PSG) was conducted for two nights. Polysomnographic (PSG) recordings were performed from 23:00 to 06:00 h including monitoring of the EEG (C4-A1 and C3-A2), electrooculogram, submental electromyogram (EMG), the right and left anterior tibialis surface EMG, electrocardiogram (EKG), thoracic and abdominal movements, nasal airflow, finger oximetry, and video monitoring. Sleep stages were scored according to Rechtschaffen and Kales [21]. Sleep stages 3 and 4 were summed up to slow-wave sleep (SWS). Arousals [22], PLMS [23], and apneas/hypopneas were scored and the number of both PLMS and apneas/hypopneas per hour of total sleep time (PLMS-index and AHI, respectively) calculated. Additionally, we calculated the number of both PLMS and apneas/hypopneas associated with arousals (PLMS-arousal-index and apnea-arousal-index, respectively). Sleep stages and associated parameters were scored by two experienced scorers in each individual.

After the first night in the sleep laboratory subjects underwent a 4-hour oral glucose tolerance test (OGTT). All OGTTs were performed at 08:00 a.m. after an overnight fast. Fasting samples to assess glucose, insulin, and HbA1c were taken at baseline. After an oral standard load of 75 g glucose, blood samples were taken at 30, 60, 120, 180 and 240 min. Glucose was immediately measured using the glucose oxidase method (Synchro DXC 800 1+2, Beckmann Coulter, USA) with an inter-assay coefficient of

Table 1. Baseline Characteristics of Study Participants.

	OSAS	RLS	INS	CON	P-value
Females/ Males	0/25 ‡ ∇	11/7	12/9	17/16	<0.001
Age (years)	52.3 (10.8)	52.2 (13.0)	49.1 (9.7)	46.8 (7.7)	>0.05
BMI (kg/m²)	32.9 (5.4) ‡	25.4 (3.7)	25.0 (4.8)	24.7 (3.5)	<0.001
PSQI	6.7 (2.8) ‡ ∇	9.3 (4.5) ‡ †	13.1 (3.7) ‡	3.0 (2.0)	<0.001
ESS	11.2 (5.6) ‡ □	7.9 (4.3)	6.4 (4.0)	6.8 (2.8)	<0.001

Data are mean (SD). Statistical comparison was done using Gabriel- or Games-Howell-corrected oneway ANOVA.

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls; BMI, Body mass index; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index; ESS, Epworth Sleepiness Scale.

* p<0.05, † p<0.01, ‡ p<0.001, vs controls.

‡ p<0.05, □ p<0.01, ∇ p<0.001, between groups.

OSAS: χ^2 (1)=18.21, p<0.001; RLS: χ^2 (1)=0.433, p>0.05; INS: χ^2 (1)=0.163, p>0.05, vs controls.

doi:10.1371/journal.pone.0009444.t001

variation (CV) of 1.0–2.2% (DXC1) and 1.4–2.2% (DXC2). Insulin samples were measured by using an ELISA (BioSource, Germany) with an inter-assay CV of 4.2%. HbA1c measurement was based on the assessment of total Hb using the colorimetric method, the A1c concentration was determined by means of the turbidimetric immuno-inhibition method (Synchro DXC 800 1, Beckmann Coulter, USA) with a inter-assay CV of 2.9–3.2%. Standardized to the NGSP reference range was set at 4.3–5.8%.

According to the diagnostic criteria of the American Diabetes Association [24] we defined normal glucose tolerance (NGT) as 2-hour plasma glucose (2h-PG) concentrations (2 h after an oral glucose challenge) <140 mg/dl; impaired glucose tolerance was defined as 2h-PG values \geq 140 and diabetes as 2h-PG \geq 200 mg/dl. The total areas under the curve for glucose (AUCg) and insulin (AUCi) were calculated using the linear trapezoidal rule [25]. The combination of elevated HbA1c values (>5.5%) and impaired fasting glucose values (FPG >100 mg/dl) was assessed as an additional risk factor for the development of type 2 diabetes, since several studies have shown that the combination of these parameters is a stronger predictor for the risk of developing type 2 diabetes than increased fasting glucose alone [26–29]. Insulin resistance was assessed using the homeostasis model assessment (HOMA-IR) originally described by Mathew et al. [30] HOMA-

Table 2. Frequency of Patients with Normal Glucose Tolerance or Impaired Glucose Tolerance.

	Total	Normal glucose tolerance	Impaired glucose tolerance	Odds ratio
	N	N (%)	N (%)	
OSAS	25	15 (60)	10 (40)	4.9
RLS	18	11 (61)	7 (39)	4.7
INS	17	14 (82)	3 (18)	1.6
CON	32	28 (88)	4 (12)	

Normal Glucose Tolerance: 2h-PG \leq 140 mg/dl; Impaired Glucose Tolerance: 2h-PG \geq 140 mg/dl.

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls.

χ^2 (3)=7.95, p<0.05.

doi:10.1371/journal.pone.0009444.t002

Table 3. Metabolic Parameters.

	OSAS	RLS	INS	CON	BMI-adjusted P-value
HbA1c (%)	5.6 (0.4) †	5.5 (0.3) †	5.3 (0.3)	5.2 (0.3)	<0.01
FPG (mg/dl)	110.9 (15.6)	100.4 (10.1)	98.8 (8.9)	96.0 (8.0)	>0.05
FPI (µl/ml)	16.2 (10.5)	8.7 (3.2)	10.3 (5.4)	8.9 (3.3)	>0.05
2h-PG (mg/dl)	139.0 (55.7)	121.1 (40.8)	120.2 (17.8)	109.5 (23.k5)	>0.05
2h-PI (µl/ml)	82.5 (67.3)	60.0 (67.8)	50.6 (21.3)	36.8 (29.2)	>0.05
AUCg (mg/dl)	31882 (7592)	28063 (5748)	28369 (3500)	25859 (4014)	>0.05
AUCi (µl/ml)	15024 (9396)	9873 (6921)	8437 (3588)	8307 (5258)	>0.05
HOMA1-IR	4.7 (3.8)	2.2 (1.0)	2.5 (1.3)	2.1 (0.9)	>0.05
ISIcomposite	3.1 (1.6)	6.3 (5.4)	5.1 (1.5)	5.5 (1.9)	>0.05

Data are mean (SD). Statistical comparison was done using ANCOVA.

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls; FPG= Fasting plasma glucose; FPI= Fasting plasma insulin; 2h-PG= 2h-Postload glucose; 2h-PI= 2h-Postload insulin; AUCg= Area under the curve for glucose; HOMA1-IR= Homeostasis model assessment-1 of insulin resistance; ISIcomposite= Insulin sensitivity index composite.

* p<0.05, † p<0.01, ‡ p<0.001.

doi:10.1371/journal.pone.0009444.t003

IR was calculated using the following equation: HOMA-IR (mg/dl × µU/ml) = FPG mg/dl × FPI µU/ml/405. To encompass both hepatic and peripheral insulin sensitivity we calculated a composite measure of whole body insulin sensitivity (ISIcomposite) recommended by Matsuda et al. [31] (ISIcomposite was calculated using the following formula: ISIcomposite = 10 000/√ ((FPG × FPI) × (mean OGTT glucose × mean OGTT insulin))).

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS for Windows 16.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). Using Gabriel- or Games-Howell-corrected analysis of variance (ANOVA) tests we compared the mean values of the basic characteristics age, BMI, PSQI and ESS among the four groups. Because of their skewed distribution, HbA1c, FPG, 2h-PG, fasting plasma insulin (FPI), the area under the curve for glucose (AUCg) and the area under the curve for insulin (AUCi) were z-transformed. On metabolic parameters analysis of covariance (ANCOVA) was conducted with the BMI as covariate.

A chi-square test was performed to compare the incidence of IGT and/or combined elevated HbA1c and FPG values between groups. After constructing 2×2 contingency tables odds ratios (OR) were calculated. First-order partial correlation and bivariate

correlation, respectively, were done to determine the association between continuous variables. P<0.05 was considered as statistically significant.

Table 5. Sleep Parameters.

	OSAS	RLS	INS	P-value
TIB (min)	437.5 (33.1)	449.2 (32.8)	435.7 (25.8)	>0.05
TST (min)	339.0 (58.7)	345.9 (69.5)	337.3 (55.6)	>0.05
SEI (%)	77.5 (11.8)	77.1 (14.6)	77.2 (10.8)	>0.05
WASO (min)	75.7 (42.8)	75.3 50.1)	61.0 (35.6)	>0.05
REM (min)	41.4 (18.5) ‡	73.0 (24.1)	70.8 (27.2)	<0.001
S1 (min)	92.2 (40.2) ‡	41.8 (20.0)	31.3 (14.5)	<0.001
S2 (min)	198.0 (47.9)	204.2 (47.9)	214.9 (39.5)	>0.05
SWS (min)	7.4 (9.5) †	26.9 (29.1)	20.4 (17.5)	<0.01
SO (min)	21.2 (20.9)	22.3 (33.2)	22.4 (19.6)	>0.05
SLREM (min)	137.7 (68.4) *	97.5 (72.8)	86.4 (46.9)	<0.05
SLSWS (min)	122.8 (104.9) *	67.9 (92.6)	37.3 (26.0)	<0.05
AHI	55.7 (27.1) ‡	3.3 (3.7)	1.6 (1.6)	<0.001
ODI	43.6 (29.7) ‡	1.9 (3.0)	1.4 (1.6)	<0.001
PLMS-Index	19.2 (20.4)	32.5 (33.1)	5.2 (7.2) †	<0.01
PLMS-arousal-index	12.8 (14.0)	14.8 (15.3)	2.8 (4.7) †	<0.01
Apnea-arousal-index	33.8 (25.6) ‡	0.8 (1.8)	0.3 (0.5)	<0.001

Data are mean (SD). Mean comparison was done using Gabriel- or Games-Howell-corrected oneway ANOVA.

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls; TIB, Time in bed; TST, Total sleep time; SEI, Sleep efficiency; WASO, Wake time after sleep onset; REM, Rapid eye movement sleep; S1, Stage 1 sleep; S2, Stage 2 sleep; SWS, Slow wave sleep; SO, Sleep onset latency; SLREM, REM sleep latency; SLSWS, SWS sleep latency; AHI, Apnea-hypopnea-index; ODI, Oxygen-desaturation-index; PLMS-Index, Periodic leg movements per hour of sleep; PLMS-arousal-index, PLMS associated with arousals per hour of sleep; Apnea-arousal-index, Apneas and/or hypopneas associated with arousals per hour.

* p<0.05, † p<0.01, ‡ p<0.001.

doi:10.1371/journal.pone.0009444.t005

Table 4. Frequency of Patients with Normal or Elevated HbA1c (≥5.5%) & FPG (≥100mg/dl).

	Total	Normal HbA1c&FPG	Elevated HbA1c&FPG	Odds ratio
	N	N (%)	N (%)	
OSAS	25	11 (44)	14(56)	20.0
RLS	17	11 (65)	6 (35)	8.5
INS	19	18 (95)	1 (5)	0.8
CON	33	31 (94)	2 (6)	

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls; FPG= Fasting plasma glucose.

χ² (3) = 25.31, p<0.001.

doi:10.1371/journal.pone.0009444.t004

Results

Table 1 shows the baseline characteristics for all subjects. Groups did not differ with respect to age. As expected, OSAS patients had a strongly increased BMI, whereas the BMI of RLS and insomnia patients did not differ from controls. RLS patients suffered from a severe restless legs syndrome (IRLS, 22.9 ± 5.4). OSAS patients were all males, yielding a statistically significant gender difference between groups. RLS and primary insomnia patients, however, did not show gender distributions different from controls.

OGTT data indicated that no control and no primary insomnia patient, but four OSAS patients and one RLS patient suffered from diabetes. As shown in Table 2, 12% of the controls showed 2h-PG values indicating an impaired glucose tolerance. This rate was significantly increased in OSAS (40%, OR 4.9) and RLS (39%, OR 4.7) patients, but not in primary insomnia (18%, OR 1.6) patients. The rate of impaired glucose tolerance within groups was not gender dependent (data not shown). As shown in Table 3, mean HbA1c values were in the normal range (below 5.8%), but differed significantly between groups after adjustment for the BMI. A Sidak-corrected post-hoc test based on estimated marginal means revealed that OSAS as well as RLS patients had significantly higher HbA1c values than healthy controls. In both OSAS and RLS patients the rate of patients displaying elevated HbA1c and FPG was significantly increased. Accordingly, 56% of the OSAS (OR 20.0) and 35% of the RLS (OR 8.5) patients belonged to the high risk group for developing type 2 diabetes. In contrast, only 5% of the insomniacs (OR 0.82) and 6% of the controls showed elevated HbA1c plus FPG levels (see Table 4).

Daytime sleepiness (ESS) was highest in OSAS patients and did not differ in the other patient groups from controls. In contrast, night sleep was subjectively impaired in all three patient groups compared to controls as assessed by the PSQI, and insomniacs rated their sleep significantly worse than did OSAS and RLS patients (Table 1). Patient groups did not differ significantly in the total amount and efficiency of polysomnographically defined sleep. Similarly, the amount of wakefulness during the night was comparable between groups. OSAS patients showed less SWS

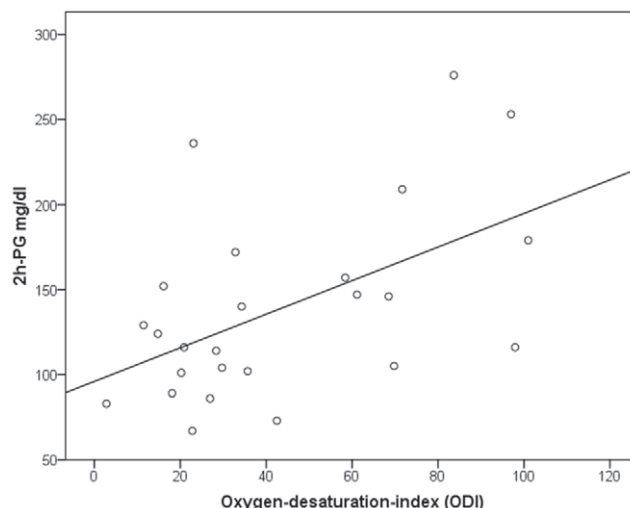


Figure 2. Association between 2 hour-plasma glucose and the oxygen-desaturation-index in obstructive sleep apnea patients. Partial correlation coefficient (corrected for the BMI); $r = 0.59$, $p < 0.05$. doi:10.1371/journal.pone.0009444.g002

and REM sleep, but more stage 1 sleep than both other patients groups. Due to the selection criteria of the present study, only OSAS patients showed pathological apnea-hypopnea and oxygen desaturation indices. Mean PLMS arousal indices were in the pathological range in OSAS and RLS patients, but not in insomnia patients (Table 5).

Tasali et al. [5] have shown that SWS suppression induced by acoustic stimulation triggering repetitive microarousals leads to a decrease in insulin sensitivity. Because OSAS and RLS are characterized by repeated arousals due to apneas and PLMS, we assessed whether they were related to those metabolic parameters differing between patient groups. 2h-PG values correlated positively

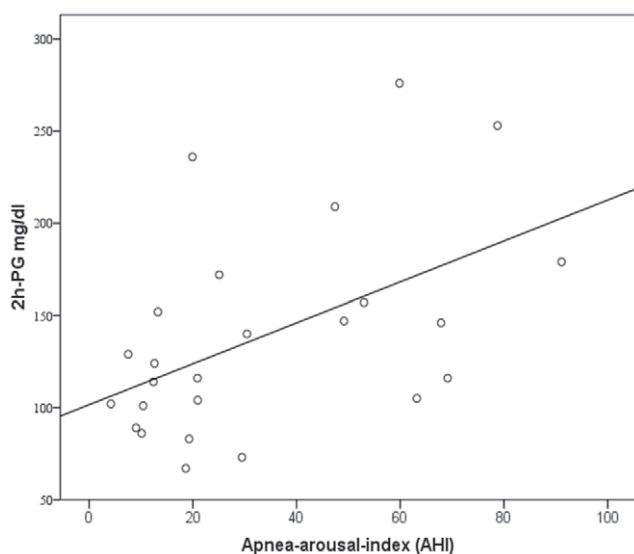


Figure 1. Association between 2 hour-plasma glucose and the apnea-arousal-index in obstructive sleep apnea patients. Partial correlation coefficient (corrected for the BMI); $r = 0.56$, $p < 0.05$. doi:10.1371/journal.pone.0009444.g001

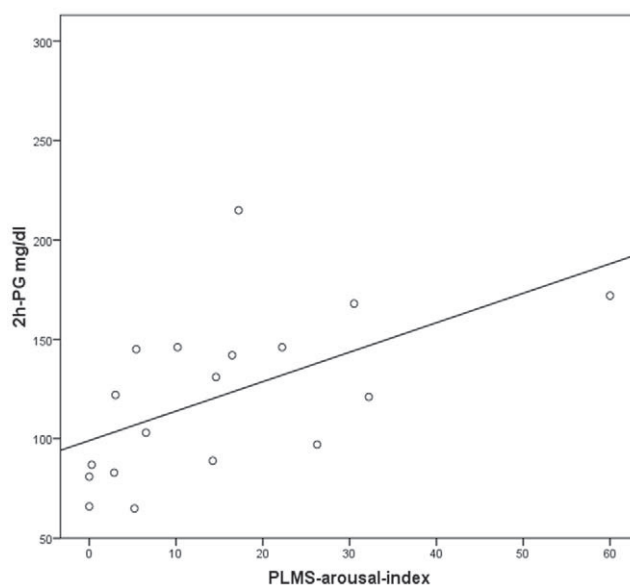


Figure 3. Association between the 2 hour-plasma glucose and the PLMS-arousal-index in restless legs patients. Pearson's correlation coefficient; $r = 0.56$, $p < 0.05$. doi:10.1371/journal.pone.0009444.g003

with the apnea-arousal-index ($r = 0.56$, $p < 0.05$) and the ODI ($r = 0.59$, $p < 0.05$) in OSAS, and with the PLMS-arousal-index ($r = 0.56$, $p < 0.05$) in RLS (Figures 1–3). HbA1c correlated positively with the apnea-arousal-index ($r = 0.50$, $p < 0.05$) in OSAS, which was neither the case for the ODI ($r = 0.46$, $p > 0.05$), nor for the PLMS-arousal-index ($r = 0.21$, $p > 0.05$) in RLS.

Discussion

The present study for the first time compared glucose metabolism in various sleep disorders. The major finding is an increased rate of impaired glucose tolerance in patients with OSAS and RLS, but not in patients with primary insomnia, as compared to normal controls.

Both RLS and OSAS patients were almost five times more likely to suffer from impaired glucose tolerance than healthy controls. In addition, mean HbA1c values were increased in both diagnostic groups compared to controls, and the rate of values above the reference level in both HbA1c and fasting plasma glucose levels indicated an increased diabetes risk in patients with OSAS (20-fold) and RLS (9-fold), respectively. The control group was not matched to the OSAS group with respect to gender. Indeed OSAS patients were exclusively males. Hence, the present results should, as far as OSAS is concerned, be replicated in a gender-mixed patient group compared to gender-matched controls.

Impaired glucose tolerance and increased rates of diabetes have been frequently shown in patients with OSAS [32] and might be related, to a great extent, to obesity, which was also documented in the present study by an increased BMI in this patient group. However, some studies suggest that OSAS is related to type 2 diabetes independently of obesity [33]. The idea has been put forward that nocturnal breathing disorders comprise glucose metabolism either due to repeated oxygen desaturation or due to disturbed sleep per se.

The present study suggests that indeed disturbed sleep itself deteriorates glucose metabolism, as non-obese RLS patients devoid of any nocturnal breathing problem showed impaired glucose tolerance to the same extent as OSAS patients. The positive correlation between quantitative measures of sleep interruptions (apnea-arousal-index in OSAS and PLMS-arousal-index in RLS) and 2h-plasma glucose levels in the OGTT indicate repeated arousals as a possible common mechanism of impaired glucose tolerance in both sleep disorders. This idea is in line with the report of Tasali [5], who induced impaired glucose tolerance in healthy volunteers by disturbing sleep by means of acoustical stimulation for three consecutive nights. This procedure did not alter the total amount of sleep, suggesting a specific effect of repeated arousals. Our results support this idea, because patients with primary insomnia and normal glucose tolerance had similar total sleep times compared to OSAS and RLS patients, but lacked the repeated arousals induced by apneas or PLMS.

References

- Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, et al. (2009) The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 9: 88.
- Heidemann C, Boeing H, Pischon T, Nöthlings U, Joost HG, et al. (2009) Association of a diabetes risk score with risk of myocardial infarction, stroke, specific types of cancer, and mortality: a prospective study in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam cohort. *Eur J Epidemiol* 24: 281–8.
- Knutson KL, Van Cauter E (2008) Associations between sleep loss and increased risk of obesity and diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 1129: 287–304.
- Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E (1999) Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 354: 1435–39.
- Tasali E, Leproult R, Ehrmann DA, Van Cauter E (2008) Slow-wave sleep and the risk of type 2 diabetes in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 1044–1049.
- Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, Calverley PMA, Wilding JPH (2004) Obstructive sleep apnoea is independently associated with an increased prevalence of metabolic syndrome. *Eur Heart J* 25: 735–741.
- Pollmächer T, Dalal MA, Schuld A (2007) Immunoendocrine abnormalities in narcolepsy. *Sleep Med Clin* 2: 293–302.
- Schuld A, Hebebrand J, Geller F, Pollmächer T (2000) Increased body-mass index in patients with narcolepsy. *Lancet* 355: 1274–1275.
- Gao X, Schwarzschild MA, Wang H, Ascherio A (2009) Obesity and restless legs syndrome in men and women. *Neurology* 72: 1255–1261.
- Merlino G, Fratticci L, Valente M, Del Giudice A, Noacco C, et al. (2007) Association of Restless Legs Syndrome in Type 2 Diabetes: A Case-Control Study. *SLEEP* 30: 866–871.
- Bosco D, Plastino M, Fava A, Ettore M, Bosco F, et al. (2009) Role of the Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) in the idiopathic restless legs syndrome. *J Neurol Sci* 287: 60–63.

Repeated arousals could affect glucose metabolism by altering sleep structure, in particular by preventing SWS. This is suggested by a correlation between SWS and insulin sensitivity in the study of Tasali [5]. Repeated arousals, however, could also have a direct effect on glucose metabolism by the resulting activation of the sympathetic nervous system. Increases in heart rate and blood pressure are typical of both obstructive apneas and periodic leg movements, and sympathetic nervous system activation has been shown in both OSAS and RLS patients [34,35].

Because we restricted polysomnographic recordings to the patient groups, the present study does not help to directly answer the question whether sleep duration or other quantitative aspects of night sleep, independently of arousing stimuli during sleep, affect glucose metabolism. Indirectly, similar sleep durations of 5.5 hours in all our patient groups, including primary insomnia patients who showed no impairment in glucose tolerance, suggests that only more prominent sleep reduction might have a direct negative effect on carbohydrate metabolism. One example would be sleep curtailment to four hours of sleep for some days [4], which impaired glucose metabolism even in healthy people.

RLS is frequently found in patients with diabetes, which so far has mainly been explained by the fact that diabetes-induced polyneuropathy predisposes to RLS [10]. In line with this argument, Bosco et al. [11] found an increased incidence of small fiber neuropathy (SFN) in RLS patients with impaired glucose tolerance. Because we did not perform skin biopsies, we can not judge the role of SNF in our sample. But, the present study for the first time suggests that not only diabetes might predispose to RLS through SNF or other mechanisms, but that in turn, RLS might be a causative factor in the development of diabetes by compromising sleep continuity due to repeated arousals. Moreover, the present results further strengthen the idea that disturbed sleep in general and chronic sleep disorders in particular might significantly contribute to the steady increase in diabetes prevalence worldwide. This calls for further extended investigations, because sleep disorders are highly prevalent and might represent an important preventive target to avoid metabolic disorders.

Acknowledgments

We thank the staff of the Max Planck Institute of Psychiatry for conducting the hormonal assays, the volunteers for their participation, patience and cooperation, and the staff of the Centre of Mental Health of the Klinikum Ingolstadt for assistance.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: ZL TW TP. Performed the experiments: MK ZL EMH PAB SB. Analyzed the data: MK ZL EMH PAB CJL TW JWF TP. Wrote the paper: MK TP.

12. Ohayon MM (2002) Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. *Sleep Med Rev* 6: 97–111.
13. Garcia-Borreguero D (2006) Time to REST: epidemiology and burden. *Eur J Neuro* 3: 15–20.
14. Voderholzer U, Al-Shajlawi A, Weske G, Feige B, Riemann D (2003) Are there gender differences in objective and subjective sleep measures? A study of insomniacs and healthy controls. *Depress Anxiety* 17: 162–172.
15. Hornyak M, Feige B, Voderholzer U, Philippsen A, Riemann D (2007) Polysomnography findings in patients with restless legs syndrome and in healthy controls: a comparative observational study. *Sleep* 30: 861–865.
16. Allen RP, Picchietti D, Hening WA, Trenkwalder C, Walters AS, Montplaisi J (2003) Restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the national institutes of health; international restless legs syndrome study group. Restless legs syndrome: diagnostic criteria, special considerations, and epidemiology. A report from the restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the national institutes of health. *Sleep Med* 4: 101–119.
17. Walters AS, LeBrocq C, Dhar A, Hening W, Rosen R, et al. (2003) International Restless Legs Syndrome Study Group. Validation of the international restless legs syndrome study group rating scale for restless legs syndrome. *Sleep Med* 4: 121–32.
18. American Academy of Sleep Medicine (2005) International classification of sleep disorders, 2nd edition: Diagnostic and coding manual. Chicago/Illinois: American Academy of Sleep Medicine.
19. Buysse DJ, Reynolds CF, 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ (1989) The Pittsburgh sleep quality index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res* 28: 193–213.
20. Johns MW (1991) A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 14: 540–5.
21. Rechtschaffen A, Kales AA (1968) Manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Los Angeles: Brain Information Service/Brain Research Institute. Xxx p.
22. Bonnet M, Carley D, Carskadon M, Easton P, Guilleminault C, et al. (1992) ASDA Report: EEG arousals: scoring rules and examples. *Sleep* 15: 173–184.
23. American Sleep Disorders Association (1993) Recording and scoring leg movements. The Atlas Task Force. *Sleep* 16: 748–59.
24. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (2003) Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 26: 3160–3167.
25. Wolever TM, Jenkins DJ (1986) The use of the glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. *Am J Clin Nutr* 43: 167–172.
26. Inoue K, Matsumoto M, Akimoto K (2008) Fasting plasma glucose and HbA1c as risk factors for type 2 diabetes. *Diabet Med* 25: 1157–1163.
27. Inoue K, Matsumoto M, Kobayashi Y (2007) The combination of fasting plasma glucose and glycosylated hemoglobin predicts type 2 diabetes in Japanese workers. *Diabetes Res Clin Pract* 77: 451–458.
28. Ko GT, Chan JC, Tsang LW, Cockram CS (2000) Combined use of fasting plasma glucose and HbA1c predicts the progression to diabetes in Chinese subjects. *Diabetes Care* 23: 1221–1225.
29. Takahashi M, Kaji K, Togashi A, Onigo Y, Shibosawa T, et al. (2001) Usefulness of paired estimation of fasting plasma glucose and HbA1c: a long-term follow-up study of screened non-diabetic subjects. *J Jpn Diab Soc* 44: 745–750.
30. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, et al. (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28: 412–419.
31. Matsuda M, DeFronzo RA (1999) Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing. *Diabetes Care* 22: 1462–1470.
32. Tasali E, Mokhlesi B, Van Cauter E (2008) Obstructive sleep apnea and type 2 diabetes. *Chest* 133: 496–506.
33. Reichmuth KJ, Austin D, Skatrud JB, Young T (2005) Association of sleep apnea and type II diabetes - a population-based study. *Am J Respir Crit Care Med* 172: 1590–1595.
34. Narkiewicz K, Somers VK (2003) Sympathetic nerve activity in obstructive sleep apnoea. *Acta Physiol Scand* 177: 385–90.
35. Walters AS, Rye DB (2009) Review of the relationship of restless legs syndrome and periodic limb movements in sleep to hypertension, heart disease, and stroke. *Sleep* 32: 589–597.

PŘÍLOHA Č. 3

The stress hormone system in various sleep disorders



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Psychiatric Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/psychires

The stress hormone system in various sleep disorders

Zuzana Lattova^{a,b,1}, Marietta Keckeis^{a,b,1}, Eszter Maurovich-Horvat^{a,b}, Thomas C. Wetter^{b,c}, Johanna Wilde-Frenz^a, Andreas Schuld^a, Thomas Pollmächer^{a,b,*}^aCentre of Mental Health, Klinikum Ingolstadt, Ingolstadt, Germany^bMax Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany^cSleep Medicine Department, University Hospital of Psychiatry, University of Zurich, Zurich, Switzerland

ARTICLE INFO

Article history:
Received 20 December 2010
Received in revised form
3 March 2011
Accepted 24 March 2011

Keywords:
Sleep
Hypothalamus–pituitary–adrenal axis
Negative feedback sensitivity
Obstructive sleep apnea syndrome
Restless legs syndrome
Primary insomnia

ABSTRACT

Hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA)-system activity is regulated by the suprachiasmatic nucleus, the primary endogenous circadian pacemaker. In addition, sleep plays an important modulatory role. However, data on HPA-system activity in sleep disorders are quite conflicting. A sensitive challenge test to assess negative feedback sensitivity of the HPA-system like the dexamethasone/corticotropin-releasing-hormone (DEX/CRH)-test has never been used so far in sleep disorders. Therefore we studied 25 obstructive sleep apnea (OSA) patients, 18 restless legs syndrome (RLS) patients, 21 patients with primary insomnia and compared them to 33 healthy controls. The dynamic response of the HPA-system was assessed by the DEX/CRH-test which combines suppression (dexamethasone) and stimulation (CRH) of the stress hormone system. After HPA-axis suppression the number of non-suppressors did not differ among groups indicating normal negative feedback sensitivity. In RLS patients ACTH levels were slightly lower compared to controls while cortisol levels were similar between groups. Following CRH stimulation we did not detect differences in ACTH- or cortisol levels and adrenocortical responsiveness to ACTH was comparable between groups. These results for the first time document normal HPA-system feedback sensitivity in various sleep disorders and suggest that abnormalities of the stress hormone system in affective disorders are unlikely due to concomitant sleep problems.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Neuroendocrine systems, in particular the hypothalamo–pituitary–adrenal (HPA)-system, play a pivotal role during the response of the organism to external and internal challenges, generally referred to as stress (Kudielka and Wüst, 2010). The HPA-system represents a feedback loop regulating the release of cortisol. It is internally controlled mainly by circadian signals derived from connections between the hypothalamic nucleus paraventricularis (PVN) and the nucleus suprachiasmaticus (SCN). The PVN secretes corticotropin-releasing hormone (CRH), which acts on CRH receptors in the anterior pituitary to cause the release of the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) into the bloodstream (Hauger and Datzenberg, 2000). ACTH then induces the release of cortisol from the adrenal cortex. In turn cortisol feeds back onto the PVN and the pituitary to control CRH or ACTH synthesis and release.

Whether feedback onto the PVN and pituitary is inhibitory or excitatory depends on the type of receptor activated (high affinity mineralocorticoid receptors, MR's, type I; low affinity glucocorticoid receptors, GR's, type II) and on its location within the brain (Buckley and Schatzberg, 2005).

There is long-standing evidence of reciprocal interactions between the HPA-system and sleep regulation (Steiger, 2007). Exogenous CRH has been shown to increase EEG frequency, light sleep and wakefulness (Ehlers et al., 1986; Chang and Opp, 2001) to enhance REM sleep (Kimura et al., 2010) and to decrease the amount of slow-wave sleep (SWS; Holsboer et al., 1988). Studies focusing on the direct effects of glucocorticoids have shown dose dependent actions. Low doses of glucocorticoids decrease wakefulness and increase SWS amount by MR mediated PVN inhibition, particularly via the hippocampus (Born et al., 1989; Friess et al., 1994, 2004). Furthermore, low doses of the synthetic glucocorticoid dexamethasone, which selectively bind to GR's at the level of the pituitary, produce direct negative feedback on subsequent ACTH and reduce both SWS and REM sleep (Born et al., 1991). In contrast higher cortisol doses increase wakefulness and decrease SWS (Vazquez-Palacios et al., 2001) which may reflect GR activation in the amygdala and may exert a positive feedback effect on PVN CRH (Reul and Holsboer, 2002).

* Corresponding author. Klinikum Ingolstadt, Centre of Mental Health, Krumenauerstrasse 25, D-85049 Ingolstadt, Germany. Tel.: +49 841 880 2201; fax: +49 841 880 2209.

E-mail address: thomas.pollmaecher@klinikum-ingolstadt.de (T. Pollmächer).

¹ These authors contributed equally to this study.

In turn, sleep and experimental sleep deprivation have modulatory effects on the HPA-system. Several studies reported an inhibitory effect of sleep on cortisol secretion and slightly higher plasma cortisol levels during total sleep deprivation (Weitzman et al., 1974, 1983; Weibel et al., 1995, von Treuer et al., 1996). Leproult et al. (1997) documented enhanced HPA-system activity coupled with a delayed onset of the quiescent secretory phase of cortisol in the evening following a sleep deprivation night. Hence, sleep loss seems to alter negative glucocorticoid feedback regulation. Furthermore, nocturnal awakening is associated with a pulsatile release of cortisol. These arousals are followed by temporary inhibition of cortisol secretion indicating that wakefulness may help to increase the negative feedback sensitivity of the HPA-system. However, sustained sleep disruption does not enhance cortisol secretion (Späth-Schwalbe et al., 1991). Nevertheless, there are some studies which have reported either no change (Moldofsky et al., 1989; Scheen et al., 1996; Brun et al., 1998) or a decrease in the secretion of cortisol (Vgontzas et al., 1999) after experimentally induced sleep disruption.

Results obtained from studies in sleep disorders are quite inconsistent. In patients with an obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) some studies reported enhanced cortisol secretion (Bratel et al., 1999; Vgontzas et al., 2007; Schmoller et al., 2009) while other studies did not find alterations in HPA-system activity (Grunstein et al., 1989; Meston et al., 2003; Entzian et al., 1996; Dadoun et al., 2007). Noteworthy, several of these studies were limited in that cortisol was measured at a single time point. Primary insomnia is thought to be a disorder of hyperarousals which is present throughout the 24-h sleep/wake cycle. Insomnia patients with objectively fragmented night time sleep show elevated 24-h plasma ACTH and cortisol levels (Rodenbeck and Hajak, 2001) with greatest elevations in the evening and the first half of the night (Vgontzas et al., 2001). However, insomnia patients showing only minor alterations of sleep exhibited normal cortisol secretion levels (Riemann et al., 2002). Finally, four studies assessed HPA-axis activity in patients with a restless legs syndrome (RLS). Wetter et al. (2002) as well as Garcia-Borreguero et al. reported normal cortisol profiles and no differences in feedback inhibition has been reported by Hornyak et al. (2008). However, the most recent study focusing on HPA-system activity in RLS patients reported enhanced nocturnal cortisol secretion levels (Schilling et al., 2010).

One specific approach to dynamically test HPA-system activity is the dexamethasone suppression/corticotropin-releasing-hormone stimulation test (DEX/CRH-test), described in detail by Heuser et al. (1994). The DEX/CRH-test has been developed to study neuroendocrine abnormalities in psychiatric disorders. This test has been shown to be sensitive in documenting HPA-system overactivity in affective disorders (Heuser et al., 1994) and diminished activity in post traumatic stress disorder (Yehuda, 2009). So far, the DEX/CRH-test has not been performed in sleep disorders. Due to its high sensitivity we used this test to assess HPA-system functioning in the framework of a larger metabolic study in sleep disorders (Keckeis et al., 2010) including patients suffering from the obstructive sleep apnea syndrome, restless legs syndrome and primary insomnia and healthy controls.

2. Materials and methods

2.1. Participants

The study protocol was approved by the ethics committee of the Bavarian Medical Council, Munich, Germany. All subjects provided written informed consent prior to entering the study. Of 97 subjects investigated, 25 suffered from OSAS, 21 from primary insomnia, 18 from RLS and 33 were healthy controls. Subjects were recruited

through advertisements in local newspapers. All subjects had normal findings on medical examination; they did not suffer from any psychiatric disorder and had a regular sleep-wake cycle. Pregnant women, shift workers, and persons who had travelled across multiple time zones within 3 months prior to the study were excluded. Similarly, subjects exhibiting other sleep disorders were excluded. All subjects showed normal results in numerous blood tests (see Keckeis et al., 2010). All subjects showed normal EEG findings during waking.

RLS patients met the diagnostic criteria defined by the International Restless Legs Syndrome Study Group (Allen et al., 2003) and did not suffer from any severe somatic condition such as polyneuropathy or secondary RLS. The severity of RLS was assessed using the International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale (IRLS; Walters et al., 2003). In patients suffering from primary insomnia as well as in patients suffering from OSAS, diagnosis was based on the International Classification of Sleep Disorders (American Academy of Sleep Medicine, 2005). OSAS patients with an apnea-hypopnea-index (AHI) above 15 (moderate sleep apnea) were included. Controls did not suffer from any sleep disturbances, and sleep related breathing disorder was excluded (AHI > 5) by an ambulatory sleep apnea screening (Weinmann Somnocheck, Hamburg, Germany).

2.2. Procedure and measurements

Subjects underwent a detailed check-up including a physical examination, anthropometric measurements, a survey of sleep history and a detailed medical and psychiatric interview including the Becks Depression Inventory (BDI; Beck et al., 1961), Hamilton Depression Scale (HAMD; Hamilton, 1960) and Hamilton Anxiety Scale (HAMA; Hamilton, 1959). In addition, sleep quality was evaluated by means of the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI; Buysse et al., 1989) and daytime sleepiness using the Epworth Sleepiness Scale (ESS; Johns, 1991). To verify regular sleep-wake patterns, participants were asked to wear a wrist activity monitor (Cambridge Neurotechnology, Cambridge, UK; Actiwatch Activity Analysis, Version 5.06) for 8 days prior to the study. In all patients standard nocturnal polysomnography (PSG) was conducted for two nights. Polysomnographic recordings were performed from 23:00 to 06:00 h. Sleep stages were scored according to Rechtschaffen and Kales (1968). Sleep stages 3 and 4 were summed up to slow-wave sleep (SWS). Arousals (American Sleep Disorder Association, 1992) PLMS (American Sleep Disorders Association, 1993), and apneas/hypopneas were scored and the number of both PLMS and apneas/hypopneas per hour of total sleep time (PLMS-index and AHI, respectively) calculated. Additionally, we calculated the number of both PLMS and apneas/hypopneas associated with arousals (PLMS-arousal-index and apnea-arousal-index, respectively). Sleep stages and associated parameters were scored by two experienced scorers in each individual.

Ten days before the PSG nights took place subjects underwent the dexamethasone suppression/corticotropin-releasing-hormone stimulation test (DEX/CRH-test). The DEX/CRH-test is a dynamic test which combines suppression and stimulation of the HPA-system. At 23:00 subjects received 1.5 mg dexamethasone (Fortecortin, Merck Pharma GmbH, Darmstadt, Germany). On the following day, at 15:02, 100 µg human CRH (Ferring Inc., Kiel, Germany) reconstituted in 1 ml 0.02% HCl in 0.9% saline solution was infused within 30s. After hCRH infusion four blood samples were taken at 15:30; 15:45; 16:00 and at 16:15. Cortisol plasma concentrations were analysed using a radioimmunoassay kit with a coated tube technique. For ACTH measurements a dual antibody immunoradiometric assay without extraction was used. The baseline sample, which represents the suppressive effects of dexamethasone, was drawn at 15:00. It was used to identify non-suppressors, defined as subjects showing

cortisol levels ≥ 40 ng/ml. Following hCRH infusion, cortisol and ACTH responses were calculated as the area under the time course curve (AUC) using trapezoidal rule (Wolever and Jenkins, 1986). They are reported as AUC_{total} (not baseline-corrected) and AUC_{net} (baseline-corrected). The maximal hormone response after CRH administration is reported as peak value and corrected for baseline it is reported as DELTA. Finally, adrenocortical responsiveness to ACTH is assessed by calculating two pituitary-adrenal ratios (PAR; AUC_{total} ACTH/AUC_{total} cortisol values and AUC_{net} ACTH/AUC_{net} cortisol values).

3. Statistics

Statistical analysis was performed using SPSS for Windows 16.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). Mean comparisons of the basic characteristics such as age, BMI, PSQI, ESS, BDI, HAMD and HAMA as well as of the calculated parameters obtained by the DEX/CRH test were done by using Gabriel- or Games-Howell-corrected analysis of variance (ANOVA) tests. Because of their skewed distribution HAMD and HAMA were z-transformed. Chi-square tests were performed to compare the number of non-suppressors between groups. Bivariate correlations were done to determine association between selected continuous variables. $P < 0.05$ is considered as statistically significant.

4. Results

Table 1 shows the baseline characteristics for all subjects. Groups did not differ with respect to age. The OSAS group exclusively comprised males; however, the other groups did not differ in means of gender distribution. OSAS patients had a strongly increased BMI, whereas in RLS, insomniacs and controls the BMI was comparable. Sleep disorder groups, in particular insomniacs, showed higher scores in the self-rated questionnaire BDI as well as the observer-rated questionnaires HAMD and HAMA than controls. RLS patients, on average, suffered from a severe restless legs syndrome (IRLS, 22.9 ± 5.4).

DEX/CRH data did not indicate differences in the number of non-suppressors between patient groups and controls. 4% of OSAS-, 12% of RLS - and 14% of insomnia patients showed elevated basal cortisol levels. In controls 9% were found to be non-suppressors (Table 2). In RLS patients, the levels of ACTH after HPA-axis suppression by dexamethasone was significantly lower compared to healthy controls. Basal cortisol levels were comparable between

Table 1
Baseline characteristics of study participants.

	OSAS	RLS	INS	CON	P-value
Females/Males	0/25 †, ∇	11/7	12/9	17/16	< 0.001
Age (years)	52.3 (10.8)	52.2 (13.0)	49.1 (9.7)	46.8 (7.7)	> 0.05
BMI (kg/m ²)	32.9 (5.4) ‡	25.4 (3.7)	25.0 (4.8)	24.7 (3.5)	< 0.001
PSQI	6.7 (2.8) ‡, ∇	9.3 (4.5) ‡, +	13.1 (3.7) ‡	3.0 (2.0)	< 0.001
ESS	11.2 (5.6) ‡	7.9 (4.3)	6.4 (4.0)	6.8 (2.8)	< 0.001
BDI	5.4 (3.9) †	7.8 (6.0) †	8.7 (5.6) ‡	2.3 (2.5)	< 0.001
HAMD	2.2 (2.7) *, ∇	4.4 (4.0) †	7.3 (2.8) ‡	0.6 (1.2)	< 0.001
HAMA	3.6 (3.3) *, ∇	6.3 (5.9) *	10.24 (5.2) ‡	1.5 (1.8)	< 0.001

Data are mean (SD). Statistical comparison was done using Gabriel- or Games-Howell-corrected oneway ANOVA.

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls; BMI, Body mass index; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index; ESS, Epworth Sleepiness Scale; BDI, Beck's depression inventory; HAMD, Hamilton depression scale; HAMA, Hamilton anxiety scale.

* $p < 0.05$, † $p < 0.01$, ‡ $p < 0.001$, vs controls.

+ $p < 0.05$, $p < 0.01$, ∇ $p < 0.001$, between groups.

OSAS: $\chi^2(1) = 18.21$, $p < 0.001$; RLS: $\chi^2(1) = 0.433$, $p > 0.05$; INS: $\chi^2(1) = 0.163$, $p > 0.05$, vs controls.

Table 2

Frequency of dexamethasone suppressors and non-suppressors.

	Total N	Suppressors N (%)	Non-suppressors N (%)
OSAS	25	24 (96)	1 (4)
RLS	18	16 (88)	2 (12)
INS	21	18 (86)	3 (14)
CON	33	30 (91)	3 (9)

Suppressors: Basal cortisol values < 40 ng/ml; Non-suppressors: Basal cortisol levels ≥ 40 ng/ml.

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls.

$\chi^2(3) = 7.95$, $p > 0.05$.

groups. The amount of cortisol and ACTH released after hCRH infusion did not differ between groups. Thus, groups show similar values of peak-, DELTA-, AUC_{total} and AUC_{net} levels in cortisol- and ACTH release (Table 3 and Table 4). Furthermore no group differences in adrenocortical responsiveness to ACTH (PAR_{total}; PAR_{net}) were found (Table 3).

Table 1 shows that all patient groups described their sleep of poor quality (PSQI) and insomniacs rated their night time sleep worse than did OSAS or RLS patients. However, only OSAS patients complained about increased daytime sleepiness (ESS). Patient groups did not differ in respect to sleep efficiency and polysomnographic measured total amount of sleep or awakenings during sleep. OSAS patients spent less time in SWS and REM sleep but more in stage 1 sleep compared to RLS and insomnia patients. Due to the selection criteria of the present study OSAS patients showed an AHI of 55.7 (27.1) and an oxygen desaturation index of 43.6 (29.7). PLMS-arousal index was in a pathological range for RLS and OSAS patients (Table 5).

5. Discussion

This study is the first one to compare the dynamic regulation of the HPA-system in various sleep disorders. Compared to healthy controls, neither patients with obstructive sleep apnea, nor patients with restless legs syndrome or primary insomnia showed abnormalities in the ACTH or cortisol responses to CRH after HPA-system suppression by dexamethasone. Also prior to the CRH challenge, there was no difference between groups, apart from ACTH levels which were slightly lower in RLS compared to the other samples.

These results suggest that in patients with common sleep disorders, who are carefully selected not to suffer from an affective or other psychiatric disorder, HPA-system function is essentially normal as judged by a standard DEX/CRH test. Hence, the well established abnormalities of the HPA-system seen in patients with major depression (Von Bardeleben and Holsboer, 1991; Modell et al., 1997) are unlikely to be due to the frequently co-occurring sleep disorders *per se*. This finding is in line with the results reported by Steiger et al. (1989) showing a normalization of the cortisol levels in depressed patients after remission while sleep remained disturbed. However, this is not in contradiction to those studies reporting certain relationships between HPA-system function and sleep EEG markers in depression (Hatzinger et al., 2004) because this relation was particularly due to quite specific abnormalities of REM sleep and/or SWS (Lauer et al., 1991; Giles et al., 1993; Gillin and Borbely, 1985; Reynolds and Kupfer, 1987).

The present findings in RLS patients are quite in line with the literature. Neither Wetter et al. (2002) Garcia-Borreguero et al. (2004), nor Hornyak et al. (2008) found abnormalities in HPA-system regulation in these patients. The isolated slight decrease in ACTH levels after dexamethasone suppression in the present study

Table 3

Cortisol values in ng/ml obtained by the DEX/CRH test.

	OSAS	RLS	INS	CON	P-value
Basal	17.5 (9.0)	19.1 (11.6)	20.6 (12.8)	21.7 (16.1)	> 0.05
Peak	50.0 (46.7)	51.0 (42.3)	64.2 (56.1)	70.5 (66.8)	> 0.05
Delta	32.4 (44.8)	31.8 (38.6)	43.6 (52.1)	48.6 (58.4)	> 0.05
AUCtotal	2651.8 (2385.3)	2554.2 (2107.2)	3085.8 (2606.6)	3422.1 (3440.8)	> 0.05
AUCnet	1339.6 (2243.9)	1121.3 (1731.6)	1543.6 (2196.2)	1775.8 (2734.8)	> 0.05
PARtotal	0.325 (0.2)	0.227 (0.1)	0.320 (0.2)	0.315 (0.2)	> 0.05
PARnet	0.094 (1.0)	-0.367 (2.2)	-0.044 (0.9)	1.512 (5.1)	> 0.05

Data are mean (SD). Statistical comparison was done using Gabriel- or Games-Howell-corrected oneway ANOVA.

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls; Basal, basal cortisol concentration after DEX; Peak, highest cortisol value after CRH; Delta, baseline corrected peak value; AUCtotal, Area under curve; AUCnet, baseline corrected area under curve; PARtotal, pituitary-adrenal ratio; PARnet, baseline corrected pituitary-adrenal ratio.

is probably either a finding by chance likely due to the small standard deviation observed (SD 0.2) or without major biological significance, because normal baseline cortisol levels and normal hormonal responses to CRH point to an overall normal HPA-system function. Schilling et al. (2010) reported increased cortisol levels in night time urine. However, these results do not indicate whether this increase observed is due to a decrease in feedback inhibition of the HPA-system.

Studies on HPA-system functioning in OSAS patients are quite conflicting; some report normal cortisol secretion (Grunstein et al., 1989; Meston et al., 2003; Entzian et al., 1996; Dadoun et al., 2007,) while others report enhanced HPA-system activity (Bratel et al., 1999; Vgontzas et al., 2007; Schmoller et al., 2009). As in several of these studies cortisol was assessed by a single time point measurement they do not measure potential clinically important HPA-system changes. Furthermore, in the majority of these studies the psychological profile, including emotional distress, anxiety, and/or depression, frequent comorbidities in OSAS, were not assessed formally. To our knowledge, only one study has been published focusing on feedback sensitivity of the HPA system in OSAS patients (Carneiro et al., 2008). In this study, after administration of a low dose of dexamethasone smaller cortisol suppression has been detected in OSAS patients compared to healthy controls. In our study we can not confirm this difference in negative feedback sensitivity. The difference of our findings from that report may be a result of methodological differences. Carneiro and coworkers included OSAS patients suffering from morbid obesity (BMI: 46.9 ± 2.0) while we studied less obese OSAS patients (BMI: 32.9 ± 5.4). Furthermore, as negative feedback sensitivity was assessed differently, the suppressive effect of dexamethasone was measured at different time points.

Primary insomnia is thought to be a disorder of hyperarousal. It has been shown that chronic primary insomnia is associated with increased evening and nocturnal cortisol levels (Rodenbeck et al., 2002; Vgontzas et al., 2001) reflected by altered parameters of the cortisol rhythm. Evening cortisol levels have been shown to be

Table 4

ACTH values in pg/ml obtained by the DEX/CRH test.

	OSAS	RLS	INS	CON	P-value
Basal	2.1 (2.7)	1.1 (0.2) *	2.7 (3.5)	4.2 (6.6)	< 0.05
Peak	16.5 (14.8)	10.1(9.7)	15.0 (11.5)	15.1 (11.2)	> 0.05
Delta	14.3 (13.4)	9.1 (9.5)	12.2 (10.0)	10.7 (11.1)	> 0.05
AUCtotal	829.2 (767.2)	531.9 (543.0)	790.0 (665.6)	790.1 (605.4)	> 0.05
AUCnet	670.3 (651.7)	452.0 (528.8)	590.0 (539.7)	465.0 (580.8)	> 0.05

Data are mean (SD). Statistical comparison was done using Gabriel- or Games-Howell-corrected oneway ANOVA.

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls; Basal, basal ACTH concentration after DEX; Peak, highest ACTH value after CRH; Delta, baseline corrected peak value; AUCtotal, Area under curve; AUCnet, baseline corrected area under curve.

**p* < 0.05.

associated with the number of nocturnal awakenings during the following sleep period in chronic insomnia patients as well as in healthy controls. Our results suggest that negative feedback sensitivity is not affected by repeated arousals during night neither in OSAS, RLS nor insomnia patients. This is in line with the result obtained by Späth-Schwalbe et al. (1991) who reported a rapid habituation of the HPA-system to repeated arousals during night.

Some limitations of the present study warrant discussion. One limitation is the lack of sleep EEG in the control group. However, thoughtful clinical evaluation excluded the presence of primary insomnia and RLS and sleep apnea was excluded by ambulatory polygraphy. The mean age of the control group was 50, an age where periodic leg movements (PLM) might occur. Even though we did not assess the frequency of PLM during sleep in controls it is extremely unlikely that the amount of PLMS would be above the value found in primary insomnia patients of the same age (5.2 ± 7.2) for whom the occurrence of PLM was not an exclusion criteria. Furthermore it is important to note that we used a DEX dose of 1.5 mg which might be too high to detect subtle alterations of the negative feedback sensitivity of the HPA-system. Thus, in consideration of possible changes in the sensitivity of the combined DEX/CRH-test lower DEX doses might be considered in future

Table 5

Sleep parameters.

	OSAS	RLS	INS	P-value
TIB (min)	437.5 (33.1)	449.2 (32.8)	435.7 (25.8)	> 0.05
TST (min)	339.0 (58.7)	345.9 (69.5)	337.3 (55.6)	> 0.05
SEI (%)	77.5 (11.8)	77.1 (14.6)	77.2 (10.8)	> 0.05
WASO (min)	75.7 (42.8)	75.3 (50.1)	61.0 (35.6)	> 0.05
REM (min)	41.4 (18.5) ‡	73.0 (24.1)	70.8 (27.2)	< 0.001
S1 (min)	92.2 (40.2) ‡	41.8 (20.0)	31.3 (14.5)	< 0.001
S2 (min)	198.0 (47.9)	204.2 (47.9)	214.9 (39.5)	> 0.05
SWS (min)	7.4 (9.5) †	26.9 (29.1)	20.4 (17.5)	< 0.01
SO (min)	21.2 (20.9)	22.3 (33.2)	22.4 (19.6)	> 0.05
SLREM (min)	137.7 (68.4) *	97.5 (72.8)	86.4 (46.9)	< 0.05
SLSWS (min)	122.8 (104.9) *	67.9 (92.6)	37.3 (26.0)	< 0.05
AHI	55.7 (27.1) ‡	3.3 (3.7)	1.6 (1.6)	< 0.001
ODI	43.6 (29.7) ‡	1.9 (3.0)	1.4 (1.6)	< 0.001
PLMS-Index	19.2 (20.4)	32.5 (33.1)	5.2 (7.2) †	< 0.01
Arousal-Index	60.2 (23.4) ‡	29.6 (16.0)	24.5 (15.0)	< 0.001
PLMS-arousal-index	12.8 (14.0)	14.8 (15.3)	2.8 (4.7) †	< 0.01
Apnea-arousal-index	33.8 (25.6) ‡	0.8 (1.8)	0.3 (0.5)	< 0.001

Data are mean (SD). Mean comparison was done using Gabriel- or Games-Howell-corrected oneway ANOVA.

OSAS, Obstructive sleep apnea syndrome; RLS, Restless legs syndrome; INS, Insomnia; CON, controls; TIB, Time in bed; TST, Total sleep time; SEI, Sleep efficiency; WASO, Wake time after sleep onset; REM, Rapid eye movement sleep; S1, Stage 1 sleep; S2, Stage 2 sleep; SWS, Slow wave sleep; SO, Sleep onset latency; SLREM, REM sleep latency; SLSWS, SWS sleep latency; AHI, Apnea-hypopnea-index; ODI, Oxygen-desaturation-index; PLMS-Index, Periodic leg movements per hour of sleep; PLMS-arousal-index, PLMS associated with arousals per hour of sleep; Apnea-arousal-index, Apneas and/or hypopneas associated with arousals per hour.

**p* < 0.05, †*p* < 0.01, ‡*p* < 0.001.

studies. Finally, the combination of polysomnography, 24 h cortisol and ACTH measurements and the dynamic DEX/CRH test might provide more detailed insights in possible sleep related changes of the HPA-system in sleep disorders.

To conclude, this very first study using the DEX/CRH-test in various sleep disorders suggests that disturbed sleep *per se* has no major negative impact on the negative feedback inhibition of the HPA-system and, hence, typical HPA-system abnormalities seen in affective disorders are unlikely to be a consequence of altered sleep *per se*. Furthermore, abnormalities in HPA-system regulation in RLS- and insomnia patients reported earlier seem to be independent of negative feedback regulation processes of the HPA-system.

Conflict of interest

All authors declare that they have no conflicts of interest.

Contributors

Lattova Z, Keckeis M and Pollmächer T designed the study, managed the literature searches and analysis, were involved in data collection, undertook statistical analysis and interpretation of the results and edited the manuscript. Maurovich-Horvat E managed the literature searches and analysis, designed the study and was involved in data collection and interpretation of the results. Wetter TC contributed to statistical analysis, data interpretation and editing the manuscript. Wilde-Frenz J and Schuld A were involved in data collection, statistical analysis and in data interpretation. All authors contributed to and have approved the final manuscript.

Role of Funding Source

This study was supported by the European Union Framework 6 (MCRN-CT-2004-512362). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Acknowledgement

We thank Gabi Kohl from the Max-Planck Institute of Psychiatry for conducting the hormonal assays, the volunteers for their participation, patience and cooperation, and the staff of the Centre of Mental Health of the Klinikum Ingolstadt for assistance. This study was supported by the European Union Framework 6 (MCRN-CT-2004-512362).

Appendix. Supplementary material

The supplementary data associated with this article can be found in the on-line version at doi:10.1016/j.jpsychires.2011.03.013.

References

- American Sleep Disorder Association. Report: EEG arousals: scoring rules and examples. The Atlas Task force. *Sleep* 1992;15:173–84.
- American Sleep Disorders Association. Recording and scoring leg movements. The Atlas Task Force. *Sleep* 1993;16:748–59.
- Allen RP, Picchietti D, Hening WA, Trenkwalder C, Walters AS, Montplaisi J. Restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the national institutes of health; international restless legs syndrome study group. Restless legs syndrome: diagnostic criteria, special considerations, and epidemiology. A report from the restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the national institutes of health. *Sleep Medicine* 2003;4:101–19.
- American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders. 2nd ed. Chicago, Illinois: American Academy of Sleep Medicine; 2005. Diagnostic and coding manual.
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Archives of General Psychiatry* 1961;4:561–71.
- Born J, Dekloet ER, Wenz H, Kern W, Fehm HL. Gluco- and antiminerocorticoid effects on human sleep: a role of central corticosteroid receptors. *American Journal of Physiology* 1991;260:E183–8.

- Born J, Späth-Schwalbe E, Schwakenhofer H, Kern W, Fehm HL. Influences of corticotropin releasing hormone, Adrenocorticotropin, and cortisol on sleep in normal man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1989;68:904–11.
- Bratell T, Wennlund A, Carlstrom K. Pituitary reactivity, androgens and catecholamines in obstructive sleep apnoea. Effects of continuous positive airway pressure treatment (CPAP). *Respiratory Medicine* 1999;93:1–7.
- Brun J, Chamba G, Khalifallah Y, Girard P, Boissy I, Bastuji H, et al. Effect of modafinil on plasma melatonin, cortisol and growth hormone rhythms, rectal temperature and performance in healthy subjects during a 36 h sleep deprivation. *Journal of Sleep Research* 1998;7:105–14.
- Buckley TM, Schatzberg AF. On the interactions of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and sleep: normal HPA axis activity and circadian rhythm, exemplary sleep disorders. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005;90:3106–14.
- Buysse DJ, Reynolds CF, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh sleep quality index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Research* 1989;28:193–213.
- Carneiro G, Togeiro SM, Hayashi LF, Ribeiro-Filho FF, Ribeiro AB, Tufik S, et al. Effect of continuous positive airway pressure therapy on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and 24-h blood pressure profile in obese men with obstructive sleep apnea syndrome. *American Journal of Physiology – Endocrinology & Metabolism* 2008;295:E380–4.
- Chang FC, Opp MR. Corticotropin-releasing hormone (CRH) as a regulator of waking. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2001;25:445–53.
- Dadoun F, Darmon P, Achard V, Boullu-Ciocca S, Philip-Joet F, Alessi MC, et al. Effect of sleep apnea syndrome on the circadian profile of cortisol in obese men. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism* 2007;293:E466–74.
- Ehlers CL, Reed TK, Henriksen SJ. Effects of corticotrophin-releasing factor and growth hormone releasing factor on sleep and activity in rats. *Neuroendocrinology* 1986;42:467–74.
- Entzian P, Linnemann K, Schlaak M, Zabel P. Obstructive sleep apnea syndrome and circadian rhythms of hormones and cytokines. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1996;153:1080–6.
- Friess E, Tagaya H, Grethe C, Trachsel L, Holsboer F. Acute cortisol administration promotes sleep intensity in man. *Neuropsychopharmacology* 2004;29:598–604.
- Friess E, von Bardeleben U, Wiedemann K, Lauer CJ, Holsboer F. Effects of pulsatile cortisol infusion on sleep-EEG and nocturnal growth hormone release in healthy men. *Journal of Sleep Research* 1994;3:73–9.
- Garcia-Borreguero D, Larrosa O, Granizo JJ, de la Llave Y, Hening WA. Circadian variation in neuroendocrine response to L-dopa in patients with restless legs syndrome. *Sleep* 2004;27:669–73.
- Giles DE, Jarrett RB, Rush AJ, Biggs MM, Roffwarg HP. Prospective assessment of electroencephalographic sleep in remitted major depression. *Psychiatry Research* 1993;46:269–84.
- Gillin JC, Borbely AA. Sleep: a neurobiological window in affective disorders. *Trends in Neuroscience* 1985;8:537–42.
- Grunstein RR, Handelsman DJ, Lawrence SJ, Blackwell C, Caterson ID, Sullivan CE. Neuroendocrine dysfunction in sleep apnea: reversal by continuous positive airways pressure therapy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1989;68:352–8.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 1960;23:56–62.
- Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *British Journal of Medical Psychology* 1959;32:50–5.
- Hatzinger M, Hemmeter UM, Brand S, Ising M, Holsboer-Trachslers E. Electroencephalographic sleep profiles in treatment course and long-term outcome of major depression: association with DEX/CRH-test response. *Journal of Psychiatric Research* 2004;38:453–65.
- Hauger RL, Datzberg FM. Regulation of the stress response by corticotropin-releasing factor receptors. In: Conn PM, Freeman ME, editors. *Neuroendocrinology in physiology and medicine*. Totowa: Humana Press; 2000. p. 261–87.
- Heuser I, Yassouridis A, Holsboer F. The combined dexamethasone/CRH test: a refined laboratory test for psychiatric disorders. *Journal of Psychiatric Research* 1994;28:341–56.
- Holsboer F, von Bardeleben U, Steiger A. Effects of intravenous corticotrophin releasing hormone upon sleep-related growth hormone surge and sleep EEG in man. *Neuroendocrinology* 1988;48:32–8.
- Hornyak M, Rupp A, Riemann D, Feige B, Berger M, Voderholzer U. Low-dose hydrocortisone in the evening modulates symptom severity in restless legs syndrome. *Neurology* 2008;70:1620–2.
- Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991;14:540–5.
- Keckeis M, Lattova Z, Maurovich-Horvat E, Beiting PA, Birkmann S, Lauer CJ, et al. Impaired glucose Tolerance in sleep disorders. *PLoS ONE* 2010;5. e9444.
- Kimura M, Müller-Preuss P, Lu A, Wiesner E, Flachskamm C, Wurst W, et al. Conditional corticotropin-releasing hormone overexpression in the mouse forebrain enhances rapid eye movement sleep. *Molecular Psychiatry* 2010;15:154–65.
- Kudielka BM, Wüst S. Human models in acute and chronic stress: assessing determinants of individual hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and reactivity. *Stress* 2010;13:1–14.
- Lauer CJ, Riemann D, Wiegand M, Berger M. From early to late adulthood. Changes in EEG sleep of depressed patients and healthy volunteers. *Biological Psychiatry* 1991;29:979–93.

- Leproult R, Copinschi G, Buxton O, Van Cauter E. Sleep loss results in an elevation of cortisol levels the next evening. *Sleep* 1997;20:865–70.
- Meston N, Davies RJO, Mullins R, Jenkinson C, Wass JAH, Stradling JR. Endocrine effects of nasal continuous positive airway pressure in male patients with obstructive sleep apnoea. *Journal of Internal Medicine* 2003;254:447–54.
- Modell S, Yassouridis A, Huber J, Holsboer F. Corticosteroid receptor function is decreased in depressed patients. *Neuroendocrinology* 1997;65:216–22.
- Moldofsky H, Lue FA, Davidson JR, Gorczynski R. Effects of sleep deprivation on human immune functions. *Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 1989;3:1927–77.
- Rechtschaffen A, Kales AA. Manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Los Angeles: Brain Information Service/Brain Research Institute; 1968.
- Reul JM, Holsboer F. Corticotropin-releasing factor receptors 1 and 2 in anxiety and depression. *Current Opinion in Pharmacology* 2002;2:23–33.
- Reynolds III CF, Kupfer DJ. Sleep research in affective illness: state of the art circa 1987. *Sleep* 1987;10:199–215.
- Riemann D, Klein T, Rodenbeck A, Feige B, Horny A, Hummel R, et al. Nocturnal cortisol and melatonin secretion in primary insomnia. *Psychiatry Research* 2002;113:17–27.
- Rodenbeck A, Hajak G. Neuroendocrine dysregulation in primary insomnia. *Revue Neurologique* 2001;157:57–61.
- Rodenbeck A, Huether G, Rütger E, Hajak G. Interactions between evening and nocturnal cortisol secretion and sleep parameters in patients with severe chronic primary insomnia. *Neuroscience Letters* 2002;324:159–63.
- Scheen AJ, Byrne MM, Plat L, Leproult R, Van Cauter E. Relationships between sleep quality and glucose regulation in normal humans. *American Journal of Physiology* 1996;271:E261–70.
- Schilling C, Schredl M, Strobl P, Deuschle M. Restless legs syndrome: evidence for nocturnal hypothalamic-pituitary-adrenal system activation. *Movement Disorders* 2010;25:1047–52.
- Schmoller A, Eberhardt F, Jauch-Chara K, Schweiger U, Zabel P, Peters A, et al. Continuous positive airway pressure therapy decreases evening cortisol concentrations in patients with severe obstructive sleep apnea. *Metabolism Clinical and Experimental* 2009;58:848–53.
- Steiger A, von Bardeleben U, Herth T, Holsboer F. Sleep EEG and nocturnal secretion of cortisol and growth hormone in male patients with endogenous depression before treatment and after recovery. *Journal of Affective Disorders* 1989;16:189–95.
- Steiger A. Neurochemical regulation of sleep. *Journal of Psychiatric Research* 2007;41:537–52.
- Späth-Schwalbe E, Gofferje M, Kern W, Born J, Fehm HL. Sleep disruption alters nocturnal ACTH and cortisol secretory patterns. *Biological Psychiatry* 1991;29:575–84.
- Vazquez-Palacios G, Retana-Marquez S, Bonilla-Jaime H, Velazquez-Moctezuma J. Further definition of the effect of corticosterone on the sleep-wake pattern in the male rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2001;70:305–10.
- Vgontzas AN, Bixler EO, Lin HM, Prolo P, Mastorakos G, Vela-Bueno A, et al. Chronic insomnia is associated with nyctohemeral activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: clinical implications. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001;86:3787–94.
- Vgontzas AN, Mastorakos G, Bixler EO, Kales A, Gold PW, Chrousos GP. Sleep deprivation effects on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal and growth axes: potential clinical implications. *Clinical Endocrinology* 1999;51:205–15.
- Vgontzas AN, Pejovic S, Zoumakis E, Lin HM, Bentley CM, Bixler EO, et al. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis activity in obese men with and without sleep apnea: effects of continuous positive airway pressure therapy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007;92:4199–207.
- Von Bardeleben U, Holsboer F. Effect of age on the cortisol response to human corticotropin-releasing hormone in depressed patients pretreated with dexamethasone. *Biological Psychiatry* 1991;29:1042–50.
- Von Treuer K, Norman TR, Armstrong SM. Overnight human plasma melatonin, cortisol, prolactin, TSH, under conditions of normal sleep, sleep deprivation, and sleep recovery. *Journal of Pineal Research* 1996;20:207–14.
- Walters AS, LeBrocq C, Dhar A, Hening W, Rosen R, Allen RP, et al. International Restless Legs Syndrome Study Group. Validation of the international restless legs syndrome study group rating scale for restless legs syndrome. *Sleep Medicine* 2003;4:121–32.
- Weibel L, Follenius M, Spiegel K, Ehrhart J, Brandenberger G. Comparative effect of night and daytime sleep on the 24-hour cortisol secretory profile. *Sleep* 1995;18:549–56.
- Weitzman ED, Nogueira C, Perlow M, Fukushima D, Sassin J, McGregor P, et al. Effects of a prolonged 3 hour sleep wake cycle on sleep stages, plasma cortisol, growth hormone and body temperature in man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1974;38:1018–30.
- Weitzman ED, Zimmerman JC, Czeisler CA, Ronda J. Cortisol secretion is inhibited during sleep in normal man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1983;56:352–8.
- Wetter TC, Collado-Seidel V, Oertel H, Uhr M, Yassouridis A, Trenkwalder C. Endocrine rhythms in patients with restless legs syndrome. *Journal of Neurology* 2002;249:146–51.
- Wolever TM, Jenkins DJ. The use of the glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1986;43:167–72.
- Yehuda R. Status of glucocorticoid alterations in post-traumatic stress disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2009;1179:56–69.

PŘÍLOHA Č. 4

Narcolepsy and pregnancy: a retrospective European evaluation of 249 pregnancies

Narcolepsy and pregnancy: a retrospective European evaluation of 249 pregnancies

ESZTER MAUROVICH-HORVAT¹, DAVID KEMLINK¹, BIRGIT HÖGL², BIRGIT FRAUSCHER², LAURA EHRMANN², PETER GEISLER³, KATHARINA ETTENHUBER³, GEERT MAYER⁴, ROSA PERAITA-ADRADOS⁵, ELENA CALVO⁵, GERT JAN LAMMERS⁶, ASTRID VAN DER HEIDE⁶, LUIGI FERINI-STRAMBI⁷, GIUSEPPE PLAZZI⁸, FRANCESCA POLI⁸, YVES DAUVILLIERS⁹, POUL JENNUM¹⁰, HELLE LEONTHIN¹⁰, JOHANNES MATHIS¹¹, ALEKSANDRA WIERZBICKA¹², FRANCISCO J. PUERTAS¹³, PIERRE A. BEITINGER¹⁴, ISABELLE ARNULF¹⁵, RENATA L. RIHA¹⁶, MARIA TORMÁŠIOVÁ¹⁷, JANA SLONKOVÁ¹⁸, SONA NEV ŠÍMALOVÁ¹ and KAREL ŠONKA¹ ON BEHALF OF THE EUROPEAN NARCOLEPSY NETWORK

¹Department of Neurology and Center of clinical Neuroscience, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Prague, Czech Republic, ²Department of Neurology, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria, ³Department of Psychiatry and Psychotherapy, University Medical Center, Regensburg, Germany, ⁴Hephata-Klinik, Schwalmstadt-Treysa, Germany, ⁵Sleep and Epilepsy Unit-Clinical Neurophysiology Department, Gregorio Marañón University Hospital, Madrid, Spain, ⁶Department of Neurology, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands, ⁷Sleep Disorders Center, Università Vita-Salute San Raffaele, Milan, Italy, ⁸Department of Neurological Sciences, IRCSS Istituto di Scienze Neurologiche, University of Bologna, Bologna, Italy, ⁹Reference Center for Narcolepsy, Hôpital Gui-de-Chauliac, INSERM U1061, Montpellier, France, ¹⁰Danish Center for Sleep Medicine, Glostrup Hospital and Center of Healthy Aging, University of Copenhagen, Glostrup, Denmark, ¹¹Department of Neurology, Inselspital, Bern University Hospital, University of Bern, Bern, Switzerland, ¹²Department of Clinical Neurophysiology, Institute of Psychiatry and Neurology, Warsaw, Poland, ¹³Sleep Disorders Unit, University Hospital La Ribera, Alzira, Spain, ¹⁴Max Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany, ¹⁵Reference Center for Narcolepsy, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France, ¹⁶Sleep and Respiratory Medicine, Royal Infirmary Edinburgh, University of Edinburgh, Edinburgh, UK, ¹⁷Department of Neurology, Faculty of Medicine, P.J. Šafárik University, Košice, Slovakia and ¹⁸Department of Neurology, Faculty Hospital, Ostrava, Czech Republic

Keywords

cataplexy, delivery, metabolism, newborn, pregnancy, puerperium

Correspondence

Karel Šonka MD, DSc, Department of Neurology and Center of Clinical Neuroscience, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Katerínska 30, Praha 2, Prague, Czech Republic.
Tel.: +420 224965550;
fax: +420 224922678;
e-mail: ksonka@lf1.cuni.cz

Accepted in revised form 28 January 2013;
received 8 April 2012

DOI: 10.1111/jsr.12047

SUMMARY

In a retrospective cohort study undertaken in 12 European countries, 249 female narcoleptic patients with cataplexy ($n = 216$) and without cataplexy ($n = 33$) completed a self-administrated questionnaire regarding pregnancy and childbirth. The cohort was divided further into patients whose symptoms of narcolepsy started before or during pregnancy (308 pregnancies) and those in whom the first symptoms of narcolepsy appeared after delivery (106 pregnancies). Patients with narcolepsy during pregnancy were older during their first pregnancy ($P < 0.001$) and had a higher body mass index (BMI) prior to pregnancy ($P < 0.01$). Weight gain during pregnancy was higher in narcoleptic patients with cataplexy ($P < 0.01$). More patients with narcolepsy–cataplexy during pregnancy had impaired glucose metabolism and anaemia. Three patients experienced cataplexy during delivery. The rate of caesarean sections was higher in the narcolepsy–cataplexy group compared to the narcolepsy group ($P < 0.05$). The mean birth weight and gestational age of neonates were within the normal range and did not differ across groups. Neonatal care was affected adversely by symptoms of narcolepsy in 60.1% of those with narcolepsy during pregnancy. This study reports more obstetric complications in patients with narcolepsy–cataplexy during pregnancy; however, these were not severe. This group also had a higher BMI and higher incidence of impaired glucose

metabolism during pregnancy. Caesarian section was conducted more frequently in narcolepsy–cataplexy patients, despite cataplexy being a rare event during delivery. Furthermore, symptoms of narcolepsy may render care of the infant more difficult.

INTRODUCTION

Narcolepsy is a rare, disabling and chronic sleep condition, affecting 0.02–0.18% of the population in western European countries and the United States (Longstreth *et al.*, 2007). It is characterized by excessive daytime sleepiness (EDS). Cataplexy (a sudden loss of postural tone when awake) divides the disease into two nosological entities: narcolepsy with cataplexy (NC, 70–90% patients) and narcolepsy without cataplexy (N). Low cerebrospinal fluid (CSF) hypocretin-1 levels, caused by selective loss of hypocretin (orexin)-producing neurones in the prefrontal hypothalamus due to possible autoimmune mechanisms, are reported in 95% of NC patients (Baumann and Bassetti, 2005). In addition to their crucial role as regulators of sleep and wakefulness, hypocretin neurones have been shown to play an important role in energy homeostasis. Narcolepsy occurs as frequently in women as in men. In most cases, the age of onset is between 15 and 40 years, thereby affecting many women in their childbearing years.

Narcolepsy patients often require daily medication to control EDS and cataplexy. Many of these drugs are designated Class C in pregnancy, and there are no published data regarding their effect on the developing fetus or neonates. Prematurity, low birth weight and withdrawal symptoms have been reported in infants born to women taking amphetamines for recreational purposes or as part of an addiction disorder, but no reports exist in the context of narcolepsy (Littner *et al.*, 2001). Indeed, how pregnancy affects the course of narcolepsy (and vice versa) is poorly documented and researched.

Data about multiple sclerosis, another autoimmune disease of the brain, have shown no association with adverse pregnancy or birth outcomes (Jalkanen *et al.*, 2010; van der Kop *et al.*, 2011) but, conversely, pregnancy influences the course of the disease: the relapse rate is typically reduced during late pregnancy and increased in the postpartum period (Confavreux *et al.*, 1998; Saraste *et al.*, 2007).

Except for one small case-series (Maurovich-Horvat *et al.*, 2010), only two case reports and two guideline papers have been published on narcolepsy and pregnancy. In the first case report, Ping *et al.* (2007) reported a 32-year-old Chinese woman with NC who developed status cataplecticus during childbirth, requiring an emergency caesarean delivery. Williams *et al.* (2008) described a pregnant patient with glutaric aciduria type II and narcolepsy, who underwent elective delivery at term to avoid cataplexy during labour. The reviews devoted to pregnancy in narcolepsy by Hoover-Stevens and Kovacevic-Ristanovic (2000) and Hoque and

Chesson (2008) are expert opinion papers with no patient cohort data or any case report experience.

Only one study to date has reviewed narcoleptic women retrospectively, and shown a significantly higher total number of (not severe) pregnancy complications in women in whom narcolepsy symptoms started before pregnancy compared to women who developed symptoms after delivery (Maurovich-Horvat *et al.*, 2010). The main limitation of the study was the small sample size from two Czech and one Slovak sleep centres.

This European multi-centre study aimed to collate information on pregnancy, childbirth and the puerperium in narcoleptic women, with and without cataplexy, and symptom onset before or after pregnancy. Our hypothesis was that women with narcolepsy and cataplexy at the time of pregnancy would have more difficult pregnancies and experience more complications during labour.

METHODS

The study was conducted in 16 European sleep centres in Austria, the Czech Republic, Denmark, France, Germany, Italy, the Netherlands, Poland, Slovakia, Spain, Switzerland and the United Kingdom.

To explore the number and course of pregnancies in enrolled patients, current treatments for narcolepsy and possible complications, a questionnaire was compiled in English (Appendix 1). Participating sleep centres subsequently translated it into local languages, as required, and it was distributed to NC and N female patients by mail or during routine outpatient visits. Participating centres also provided further information on patients' diagnoses. Information was anonymized and data were entered into a dedicated database. The study was approved by Institutional Review Boards in the Austrian and German sleep centres. Specific ethical approval was not required in the other participating countries.

Patients were diagnosed according to the American Academy of Sleep Medicine criteria (American Academy of Sleep Medicine, 2005) by participating centres. Using all collated questionnaires, the same parameters were compared between the N and NC groups, symptomatic women (whose symptoms of narcolepsy started before or during pregnancy) and asymptomatic women (in whom the first symptoms of narcolepsy appeared after delivery), and between NC symptomatic patients and NC asymptomatic patients. Comparison between symptomatic and asymptomatic N patients was not possible, due to the limited number of N patients.

Patients who gave birth prior to the first appearance of narcoleptic symptoms had the details of that particular pregnancy/pregnancies and their experiences classified under the asymptomatic group. If they subsequently carried a diagnosis of narcolepsy and became pregnant, the details of this next pregnancy/pregnancies were classified under the symptomatic groups.

We have no information about the onset of narcolepsy in five women (information on seven children). These latter data were used only when comparing NC versus N patients (and not symptomatic versus asymptomatic). Because the response rates and the absolute numbers for each questions differed, we have indicated in the tables accompanying the text where response rates have fallen below 75% of the number of women surveyed.

Statistical analysis

To compare continuous variables, we used Student's *t*-test for normally distributed data and the Mann–Whitney *U*-test for non-normally distributed variables. Normal distribution was tested using the Shapiro–Wilk's test. The chi-square statistic and Fisher's exact test were used to compare discrete variables. Statistics controlled for age were performed by analysis of covariance (ANCOVA), using the age as covariate. Statistical significance was taken at $P < 0.05$ and all tests were two-tailed.

RESULTS

Participants

In total, 458 questionnaires were sent out to patients attending the centres, of which 310 were returned (68% response rate). Of these, 61 were completed inadequately, leaving 249 questionnaires for analysis.

The mean age of respondents was 49.1 ± 14.9 [standard deviation (SD)] years. The diagnostic criteria for NC and for N were met by 216 and 33 patients, respectively.

In the NC group, HLA status was available for 144 subjects, with 93.1% being human leucocyte antigen (HLA) DQB1*06:02-positive. In the N group, HLA status was available for 18 subjects, with 72.2% being HLA DQB1*06:02-positive. The NC and N patients reported a total of 421 pregnancies and 426 children, respectively, with five pairs of twins.

We did not find any differences between the NC and N groups in terms of age at first pregnancy, age of narcolepsy onset, time between first pregnancy and first symptom onset, time between first pregnancy and participation in the study. Symptomatic and NC symptomatic patients were younger when the questionnaire was completed and at narcolepsy onset, and older at the time of first pregnancy, irrespective of whether or not cataplexy was present, compared to their asymptomatic counterparts (Table 1).

			P			P	NC		P
	NC	N		Sympt	Asympt		Sympt	Asympt	
Total number of patients	216	33	–	176	68	–	155	56	–
Total number of pregnancies	366	55	–	308	106	–	273	86	–
Total number of children	371	55	–	311	108	–	276	88	–
Age at the first pregnancy (years)	26.9 ± 6.4	24.6 ± 7.5	NS	28.1 ± 6.5	22.9 ± 5.3	<0.001	28.2 ± 6.6	23.3 ± 4.4	<0.001
Age of narcolepsy onset (years)	22.0 ± 10.2	22.8 ± 11.8	NS	17.1 ± 5.6	34.4 ± 9.8	<0.001	17.3 ± 5.7	34.4 ± 9.7	<0.001
Years between first pregnancy and symptom onset	4.7 ± 13.3	1.3 ± 14.6	NS	10.8 ± 8.4	-11.9 ± 14.3	–	10.8 ± 8.7	-11.5 ± 9.3	–
Years between first pregnancy and assessment	21.5 ± 16.4	25.4 ± 14.4	NS	18.9 ± 16.2	30.0 ± 13.0	<0.001	18.5 ± 16.4	29.8 ± 13.1	<0.001
Current age (years)	48.9 ± 15.1	50.3 ± 13.6	NS	47.3 ± 15.4	52.9 ± 12.3	<0.05	47 ± 15.5	53.1 ± 12.4	<0.01

NC, group of patients with diagnosis of narcolepsy with cataplexy; N, group of patients with diagnosis of narcolepsy without cataplexy; Sympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared before or during pregnancy; Asympt, group of patients, in whom the first symptoms of narcolepsy appeared after pregnancy; NS, non-significant, $P > 0.05$; Bold value indicates significance.

Pregnancy

There were no significant differences across groups in the percentage of patients with one or more abortions before pregnancy, in the number of pregnancies preceded by abortion (spontaneous or induced) and in the number of pregnancies preceded by spontaneous abortion (Table 2).

Patients in the symptomatic and NC symptomatic groups had a higher body mass index (BMI) prior to pregnancy ($P < 0.001$). The weight increase during pregnancy was significantly higher in the NC group than in the N group ($P < 0.01$), but the BMI before delivery showed no intergroup differences. Before delivery and 1 year after delivery, the BMI was higher in the symptomatic than in the asymptomatic groups ($P < 0.05$, $P < 0.001$), mirrored in the NC, symptomatic and NC asymptomatic groups ($P < 0.05$, $P < 0.001$) (Table 2). As the patients in the symptomatic and NC symptomatic groups were older, on average, we carried out the same analysis controlling for age, but the results remained the same.

Smaller proportions of women in the symptomatic and NC symptomatic groups smoked during pregnancy compared to the asymptomatic group.

Medication for narcolepsy was used during 29 pregnancies in the NC group (11.9%) and two pregnancies in the N group (7.7%). Of the total number of women surveyed, 150 stated that they did not use any medication throughout their pregnancies and 75 were missing responses.

In the NC patient group, medication was taken during the first trimester in 19 pregnancies, with continued use into the second trimester in two pregnancies. In five pregnancies, medications were used throughout the entire pregnancy. Medications used during pregnancy by women in the NC group were as follows: modafinil (twelve pregnancies), methylphenidate (six pregnancies), clomipramin (three pregnancies), phenmetrazine (three pregnancies), phenterminum resinatatum (two pregnancies), sodium oxybate (one pregnancy), amphetamine (one pregnancy), fluoxetine (one pregnancy) and phendimetrazine (one pregnancy). Two mothers in the N group used modafinil during their respective single pregnancies. There was no difference in complication rates within the groups between those using and not using medication.

The NC symptomatic group had significantly more pregnancies with one or more complications than the NC asymptomatic group ($P < 0.001$). The prevalence of anaemia during pregnancy was significantly higher in NC patients than in N patients, in the symptomatic than in the asymptomatic groups and in the NC symptomatic than the NC asymptomatic groups ($P < 0.05$). Impaired glucose metabolism during pregnancy (gestational diabetes mellitus or impaired glucose tolerance) was more frequent in the NC symptomatic group ($P < 0.05$) (Table 3). No patients reported type 1 or type 2 diabetes mellitus prior to pregnancy.

From expectant NC and N mothers not using medication, 5.8% experienced an improvement in the severity of their sleep attacks during their first trimester, 61.4% experienced

no change and 32.8% had a worsening of their sleep attack. During the second trimester, improvement in the severity of sleep attacks was reported in 16.8% of the pregnancies, no change in 57.3% and a worsening in 25.9%. During the third trimester, improvement in sleep attack severity was experienced by 9.6% of expectant mothers, no changes in 53.9% and worsening in 36.5%.

Patients who withdrew from medication during the first trimester of pregnancy admitted to no change in the severity of sleepiness in 40.1% case, a worsening in 40.1% and an improvement in 18.2% cases. Information about the severity and frequency of other symptoms of narcolepsy during pregnancy were insufficiently documented to undertake meaningful analyses.

Delivery

The World Health Organization (WHO) defines the normal term for delivery as between 37 and 42 weeks (<http://data.euro.who.int/hfadb/>). The average duration of gestation was normal for all groups, and the difference between the individual groups was not significant (Table 4). Pregnancies were shorter than 37 weeks in 12.6% of NC, in 5.0% of N, in 13.3% of symptomatic groups and in 7% of asymptomatic groups, respectively. Normal gestation was exceeded in 8% pregnancies in NC women, 0% in N women, 7% in symptomatic and 1% in asymptomatic women. No differences across groups were found in the prevalence of induced delivery and spontaneous delivery. We have no information about the influence of medication on delivery. The most common reason for inducing labour across all groups was overdue delivery (33 pregnancies) and fetal distress (11 pregnancies). In three cases, labour was induced on account of a diagnosis of narcolepsy; in one case, fear of cataplexy was the reason. In the NC group, significantly more patients underwent caesarian section than in the N group ($P < 0.05$), the most common reasons being fetal distress, prolonged delivery, breech birth, failed induction of labour or the caesarian section was planned due to obstetric complications (placental problems, overly large or small baby, umbilical cord abnormalities, multiple births, hypertension, heart disease, injuries in the pelvic area, etc.). A diagnosis of narcolepsy was cited as the reason for caesarian section in two cases. Additionally, in five cases, a caesarian section was performed out of concern for possible cataplexy. Of those latter five women, three were medication-free throughout pregnancy, one was on clomipramine throughout her pregnancy and one used modafinil and citalopram in the first trimester.

Three patients reported cataplexy during delivery (0.9% of NC pregnancies). In all cases, childbirth started spontaneously. In one case a forceps delivery was performed and one baby was born by caesarean section. Of these three women, one had used modafinil and clomipramin in the first trimester.

No differences were found across groups for complications during or after delivery (bleeding, fetal distress, etc.), or for

Table 2 Characteristics of patients and their pregnancies

	NC		N		P (P*)		Asympt		P (P*)		NC	
	Sympt	Asympt	Sympt	Asympt	Sympt	Asympt	Sympt	Asympt	Sympt	Asympt	Sympt	Asympt
Patients with one or more abortions before pregnancy (%)	26.4	12.1	NS	26	20.9	NS	27.6	23.6	NS	27.6	23.6	NS
Number of pregnancies preceded by abortion	54	14	NS	69	5	NS	58	15	NS	58	15	NS
Number of pregnancies preceded by spontaneous abortion	43	3	NS	37	9	NS	34	9	NS	34	9	NS
BMI before pregnancy	23.4 ± 4.2	24.0 ± 3.4	NS (NS)	23.9 ± 4.5	22.4 ± 2.7	<0.01 (<0.05)	24.0 ± 4.6	22.1 ± 2.6	<0.01 (<0.01)	24.0 ± 4.6	22.1 ± 2.6	<0.01 (<0.01)
Weight increase during pregnancy (%)	25.1 ± 15.4	17.6 ± 8.5	<0.001 (<0.01)	23.7 ± 14.4	25.8 ± 16.7	NS (NS)	24.4 ± 15	27.6 ± 17.1	NS (NS)	24.4 ± 15	27.6 ± 17.1	NS (NS)
BMI before delivery	29.1 ± 5.5	28.1 ± 4.3	NS (NS)	29.3 ± 5.5	28.1 ± 5.0	<0.05 (<0.01)	29.5 ± 5.6	28.1 ± 5.1	<0.05 (<0.001)	29.5 ± 5.6	28.1 ± 5.1	<0.05 (<0.001)
BMI 1 year after delivery	25.2 ± 5.4	24.8 ± 4.3	NS (NS)	26.0 ± 5.7	23.3 ± 3.5	<0.001 (<0.001)	26.0 ± 5.8	23.2 ± 3.5	<0.001 (<0.001)	26.0 ± 5.8	23.2 ± 3.5	<0.001 (<0.001)
Smoking during pregnancy (%)	23.4	1.1	NS	17.3	34.0	<0.01	19.3	35.5	<0.01	19.3	35.5	<0.01

NC, group of patients with diagnosis of narcolepsy with cataplexy; N, group of patients with diagnosis of narcolepsy without cataplexy; Sympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared before or during pregnancy; Asympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared after pregnancy; BMI, body mass index; NS, non-significant; P > 0.05; P*, age at birth adjusted P-value. Bold value indicates significance.

Table 3 Complications during pregnancy

	NC	N	P	Sympt	Asympt	P	NC		
							Sympt	Asympt	P
Pregn. with at least one complication (%)	32.2	29.6	NS	33.5	24.4	NS	34.7	20.6	<0.001
Lower limb oedema (%)	13.3	7.5*	NS	14.2	7.1	NS	14.9	7.3	NS
Anemia (%)	10.3	2.6 [†]	<0.05	10.7*	2.4	<0.05	11.5	2.9	<0.05
Impaired glucose metabolism (%)	4.8*	9.8	NS	6.8*	2.3	NS	6.4*	0	<0.05
Hypertension (%)	6.5*	7.9 [†]	NS	5.7*	9.6	NS	5.9*	8.7	NS

NC, group of patients with diagnosis of narcolepsy with cataplexy; N, group of patients with diagnosis of narcolepsy without cataplexy; Sympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared before or during pregnancy; Asympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared after pregnancy; NS, non-significant, $P > 0.05$; Bold value indicates significance.
 *Responder rate between 70.0 and 74.9%.
[†]Responder rate between 69.9 and 65.0%.

Table 4 Characteristics of deliveries

	NC	N	P	Sympt	Asympt	P	NC		
							Sympt	Asympt	P
Duration of pregnancy (weeks)	38.4 ± 6.4	38.0 ± 6.6 [†]	NS	38.2 ± 6.8	38.8 ± 5.0 [†]	NS	38.3 ± 6.7	38.8 ± 5.3*	NS
Spontaneous delivery (%)	69.8	69.1	NS	72.7	63.6	NS	72.8	63.6	NS
Induced delivery (%)	27.5	29.1	NS	25.1	33.3	NS	25.0	32.9	NS
Caesarian section (%)	18.9	6.1	<0.05	17.6	13.4	NS	18.9	15.4	NS
Cataplexy during delivery (%)	0.9	NA	NS	1.1	NA	NA	1.2	NA	NS

NC, group of patients with diagnosis of narcolepsy with cataplexy; N, group of patients with diagnosis of narcolepsy without cataplexy; Sympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared before or during pregnancy; Asympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared after pregnancy; NA, not available; NS, non-significant, $P > 0.05$; Bold value indicates significance.
 *Respondent rate between 70.0 and 74.9%.
[†]Respondent rate between 69.9 and 65.0%.

complications regarding the fetus/newborn (suffocation, amniotic fluid aspiration, umbilical cord around the neck, etc.). The most common cause for resuscitation (23 cases) was asphyxia (eight cases).

One baby died during spontaneous delivery in the 42nd week of pregnancy. The 25-year-old mother (NC symptomatic) had a normal pregnancy and used no medication for narcolepsy throughout. No further details are known about this death.

Newborns

The weight and length of the babies fell within the normal range (3426.5 ± 589.8 g, 50.7 ± 2.8 cm), and did not differ significantly across groups. Fifty-five per cent of the babies were boys, 45% girls, with the sex distribution showing no intergroup differences. The most common neonatal complication after delivery was jaundice (11.8%).

There was only one severe complication involving a neonate who experienced asphyxia during labour at 43 weeks. This resulted in psychomotor retardation. The cause of asphyxia was not clear. The NC mother was 35 years old, the pregnancy was uneventful and she did not

take any medication, smoke or consume alcohol throughout pregnancy.

Puerperium

Mothers in the symptomatic groups breastfed children more frequently than in the asymptomatic group ($P < 0.05$). Furthermore, more children of the symptomatic and NC symptomatic mothers were breastfed for longer than 1 year ($P < 0.005$) (Table 5).

However, significantly more symptomatic women received psychological treatment because of symptoms such as sadness, fatigue, insomnia, appetite changes, crying episodes, anxiety or irritability during the months following childbirth ($P < 0.05$), although this result may have a limited value due to the low response rate for this question (Table 6). Five women (three in the NC symptomatic group, one in the symptomatic group and one in the asymptomatic group) reported depression prior to pregnancy, but none of them took any antidepressants as expectant mothers.

The baby care was influenced by at least one symptom of narcolepsy in 60.1% of the symptomatic group and 14.1% of

Table 5 Duration of breastfeeding among narcoleptic women

	NC	N*	P	Sympt	Asympt*	P	NC		
							Sympt	Asympt	P
Breastfeeding (%)	77.0	63.9	NS	78.5	67.1	<0.05	79.7	69.1	NS
Breastfeeding until 6th month (%)	48.0	41.7	NS	47.0	49.4	NS	47.8	50.0	NS
Breastfeeding until 12th month (%)	19.9	13.9	NS	19.8	16.5	NS	19.8	19.2	NS
Breastfeeding exceeding 12th month (%)	9.1	8.3	NS	11.7	1.3	<0.01	12.2	0	<0.01

NC, group of patients with diagnosis of narcolepsy with cataplexy; N, group of patients with diagnosis of narcolepsy without cataplexy; Sympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared before or during pregnancy; Asympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared after pregnancy; NS, non-significant, $P > 0.05$; Bold value indicates significance.

*Respondent rate between 70.0 and 74.9%.

Table 6 Psychological problems during puerperium

	NC [†]	N [‡]	P	Sympt [†]	Asympt [†]	P	NC		
							Sympt*	Asympt [†]	P
Managed the problems alone (%)	83.7	72.7	NS	80.8	93.6	<0.05	81.5	94.8	<0.05
Thought of finding a specialist, but never did (%)	12.1	18.2	NS	15.0	3.2	NS	14.4	3.5	NS
Under psychiatric care (%)	4.3	9.1	NS	4.2	3.2	<0.05	4.1	1.7	<0.05

NC, group of patients with diagnosis of narcolepsy with cataplexy; N, group of patients with diagnosis of narcolepsy without cataplexy; Sympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared before or during pregnancy; Asympt, group of patients in whom the first symptoms of narcolepsy appeared after pregnancy; NS, non-significant, $P > 0.05$; Bold value indicates significance.

*Respondent rate between 70.0 and 74.9%.

[†]Respondent rate between 69.9 and 55.0%.

[‡]Respondent rate between 54.9 and 40.0%.

the asymptomatic group admitted excessive daytime sleepiness. Women in the symptomatic and NC symptomatic groups had problems due to excessive daytime sleepiness at a rate of 46.9 and 47.3%, respectively, followed by sleep attacks during feeding or nursing (33.9 and 34.3%), fear of being impaired by any of their narcoleptic symptoms (14 and 13%), cataplexy while holding the baby (12 and 14%) and automatic behaviour while nursing or travelling (6 and 0%).

DISCUSSION

This is the first detailed multi-centre questionnaire study providing information on pregnancy, delivery, childbirth and the puerperium in a large number of narcoleptic women. We also confirmed our hypothesis that women with NC at the time of their pregnancy suffered a higher rate of pregnancy-related complications than those who did not, but there was no increase in significant problems in labour or throughout the puerperium.

Pre-pregnancy and pregnancy

Spontaneous abortions occur in 10–15% of clinically recognized pregnancies, and it is well established that women with certain autoimmune conditions have a high frequency of fetal

wastage (Faussett and Branch, 2000). This was not observed in our groups, but it should be borne in mind that the autoimmune process in NC may be time-limited.

Patients in the symptomatic groups had a higher BMI prior to pregnancy ($P < 0.01$), before delivery ($P < 0.05$) and 1 year after delivery ($P < 0.001$) compared to patients in the asymptomatic groups. This observation is in line with earlier studies if we were to loosely consider the asymptomatic groups as controls (Schuld *et al.*, 2002).

The percentage weight increase during pregnancy was significantly higher in the NC group than in the N group ($P < 0.001$), but the BMI before pregnancy and 1 year after delivery did not differ between these two groups. This latter findings contradict a study by Sonka *et al.* (2010), showing a higher BMI in NC patients versus the N patients. However, Sonka *et al.*'s study included men; furthermore, patients in N and NC groups were younger in our study both before pregnancy and 1 year after delivery than patients in the study published by Sonka *et al.* The reasons for the greater weight increase in NC pregnant women are unclear.

Unsurprisingly, the majority of women in our study did not use medication for narcolepsy during pregnancy. Importantly, and interestingly, neither patients nor physicians reported any adverse side effects or outcomes related to ongoing medication use throughout the reported pregnancies.

In terms of maternal complications during pregnancy, the NC symptomatic group had a significantly higher prevalence of anaemia and impaired glucose metabolism ($P < 0.05$), among other complications, than the NC asymptomatic group. Not surprisingly, the higher prevalence of impaired glucose metabolism in the NC symptomatic group during pregnancy was associated most probably with the higher recorded BMI. Hypocretin deficiency may, hypothetically, contribute to metabolic dysregulation; however, recent studies do not confirm increased prevalence of impaired glucose tolerance or diabetes mellitus in non-pregnant narcoleptic patients (Beitinger *et al.*, 2012; Engel *et al.*, 2011).

The WHO estimates that 18% of women from the industrialized countries become anaemic during pregnancy (World Health Organization (WHO), 1992). The prevalence of anaemia during pregnancy was higher in the NC and symptomatic groups; there did not appear to be any documented reason for this.

Narcolepsy and pregnancy

Regarding the narcoleptic symptoms during pregnancy, the majority of women who did not receive any medication reported little change in the severity of their sleep attacks. Severity trend of excessive daytime sleepiness appeared unrelated to the stage of the pregnancy. However, the data from our questionnaires preclude any generalization as to the kind of fluctuation in the course of pregnancy.

Delivery

Contrary to expectation (Hoque and Chesson, 2008), only three patients were documented to experience cataplexy during delivery in our group. Thus, the frequency of cataplectic attacks throughout pregnancy may not necessarily translate to an increased risk of cataplexy during delivery.

In European Union (EU) countries, the rate of caesarian section increased from 6.9% in 1999 to 31.5% in 2007 (<http://data.euro.who.int/hfad/b/>). In our study, women with NC underwent statistically significantly more caesarian sections than women without cataplexy. The higher elective caesarian rate for narcoleptic women may be attributable to potentially unwarranted wariness on behalf of obstetricians (Williams *et al.*, 2008).

Newborns

Babies born to mothers with N and NC did not have more complications requiring resuscitation during delivery, and their weight and length were within the normal range.

Puerperium

The last survey on breastfeeding in Europe in 2000 revealed that the average number of infants breastfed to 3 months was 65.4% and to 6 months was 53.5% (<http://data.euro.who.int/hfad/b/>).

From our data, neither cataplexy nor sleepiness placed any limitations on breastfeeding. Although the evidence is currently sketchy, patients who wish to return to taking their medications are still advised to give up breastfeeding. Estimates of postpartum depression in the general population range from 6.5% to more than 12% in western countries (Gaynes *et al.*, 2005). In our symptomatic groups, significantly more patients received formal psychological treatment than in the asymptomatic groups after delivery ($P < 0.05$). This is of interest, because depression is present in a significantly higher proportion in narcoleptics than in people without narcolepsy (Dauvilliers *et al.*, 2009; Jara *et al.*, 2011).

Because our study did not contain more detailed questions regarding postpartum depression, we cannot determine the prevalence of subclinical and clinical depression. However, one of the most pertinent findings in our study was the restriction that narcolepsy symptoms placed on the care of the infant. In the symptomatic groups, more than half the patients reported some difficulties coping with their baby. As expected, the main concerns centered on EDS, followed by sleep attacks during feeding or nursing.

Even patients in the asymptomatic group reported excessive daytime sleepiness, which corresponds with the data published by Montgomery-Downs *et al.* (2010), which show that in non-narcoleptic mothers, severe sleep disturbances may occur during the first 3 postpartum months, causing increased sleepiness which may complicate child care.

Limitations of the study

The limitations of this questionnaire-based study are centred largely on the rate of response, the possibility of recall bias and the heterogeneity inherent in pan-European medical practice. Although it is impossible to control for all biases, perhaps the strongest argument arises from the fact that because pregnancy and delivery are such milestone events in the life of a woman, precise age-independent memory recall is very likely to be high. Additionally, with a low incidence and prevalence of narcolepsy itself, retrospective cohort studies are more feasible within a shorter time-scale and form the basis of most clinical studies in this area. Finally, twice-matched controls (age and age of delivery) were difficult to obtain in this study, and it is hoped that patients asymptomatic at the time of their pregnancy act loosely as a valid comparative population.

CONCLUSION

Our data suggest that women with narcolepsy have pregnancy outcomes comparable to the women in general population. Because only a small percentage of the women used medication during their pregnancy, there are insufficient safety data and no firm conclusions can be drawn from our reported observations. Additionally, women with narcolepsy may require more psychological and practical child-care

support from families during the postpartum period. Overall, our findings are positive: pregnancy should not be discouraged in narcoleptics.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to all the patients who participated in this study. E.M.H., D.K., S.N. and K.Š. were supported by the Czech Ministry of Health grant IGA NT 13238-4/2012 and by Charles University grant PRVOUK-P26/LF1/4.

REFERENCES

- American Academy of Sleep Medicine *International Classification of Sleep Disorders: Diagnostic and Coding Manual*, 2nd edn. American Academy of Sleep Medicine, Westchester, IL, 2005.
- Baumann, C. R., Bassetti, C. L. Hypocretins (orexins): clinical impact of the discovery of a neurotransmitter. *Sleep Med. Rev.*, 2005, 9: 253–268.
- Beitinger, P. A., Fulda, S., Dalal, M. A. *et al.* Glucose tolerance in patients with narcolepsy. *Sleep*, 2012, 35: 231–236.
- Confavreux, C., Hutchinson, M., Hours, M. M., Cortinovis-Tournaire, P., Moreau, T. Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. Pregnancy in Multiple Sclerosis Group. *N. Engl. J. Med.*, 1998, 339: 285–291.
- Dauvilliers, Y., Paquereau, J., Bastuji, H., Drouot, X., Weil, J. S., Viot-Blanc, V. Psychological health in central hypersomnias: the French Harmony study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 2009, 80: 636–641.
- Engel, A., Helfrich, J., Manderscheid, N. *et al.* Investigation of insulin resistance in narcoleptic patients: dependent or independent of body mass index? *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, 2011, 7: 351–356.
- Faussett, M. B., Branch, D. W. Autoimmunity and pregnancy loss. *Semin. Reprod. Med.*, 2000, 18: 379–392.
- Gaynes, B. N., Gavin, N., Meltzer-Brody, S. *et al.* Perinatal depression: prevalence, screening accuracy, and screening outcomes. *Evid. Rep. Technol. Assess. (Summ.)*, 2005, 119: 1–8.
- Hoover-Stevens, S., Kovacevic-Ristanovic, R. Management of narcolepsy in pregnancy. *Clin. Neuropharmacol.*, 2000, 23: 175–181.
- Hoque, R. and Chesson, A. L. Jr. Conception, pregnancy, delivery, and breastfeeding in a narcoleptic patient with cataplexy. *J. Clin. Sleep Med.*, 2008, 4: 601–603. Available at: <http://data.euro.who.int/hfad/b/>.
- Jalkanen, A., Alanen, A., Airas, L. Pregnancy outcome in women with multiple sclerosis: results from a prospective nationwide study in Finland. *Mult. Scler.*, 2010, 16: 950–955.
- Jara, C. O., Popp, R., Zulley, J., Hajak, G., Geisler, P. Determinants of depressive symptoms in narcoleptic patients with and without cataplexy. *J. Nerv. Ment. Dis.*, 2011, 199: 329–334.
- van der Kop, M. L., Pearce, M. S., Dahlgren, L. *et al.* Neonatal and delivery outcomes in women with multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 2011, 70: 41–50.
- Littner, M., Johnson, S. F., McCall, W. V. *et al.* Practice parameters for the treatment of narcolepsy: an update for 2000. *Sleep*, 2001, 24: 451–466.
- Longstreth, W. T. Jr, Koepsell, T. D., Ton, T. G., Hendrickson, A. F., van Belle, G. The epidemiology of narcolepsy. *Sleep*, 2007, 30: 13–26.
- Maurovich-Horvat, E., Tormasiova, M., Slonkova, J. *et al.* Assessment of pregnancy outcomes in Czech and Slovak women with narcolepsy. *Med. Sci. Monit.*, 2010, 16: SR35–SR40.
- Montgomery-Downs, H. E., Insana, S. P., Clegg-Kraynok, M. M. and Mancini, L. M. Normative longitudinal maternal sleep: the first 4 postpartum months. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2010, 203: 465–e461.
- Ping, L. S., Yat, F. S., Kwok, W. Y. Status cataplecticus leading to the obstetric complication of prolonged labor. *J. Clin. Sleep Med.*, 2007, 3: 56–57.
- Saraste, M., Vaisanen, S., Alanen, A., Airas, L. Clinical and immunologic evaluation of women with multiple sclerosis during and after pregnancy. *Gend. Med.*, 2007, 4: 45–55.
- Schuld, A., Beitinger, P. A., Dalal, M. *et al.* Increased body mass index (BMI) in male narcoleptic patients, but not in HLA-DR2-positive healthy male volunteers. *Sleep Med.*, 2002, 3: 335–339.
- Sonka, K., Kemlink, D., Buskova, J. *et al.* Obesity accompanies narcolepsy with cataplexy but not narcolepsy without cataplexy. *Neuroendocrinol. Lett.*, 2010, 31: 631–634.
- Williams, S. F., Alvarez, J. R., Pedro, H. F., Apuzzio, J. J. Glutaric aciduria type II and narcolepsy in pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, 2008, 111: 522–524.
- World Health Organization (WHO). *The Prevalence of Anaemia in Women: A Tabulation of Available Information*. WHO, Geneva, 1992.

APPENDIX 1.

Appendix. Distribution of questionnaires among participating countries			
Country	Distributed questionnaires	Returned questionnaires	Accepted questionnaires
Austria	22	22	22
Czech Republic	106	72	64
Denmark	50	38	14
France	20	18	13
Germany	67	28	27
Italy	70	52	40
Netherlands	19	13	13
Poland	9	6	6
Slovakia	8	8	7
Spain	39	35	31
Switzerland	18	14	8
United Kingdom	30	4	4