

Appendix

Cerebellar Involvement in Ataxia and Generalized Epilepsy

Cerebellaire Betrokkenheid bij Ataxie en Gegeneraliseerde Epilepsie

8. APPENDIX

8.1. Summary

The work described in this thesis was performed in order to elucidate the role of different cerebellar modules in ataxia and generalized epilepsy using various techniques including *in vivo* electrophysiology, optogenetics, pharmacological interventions, immunohistology and behavioral measurements. The majority of experiments were executed in mice with mutations in the *Cacnala* gene which encodes the poreforming subunit of Ca_v2.1 calcium channels. Expression of this gene is particularly high in the cerebellum and mutations or ablation of this gene can result in cerebellar ataxia, dystonia and generalized epilepsy. In Chapter 2 we showed that PC specific deletion of this gene is sufficient to cause cerebellar ataxia and widespread PC degeneration. Interestingly, the ataxic phenotype became apparent well before any morphological or degenerative changes occurred. This suggests that, in line with other studies, aberrant PC activity rather than PC atrophy or morphological anomalies may play a crucial role in cerebellar ataxia.

Next we investigated potential cerebellar involvement in generalized epilepsy using a global *Cacnala* mutant (*tottering*) and tested whether manipulation of either cerebellar nuclei or cerebellar cortex activity could influence seizure occurrence. In Chapters 3 and 5 we demonstrate that both CN neurons and PCs show GSWD related firing pattern modulation. Furthermore, whereas pharmacological manipulation of CN activity had a pronounced impact on seizure occurrence, stopping action potential firing in a large area of the cerebellar cortex had no impact on GSWD occurrence. Considering the promising effects of these pharmacological interventions in the CN, we next described the use of a closed-loop seizure detection and stimulation system with the aim of disrupting epileptic thalamocortical activity through optogenetic CN stimulation in Chapters 3 and 4. We showed that this form of on-demand neurostimulation is highly effective and stopped 75–100% of the seizures within a few hundred milliseconds. To exclude specificity of these results for this particular mouse model we confirmed our main outcomes in an unrelated absence epilepsy mouse model.

In Chapter 6 we discuss potential mechanisms underlying the effects of pharmacological and optogenetic CN modulation and found that thalamic neurons indeed showed a change in activity upon CN manipulations. Chapter 7 provided conclusive remarks and a discussion of the implications of these results and suggestions for future research.

8.2. Samenvatting

Het werk beschreven in dit proefschrift is uitgevoerd om de rol van verschillende cerebellaire modules in ataxie en gegeneraliseerde epilepsie op te helderen,

gebruikmakend van *in vivo* electrofysiologie, optogenetica, farmacologische interventies, immunohistologie en gedragsmetingen. De meerderheid van de experimenten is verricht in muizen met mutaties in het *Cacnala* gen, dat de porievormende subunit van Ca_v2.1 calcium kanalen codeert. De expressie van dit gen is vooral in het cerebellum hoog en mutaties of ablatie van dit gen kunnen resulteren in ataxie, dystonie en gegeneraliseerde epilepsie. In Hoofdstuk 2 laten we zien dat PC specifieke deletie van dit gen voldoende is om ataxie en wijdverspreide PC degeneratie te veroorzaken. Interessant is dat de muizen al ataxie vertonen voordat er morfologische of degeneratieve veranderingen in het cerebellum waarneembaar werden. Dit suggereert dat, in lijn met eerder onderzoek, afwijkende PC activiteit en niet PC atrofie of morfologische afwijkingen een cruciale rol kan spelen in cerebellaire ataxie.

Vervolgens hebben we potentiële betrokkenheid van het cerebellum bij gegeneraliseerde epilepsie onderzocht met behulp van een globale *Cacnala* mutant (*tottering*). We hebben getest of manipulatie van activiteit in de cerebellaire kernen of de cerebellaire cortex epileptische aanvallen kan beïnvloeden. In Hoofdstukken 3 en 5 demonstreren we dat neuronen van de cerebellaire kernen en schors een gemoduleerd actie potentiaal vuurpatroon vertonen tijdens GSWDs. Bovendien had farmacologische manipulatie van CN activiteit een grote impact op de hoeveelheid epileptische aanvallen terwijl het stilleggen van een groot deel van de cerebellaire cortex geen invloed had op GSWDs. In navolging van deze veelbelovende resultaten hebben we een closed-loop aanvalsdetectie en stimulatie systeem ontworpen met als doel het verstoren van epileptische thalamocorticale activiteit via optogenetische CN stimulatie. In Hoofdstuk 3 en 4 laten we zien dat deze vorm van neurostimulatie zeer effectief is en dat 75–100% van de aanvallen stoppen binnen een fractie van een seconde. Om uit te sluiten dat deze uitkomsten specifiek zijn voor dit muis model hebben we de belangrijkste resultaten bevestigd in een ongerelateerd muis model voor absence epilepsie.

In Hoofdstuk 6 bediscussiëren we potentiële mechanismen onderliggend aan de effecten van farmacologische en optogenetische CN modulatie en vinden dat thalamische neuronen inderdaad een verandering in activiteit laten zien na CN manipulaties. Hoofdstuk 7 biedt tenslotte concluderende opmerkingen, implicaties van deze resultaten en suggesties voor vervolgonderzoek.

8.3. Curriculum vitae

8.3.1. Personal information

Name:	L., Lieke, Kros, MSc.
Date and place of birth:	June 8 th 1983, Eindhoven, the Netherlands
E-mail:	l.kros@erasmusmc.nl

8.3.2. Education

University:	Erasmus University Rotterdam
Faculty:	Social sciences
Degree:	Bachelor
Year of graduation:	2005
Main subject:	Clinical Psychology
University:	Erasmus University Rotterdam
Faculty:	Social sciences
Degree:	Master
Year of graduation:	2007
Main subject:	Clinical Psychology
University:	Leiden University
Faculty:	Social sciences
Degree:	Master
Year of graduation:	2010
Main subject:	Clinical Neuropsychology
University:	Erasmus University Rotterdam
Department:	Neuroscience
Degree:	PhD
Year of graduation:	2015

8.3.3. Publications

De Jong-Hagelstein, M., **Kros, L.**, Lingsma, H.F., Dippel, D.W., Koudstaal, P.J. & Visch-Brink, E.G. Expert versus proxy rating of verbal communicative ability of people with aphasia after stroke. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* **18**, 1064–70 (2012).

Todorov, B.*, **Kros, L.***, Shyti, R., Plak, P., Haasdijk, E.D., Raike, R.S., Frants, R.R., Hess, E.J., Hoebeek, F.E., De Zeeuw, C.I. & van den Maagdenberg, A.M.J.M. Purkinje cell-specific ablation of Cav2.1 channels is sufficient to cause cerebellar ataxia in mice. *Cerebellum*. **11**, 246–58 (2012).

Van Dongen, M.N., Karapatis, A. **Kros, L.**, Eelkman Rooda, O.H.J., Seepers, R.M., Strydis, C., De Zeeuw, C.I., Hoebeek, F.E. & Serdijn, W.A. An implementation of a wavelet-based seizure detection filter suitable for realtime closed-loop epileptic seizure suppression. in *IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS 2014)* (Lausanne, Switzerland, 2014).

Kros, L.*, Eelkman Rooda, O.H.J.*, Spanke, J.K., Alva, P. Van Dongen, M.N., Karapatis, A., Tolner, E.A., Strydis, C., Davey, N., Winkelman, B.H.J., Negrello, M., Serdijn, W.A., Steuber, V., Van den Maagdenberg, A.M.J.M., De Zeeuw, C.I. & Hoebeek, F.E. Cerebellar output controls the occurrence of generalized spike-and-wave discharges in epileptic cerebral cortex. *Annals of Neurology*. (In press).

* authors contributed equally

8.3.4. Articles in preparation

Kros, L., Eelkman Rooda, O.H.J., De Zeeuw, C.I. & Hoebeek, F.E. Cerebellar involvement in generalized epilepsy: Epileptogenesis, mediation and stimulation. Review. (Submitted).

Kros, L.*, Lindeman, S.* , Eelkman Rooda, O.H.J., De Zeeuw, C.I. & Hoebeek, F.E. Purkinje cell signatures and synchronicity in generalized epilepsy.

Eelkman Rooda, O.H.J.* , **Kros, L.***, De Zeeuw, C.I. & Hoebeek, F.E. Mechanisms underlying cerebellar control of thalamocortical oscillations unraveled.

* authors contributed equally

8.4. PhD portfolio

8.4.1. Information

<i>Student's name:</i>	Lieke Kros
<i>Degrees:</i>	BSc. And MSc. in Clinical Psychology and MSc. in Clinical Neuropsychology.
<i>University:</i>	Erasmus University Rotterdam
<i>Faculty:</i>	Neuroscience
<i>Research school:</i>	ONWAR
<i>PhD duration:</i>	Sept 2010-April 2015
<i>Supervisors:</i>	Prof. Dr. Chris I. De Zeeuw and Dr. Freek E. Hoebeek

8.4.2. General course

2010	Neural signaling
------	------------------

8.4.3. Attended conferences

2010	Cerebellar Nuclei-Ins and Outs (Amsterdam, Netherlands)
2010	FENS meeting (Amsterdam, Netherlands)
2012	FENS meeting (Barcelona, Spain)
2013	CNS meeting (Paris, France)
2013	6th International Workshop on Seizure Prediction (San Diego, USA)
2013	SFN meeting (San Diego, USA)
2014	ENP meeting (Lunteren, Netherlands)
2014	FENS meeting (Milan, Italy)
2015	Cerebellar workshop (Okinawa, Japan)

8.4.4. Teaching

2011–2013

Medicine: assistant, anatomy of the brain and heart.
