

# Nederlandse samenvatting

Slaapgedrag is alomtegenwoordig bij de dieren die tot dusver zijn onderzocht. Van de kleinste insecten tot de grootste zoogdieren en van kwallen, die het zonder centraal zenuwstelsel moeten stellen, tot zoogdieren met hun complexe neocortex met een uitgebreid netwerk van onderlinge verbindingen: alle dieren die tot nu toe zijn onderzocht, vertonen deze toestand van verminderde activiteit. Toch is het nog steeds een vrij raadselachtige toestand. Er zijn talrijke processen waarbij slaap mogelijk een rol speelt, zoals consolidatie van het geheugen, behoud van energie, adaptieve immobiliteit, de werking van het immuunsysteem en het afvoeren van neuronale afvalstoffen. Slaaptekort heeft dan ook aanzienlijke schadelijke effecten en kan uiteindelijk tot de dood leiden. Dit alles wijst erop dat slaap een belangrijke toestand is met een evolutionair sterk geconserveerde functie die essentieel is voor het dierlijk leven. Desondanks is nog steeds niet bekend welk fundamentele proces of processen hebben geleid tot de universele aanwezigheid van slaap.

Bij zowel vogels als zoogdieren zijn er twee verschillende slaaptoestanden te onderscheiden, de tragegolfslaap of 'slow wave'-slaap (SWS) en de 'rapid eye movement' (REM)-slaap. De SWS en de REM-slaap hebben in deze beide fylogenetische groepen overeenkomstige eigenschappen wat betreft elektrofysiologie en gedrag. Ook de reguleringsmechanismen van deze toestanden lijken vergelijkbaar te zijn bij vogels en zoogdieren. Het is nog steeds een raadsel hoe zulke overeenkomstige toestanden stapsgewijs hebben kunnen ontstaan in twee fylogenetische groepen die gescheiden zijn door honderden miljoenen jaren evolutie. Om meer licht te kunnen werpen op deze evolutionaire stappen, is het nodig meer te weten te komen over de manier waarop andere, nauw verwante fylogenetische groepen slapen.

Hoewel de twee slaaptoestanden bij vogels en zoogdieren verscheidene soortgelijke eigenschappen vertonen, zijn er nog veel aspecten van de slaap bij vogels die nog niet zijn onderzocht. Zoogdieren zijn in staat hun slaap te moduleren in reactie op

veranderingen in hun omgeving die van ecologisch belang zijn voor het dier (Lesku et al., 2008; Gravett et al., 2017a; Gravett et al., 2017b). In het bijzonder onderdrukken zoogdieren de REM-slaap in reactie op ecologisch risicovolle situaties. In hoofdstuk 4 beschrijf ik het eerste onderzoek, voor zover ik weet, waarin bij vogels een vergelijkbaar vermogen tot het moduleren van de REM-slaap is gevonden. In dat hoofdstuk toon ik aan dat duiven (*Columba livia*) de REM-slaap onderdrukken als ze op een plek laag bij de grond moeten slapen. De manier waarop vogels en zoogdieren reageren op een ecologisch risicovolle situatie vertoont dus sterke overeenkomsten. Dat suggereert dat de onderliggende regulering van deze modulatie wellicht volgens hetzelfde mechanisme verloopt.

### **Slaap bij monotremen en paleognathe vogels**

Binnen de klasse Mammalia zijn er drie nog bestaande klades, namelijk de Eutheria (placentadieren), Marsupialia (buideldieren) en Monotremata (monotremen). De monotremen vormen een zoogdiergroep met nog veel primitieve kenmerken, zoals het leggen van eieren. Terwijl bij placentadieren en buideldieren de SWS en de REM-slaap voorkomen zoals hierboven is beschreven, is in onderzoeken naar slaap bij verschillende monotremen een unieke combinatie waargenomen van gedragspatronen en elektrofysiologische patronen. In onderzoeken bij vogelbekdieren en mierenegels werd bij individuele dieren een gemengde slaaptoestand waargenomen waarbij op een EEG langzame hersengolven in de voorhersenen te zien waren, die samengingen met de fasische oogbewegingen van de REM-slaap of een toename van de variabiliteit van de neuronale ontlading in de hersenstam, een patroon dat bij placentadieren gepaard gaat met REM-slaap. Dit doet vermoeden dat de REM-slaap bij zoogdieren wellicht eerst in de hersenstam is ontstaan, en dat later de koppeling met activatie van de voorhersenen.

Binnen de klasse Aves zijn er twee nog bestaande klades: de Neognathae en de Palaeognathae. Tot de Neognathae behoren vooral kleine vogels die kunnen vliegen; de Palaeognathae zijn overwegend grote loopvogels. Neognathe vogels vertonen SWS en REM-slaap zoals eerder beschreven, terwijl in het enige elektrofysiologische

onderzoek bij paleognathe vogels dat tot nu toe is gedaan, bij struisvogels perioden van gemengde REM-slaap werden waargenomen die vergelijkbaar zijn met de gemengde REM-slaap bij monotremen, met langzame hersengolven op een EEG van de voorhersenen in combinatie met gedragskenmerken van REM-slaap (sluiten van de ogen, snelle oogbewegingen en knikkebollen door een verminderde tonus van de nekspier; Lesku et al., 2011). In hoofdstuk 3 van dit proefschrift beschrijf ik de EEG-patronen die ik heb geregistreerd bij een andere paleognathe vogelsoort, de kuiftinamoe (*Eudromia elegans*). De tinamoe vertoonde SWS en REM-slaap zoals die ook voorkomt bij neognathe vogels, wat aangeeft dat de aanwezigheid van gemengde REM-slaap wellicht niet wijdverbreid is binnen de Palaeognathae. De tinamoe heeft nog verscheidene voorouderlijke kenmerken, zoals een kleine afmeting en het vliegvermogen. Doordat bij tinamoes ook andere voorouderlijke kenmerken behouden zijn gebleven, zijn deze vogels meer representatief voor de gemeenschappelijke voorouder van paleognathe en neognathe vogels. Het is dan ook mogelijk dat REM-slaap die gepaard gaat met activatie op een EEG ook een eigenschap is die aanwezig is in de gemeenschappelijke voorouder van de beide nog bestaande vogelklades. Meer onderzoek bij andere paleognathe vogels moet uitwijzen of de gemengde slaaptoestand die bij struisvogels is waargenomen, ook voorkomt bij andere leden van deze groep.

### **Slaap bij niet-aviaire reptielen**

Vogels als groep zijn een afsplitsing van de reptielen. Van de bestaande niet-aviaire reptielen zijn de krokodilachtigen het meest nauw verwant aan de vogels. Indien er bij niet-aviaire reptielen vergelijkbare slaaptoestanden aanwezig zijn als bij vogels en zoogdieren, zou dat erop wijzen dat die toestanden waarschijnlijk ook aanwezig waren in de gemeenschappelijke voorouder van de vogels en de niet-aviaire reptielen, en mogelijk ook bij de gemeenschappelijke voorouder van de amnioten. Het ontbreken van vergelijkbare toestanden bij de niet-aviaire reptielen zou erop wijzen dat de SWS en REM-slaap bij vogels zijn geëvolueerd nadat de vogels zich van de niet-aviaire reptielen hadden afgesplitst, en dat de SWS en REM-slaap onafhankelijk zijn ontstaan bij vogels en bij zoogdieren. Bij onderzoeken naar slaap bij niet-aviaire reptielen zijn

verschillende, vaak tegenstrijdige resultaten gevonden. In de meeste onderzoeken is de aanwezigheid beschreven van intermitterende deflecties (uitslagen) op het EEG; deze scherpe golven met hoog voltage worden wel HShW ('high voltage sharp waves') genoemd en worden gezien tijdens slaap die is geconstateerd op grond van gedragskenmerken (overzichtsartikel: Libourel en Herrel, 2016). Het verband tussen HShW en de waargenomen elektrofysiologische verschijnselen bij vogels en zoogdieren is echter nog niet duidelijk. Er is geopperd dat HShW mogelijk homologoog zijn aan scherpe golven (SW: 'sharp waves') in de hippocampus van zoogdieren. In tegenstelling tot scherpe golven bij zoogdieren, die zich beperken tot de hippocampus, komen HShW bij reptielen echter in een groter gedeelte van de hersenen voor. In een recent onderzoek is gevonden dat de dorsale ventriculaire richel (DVR) betrokken is bij de vorming van HShW (Shein-Idelson et al., 2016). De DVR is een uit nuclei bestaande structuur in de voorhersenen die ook aanwezig is bij vogels en die wel in verband gebracht is met de vorming van langzame hersengolven bij vogels (Beckers et al., 2014). Vanwege de vergelijkbare distributie van HShW bij reptielen en langzame golven bij vogels ligt een homologie tussen deze twee elektrofysiologische verschijnselen wellicht meer voor de hand.

In hoofdstuk 2 laat ik zien dat de propagatie van HShW bij de nijlkrokodil (*Crocodylus niloticus*) verloopt volgens ingewikkelde, uiteenlopende spatiotemporele patronen. De propagatiepatronen die tijdens dit onderzoek zijn waargenomen, lijken op de patronen die bij vogels zijn beschreven. Propagatie op zich is nog geen garantie voor homologie, maar het is wel weer een indicatie voor het bestaan van een homologie tussen deze twee signalen. Als HShW en langzame golven inderdaad homologoog zijn, is deze slaaptoestand mogelijk in bepaalde aspecten homologoog aan SWS bij zoogdieren en vogels. Het verschil in morfologie van de golven (langzaam versus scherp) wordt mogelijk veroorzaakt door het feit dat neuronen van reptielen minder lang in de gedepolariseerde 'up state' doorbrengen die bij vogels en zoogdieren zorgen voor het ontstaan van langzame golven.

## **Door anesthesie geïnduceerde hersentoestanden**

Er zijn veel anesthetica waarvan het gebruik leidt tot hersenritmes die vergelijkbaar zijn met de ritmes die bij zoogdieren worden waargenomen tijdens natuurlijke SWS. De mogelijkheid hersentoestanden te induceren die vergelijkbaar zijn met slaaptoestanden, is van groot belang voor wetenschappers die deze toestanden willen onderzoeken met behulp van elektrofysiologische metingen (bijvoorbeeld intracellulaire metingen van membraanpotentialen) die niet uitvoerbaar zijn bij dieren die vrij kunnen bewegen. Hoewel er wel is geweest op mogelijke fenomenologische verschillen tussen toestanden die door anesthesie zijn geïnduceerd en natuurlijke slaap bij vogels, is er nooit een systematische kwantificering uitgevoerd van de specifieke overeenkomsten en verschillen op EEG's. In hoofdstuk 5 heb ik bij duiven (*Columba livia*) de spectrale eigenschappen van EEG-patronen na verdoving met isofluraan en urethaan vergeleken met die tijdens natuurlijke SWS. De spectrale eigenschappen die bij de elektrofysiologische metingen werden gezien tijdens verdoving met isofluraan en urethaan waren vergelijkbaar met die tijdens natuurlijke SWS, en bij allebei de anesthetica was het spectraal vermogen grotendeels geconcentreerd bij frequenties lager dan 2 Hz. Daarnaast werd in de EEG-patronen bij beide anesthetica een significant hogere concentratie van het vermogen geconstateerd in de meeste frequentie-intervallen (bins) onder 45 Hz dan het geval was bij SWS. Zowel hersenritmes die door isofluraan als die door urethaan waren geïnduceerd, vertoonden een vergelijkbare concentratie van het spectrum bij hogere frequenties (boven 55 Hz) als natuurlijk optredende SWS. Er is aangetoond dat isofluraan, net als veel andere anesthetica, aangrijpt op signaalroutes die in zoogdieren de natuurlijke slaap bevorderen. De waargenomen spectrale eigenschappen van elektrofysiologische verschijnselen tijdens hersentoestanden die door anesthetica zijn geïnduceerd en die tijdens natuurlijke SWS bij duiven tijdens dit onderzoek, geven aan dat beide anesthetica weliswaar waarschijnlijk aangrijpen op natuurlijke signaalroutes die slaap bevorderen, maar dat ze mogelijk wel specifiek routes activeren waarbij laagfrequentere componenten van de 'slow wave'-slaap worden gegenereerd.

## **Conclusies**

Met het werk dat in dit proefschrift beschreven is, is geprobeerd enkele aspecten van slaap te karakteriseren bij verschillende fylogenetische groepen. Mijn doel daarbij was tot een beter inzicht te komen in de manier waarop de verschillende elektrofysiologische manifestaties van slaap bij verschillende fylogenetische groepen met elkaar samenhangen. Uiteindelijk hoop ik dat dit type onderzoek meer duidelijkheid zal brengen over de fundamentele aspecten van de mechanismen die aan deze toestanden ten grondslag liggen, en tevens over eventuele essentiële functies die tijdens deze toestanden worden uitgevoerd. Alle onderzoeken die in dit proefschrift worden gepresenteerd, vormen onderbouwing voor de algemeen aanvaarde theorie dat de SWS in zijn huidige vorm niet aanwezig was in de gemeenschappelijke voorouder van vogels en zoogdieren. Het lijkt eerder zo te zijn dat bij deze gemeenschappelijke voorouder een voorloper van de SWS aanwezig was, met kortere 'up states' die minder vaak optraden, en dat de SWS bij vogels en zoogdieren in de huidige vorm met langere 'up states' onafhankelijk is geëvolueerd in beide fylogenetische groepen.