



## Niet-technische samenvatting 2015359

**1 Algemene gegevens**

|                                 |                                                                               |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 1.1 Titel van het project       | Vergelijkende studies aan de regulatie van slaap en gevolgen van slaaptekort. |
| 1.2 Looptijd van het project    | 1-11-2015 tot 1-11-2020                                                       |
| 1.3 Trefwoorden<br>(maximaal 5) | Slaap, slaaphomeostase, slaaptekort, hersenen, evolutie.                      |

**2 Categorie van het project**

|                                              |                                                                                                                               |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2.1 In welke categorie valt het project.     | X Fundamenteel onderzoek                                                                                                      |
| <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i> | <input type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek                                                                |
|                                              | <input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie                                               |
|                                              | <input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid                             |
|                                              | <input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort                                                     |
|                                              | <input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding                                                                         |
|                                              | <input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek                                                                                 |
|                                              | <input type="checkbox"/> Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven |

**3 Projectbeschrijving**

|                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang) | <p>De meeste diersoorten brengen een groot deel van hun leven slapend door. De slaaptoestand lijkt homeostatisch gereguleerd te worden, in de zin dat de behoefte aan slaap toeneemt tijdens de wakkere periode en weer afneemt tijdens slaap. Ondanks dit inzicht en diverse theorieën is de precieze functie van slaap een nog onopgelost mysterie. Bovendien is slaap is een uiterst complexe toestand die in feite bestaat uit twee totaal verschillende en elkaar cyclisch afwisselende vormen, te weten 'non-rapid-eye-movement' (NREM) slaap en 'rapid-eye-movement' (REM) slaap. Elk van deze twee vormen van slaap zou een eigen functie kunnen hebben en op eigen wijze kunnen bijdragen aan, bijvoorbeeld, herstel en plasticiteit van zenuwcellen.</p> <p>De basale karakteristieken van slaap en het voorkomen van twee slaapvormen is voor veel diersoorten beschreven. Met vergelijkende studies</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

in verschillende soorten zou veel geleerd kunnen worden over de regulatiemechanismen en mogelijke functies van slaap. Toch is het overgrote deel van wat er momenteel wordt ontdekt en beschreven over slaap op neurobiologisch en moleculair niveau gebaseerd op studies aan nachtactieve knaagdieren, met name ratten en muizen. Deze bevindingen worden vaak geëxtrapoleerd naar andere soorten, inclusief de mens. Er wordt te weinig gedaan om de algemene geldigheid te toetsen door studies aan andere soorten.

Het doel van dit project is om slaap, slaaphomeostase en de gevolgen van slaapttekort op moleculair niveau te bestuderen in een aantal specifieke niet-nachtactieve, niet-knaagdiersoorten, te weten de tupaia, de spreeuw en de kauw. Deze studies zullen niet alleen nieuwe en interessante kennis genereren over de biologie en slaap van deze specifieke soorten, maar ze zullen ook een belangrijke toetsing zijn van de algemene geldigheid van resultaten verkregen in ratten en muizen.

De tupaia is een interessante soort voor slaaponderzoek, omdat het een dagactieve soort is die veel nauwer verwant is met de mens dan de nachtactieve knaagdieren die gewoonlijk worden gebruikt. Tupaia's vormen een eigen groep die veel dichter bij de primaten staat dan bij de knaagdieren. Onze eerste slaapmetingen aan de tupaia hebben al laten zien dat deze soort uiterst geschikt is voor gecontroleerde laboratoriumstudies. De eerste resultaten vragen bovendien nadrukkelijk om vervolggexperimenten. Onder standaard omstandigheden laten de tupaia's bijvoorbeeld een extreem grote hoeveelheid slaap zien (ongeveer twee-derde van het etmaal), terwijl de hoeveelheid REM-slaap verhoudingsgewijs juist lager was dan verwacht. Deze soort lijkt daarmee een uitstekende keus voor gedetailleerde analyse van slaaphomeostase en moleculaire processen die samenhangen met slaapttekort.

De spreeuw en kauw zijn interessante soorten omdat ze dagactief zijn en bovendien geen zoogdieren. Alhoewel bij andere vogelsoorten al is vastgesteld dat ze net als zoogdieren twee slaapvormen hebben, zijn er weinig gedetailleerde studies van de homeostatische slaapregulatie en de onderliggende moleculaire processen. Vogels vormen daarmee bij uitstek een diergroep die oude inzichten over slaap kan bevestigen of juist nieuwe inzichten kan genereren. De kauw behoort bovendien tot een groep vogels waaraan hoge cognitieve vermogens worden toegedicht. Om die reden is de kauw interessant voor studies naar de rol van slaap in het onderhouden en het functioneren van het brein.

Met de drie geselecteerde soorten zullen experimenten worden gedaan met de volgende doelstellingen:

- 1) het vaststellen van de soort specifieke slaap-waak patronen en slaaparchitectuur (verdeling NREM/REM slaap) onder verschillende omgevingscondities (verschillende licht-donker cycli, verschillende omgevingstemperaturen);
- 2) het vaststellen van de slaaphomeostatische reacties op slaapdeprivatie van verschillende dieren (d.w.z. het meten van de slaaprebound);
- 3) het meten van de neurobiologische en moleculaire correlaten van slaapttekort in hersenmateriaal verzameld na slaap of slaapdeprivatie.

|     |                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3.2 | Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? | Deze studies zullen niet alleen nieuwe kennis genereren over de biologie en slaap van de geselecteerde soorten, maar ze zullen ook een belangrijke toetsing zijn van de algemene geldigheid van resultaten verkregen in ratten en muizen. Deze studies zullen daarom in belangrijke mate bijdragen aan onze kennis over de regulatie van slaap en de mogelijke rol die slaap speelt bij onderhoud en plasticiteit van zenuwcellen.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 3.3 | Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?                                                                  | Tupaia (120-150)<br>Spreeuw (220-250)<br>Kauw (40-50)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 3.4 | Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?                                     | <p>De belangrijkste vorm van ongerief in deze studies wordt veroorzaakt door een noodzakelijke operatie. Voor het meten van slaap-waak patronen en slaaparchitectuur worden de dieren volgens standaard procedures onder volledige narcose geopereerd en voorzien van corticale EEG-elektrodes voor het meten van hersenactiviteit en EMG-elektrodes voor het meten van nekspieractiviteit (matig ongerief).</p> <p>Verder worden onder doelstelling 1 dieren blootgesteld aan variërende omgevingscondities (verschillende licht-donker cycli en omgevingstemperatuur). Omdat deze variatie valt binnen de natuurlijk range van deze soorten wordt het ongerief als licht beschouwd.</p> <p>Onder doelstelling 2 en 3 worden dieren onderworpen aan kortdurende slaapdeprivatie of milde chronische slaapverstoring. De kortdurende slaapdeprivatie wordt bewerkstelligd door manuele stimulatie en heeft een maximale duur van twaalf uur hetgeen binnen de duur van de normale rustfase valt. Het ongerief van de slaapdeprivatie wordt daarom als licht gezien. Chronische slaapverstoring vindt alleen plaats in spreeuwen en wordt gerealiseerd door de dieren te laten werken voor hun voer in een uitgebreid gevalideerde proefopzet (heen en weer vliegen in een vlieggooi om voedselbeloningen te bemachtigen). Omdat deze situatie sterk overeenkomt met de natuurlijke situatie wordt het ongerief als licht beschouwd.</p> |
| 3.5 | Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?                                                       | Het maximale ongerief van de beschreven experimenten bestaat uit een combinatie van bovengenoemde operatie, na een ruime periode van herstel gevolgd door slaapdeprivatie van verschillende uren. Een dergelijke proefopzet zal in z'n totaliteit niet meer dan matig ongerief met zich mee brengen.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 3.6 | Wat is de bestemming van de dieren na afloop?                                                                                     | Dieren onder doelstelling 1 en 2 kunnen hergebruikt worden voor doelstelling 3. Aan het eind van de experimenten onder doelstelling 3 worden de dieren getermineerd voor het verzamelen van hersenmateriaal en het meten van de moleculaire effecten van slaapdeprivatie.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

## 4 Drie V's

|     |                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4.1 | <b>Vervanging</b><br>Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije | Slaap is een uiterst complex neurobiologisch fenomeen bestaande uit twee totaal verschillende vormen, de NREM-slaap en REM-slaap. De regulatie en functie van slaap kan daarom alleen bestudeerd worden in intacte dieren. Vervanging door een proefdiervrij alternatief is niet mogelijk. |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

#### 4.2 Vermindering

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Om het aantal proefdieren tot een minimum te beperken, wordt voor de experimenten onder doelstelling 1 en 2 gebruik gemaakt van een zogenaamd cross-over design waarbij de dieren als eigen controle kunnen fungeren. Elk van de dieren uitgerust met EEG-elektrodes wordt achtereenvolgens blootgesteld aan de verschillende omgevingscondities (doelstelling 1) of achtereenvolgens blootgesteld aan slaapdeprivatie sessies van verschillende uren (doelstelling 2).

#### 4.3 Verfining

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

De drie soorten zijn specifiek gekozen omdat:

A) het geen nachttactieve, maar dagactieve diersoorten zijn die in dat opzicht meer lijken op de mens dan ratten en muizen;

B) het geen knaagdieren zijn, maar soorten die nadrukkelijk behoren tot andere diergroepen en daarom kunnen leiden tot een bredere kennis of zelfs nieuwe inzichten in het fenomeen slaap;

C) het soorten zijn die op basis van onze eigen ervaring en/of op basis van gepubliceerde studies bij uitstek geschikt zijn voor de beoogde laboratoriumstudies;

D) deze soorten bepaalde biologische kenmerken en/of slaapkarakteristieken hebben die nadrukkelijk vragen om een meer gedetailleerd analyse van de slaaphomeostase en effecten van slaaptekort (bijv. de grote hoeveelheid NREM-slaap in de tupaia; de hoge cognitieve vermogens van de kauw).

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

De operaties voor het plaatsen van de EEG- en EMG-elektrodes vinden plaats onder volledige narcose, inclusief noodzakelijk pijnstilling en post-operatieve zorg. Voor wat betreft de verdere experimentele ingrepen (variatie in omgevingsfactoren en slaapdeprivatie) is er geen reden om een hoge mate van ongerief te verwachten.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

4 februari 2016

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen

De looptijd van de vergunning is van 2 februari 2016 tot en met 1 november 2020.