

DISS. ETH Nr. 19592

SLEEP:  
EFFECTS OF CHRONIC SLEEP RESTRICTION AND ISCHEMIC STROKE  
IN THE RAT

ABHANDLUNG  
zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER WISSENSCHAFTEN

Der

ETH ZÜRICH

Vorgelegt von

SWAANTJE ANNA LEEMBURG

MSc., University of Groningen

geboren am  
6. Dezember 1982

aus den  
Niederlanden

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. Martin E. Schwab  
Prof. Dr. Claudio L. Bassetti  
Prof. Dr. Isabelle Mansuy

2011

## 2. Summary

The general aim of this thesis was to gain understanding in the functions of sleep by studying sleep regulation under chronic sleep loss conditions and during recovery from ischemic stroke.

Sleep is homeostatically regulated in all animal species that have been studied so far: the longer an animal stays awake, the longer and deeper it sleeps. The best characterized marker for sleep homeostasis is slow wave activity (SWA), the EEG power between 0.5 and 4 Hz in non-rapid eye movement (NREM) sleep. SWA reflects the build-up of sleep pressure: it increases in response to the duration and intensity of a prior period of spontaneous wakefulness or short term sleep deprivation (3-24h), and decreases during sleep.

However, because of an apparent lack of SWA build-up after chronic sleep restriction or deprivation, doubts have been raised about the ability of SWA to reflect chronic sleep need, and it has been suggested that sleep could be regulated by allostatic and homeostatic mechanisms under chronic sleep loss conditions.

To investigate the regulation of SWA during chronic sleep restriction (SR), we performed continuous EEG recordings during and after a 5-day SR period, in which rats were allowed to sleep during the first 4 hours of the light period, but not during the rest of the day. Most sleep was prevented during the 20-hour deprivation period, although the number of short sleep attempts increased over time. Low frequency power in the wake EEG was increased during the 20-hour deprivation period, mostly in the occipital cortex. A NREM SWA rebound was present on all SR days and during post-SR recovery. This SWA increase was most pronounced in the frontal cortex, and its magnitude was determined by the efficiency of SR. The lost SWA was compensated by the second recovery day. These results show that the homeostatic regulation of sleep is preserved under chronic sleep loss conditions, and shows much same markers as short-term sleep loss.

Although the function of sleep remains largely unclear, sleep is thought to play an important role in learning and memory formation and to be essential for at least some of the neuronal plasticity necessary for the acquisition of motor skills in the healthy brain.

Sleep disorders are common in stroke patients, and have detrimental effects on recovery of motor and cognitive functions. Moreover, disruption of sleep has detrimental effects on infarct size and expression of plasticity-related genes in rats, whereas sleep stimulants have beneficial effects in mice. Since long-term recovery after stroke depends on neuronal plasticity, strategies to improve long-term functional outcome after stroke by targeting sleep might prove to be effective.

Although alterations of sleep-wake patterns and EEG activity within vigilance states have been described in both patients and animal models, their relation to functional recovery remains unclear. We analyzed the effects of somatosensory-cortical ischemia on wakefulness, NREM and REM sleep, as well as on local motorcortical EEG activity within these states, in relation to motor function recovery in the rat. By recording EEG in an area that is not structurally damaged by the stroke, we were able to get an electrophysiological read-out of the functional remodeling in the motor cortex, without the confounding effect of mass cell death occurring in the infarcted area.

Stroke impaired motor function, but did not cause major changes in sleep and wakefulness. However, EEG power in frequencies between 7 and 25Hz was reduced in the hemisphere ipsilateral to the infarct in all vigilance states. Power in the higher frequencies of the spectrum (~13-25Hz) during sleep was related to recovery of motor function, possibly reflecting the ability of the motor cortex to display the complex activation patterns necessary to perform movements.

### 3. Zusammenfassung

Das allgemeine Ziel dieser Doktorarbeit war, durch Forschung von Schlafregulierung während chronischen Schlafverlusts und während der Erholung nach einem Schlaganfall, das Verständnis für die Funktionen des Schlafes zu fördern.

Schlaf ist homöostatisch reguliert bei allen Tierarten, welche bis zum heutigen Tag erforscht wurden; je länger ein Tier wach bleibt, desto länger und tiefer schläft es. Der am besten charakterisierte Indikator der Schlafhomöostase ist die langsamwellige Aktivität (slow wave activity, SWA), spektrale Leistungsdichte des Elektroenzephalograms zwischen 0.5Hz und 4Hz im NREM Schlaf. SWA reflektiert die Akkumulation des Schlafdrucks: sie steigt als Antwort auf die Dauer und Intensität einer spontanen Wachperiode oder einer kurzen Schlafdeprivation (3-24h) an und nimmt im Laufe des Schlafes wieder ab.

Jedoch stellt eine scheinbare Abwesenheit der SWA Akkumulation nach chronischer Schlafrestriktion oder -deprivation die Fähigkeit der SWA chronischen Schlafbedarf zu reflektieren zu können in Frage, und wird alternativ vorgeschlagen, dass Schlaf bei chronischem Schlafverlust durch allostatiche und homöostatische Prozesse reguliert wird.

Um die Regulierung der SWA während chronischer Schlafrestriktion (SR) zu analysieren, haben wir kontinuierliche EEG Aufzeichnungen im Laufe von und nach einer 5-tägigen SR Periode gemacht, in welcher die Ratten während der ersten 4 Stunden der Lichtperiode schlafen durften, jedoch nicht für den Rest des Tages. Der grösste Teil des Schlafs wurde in der 20-stündigen Deprivationsperiode verhindert, obwohl die Anzahl der Schlafversuche mit der Zeit zunahm. EEG Power in den niedrigen Frequenzen war erhöht während der 20-stündigen Deprivationsperiode, am meisten im Occipitalkortex. Ein NREM SWA Rebound wurde an allen SR-Tagen und im post-SR Erholungsschlaf gefunden. Die SWA Erhöhung war im Frontalkortex am stärksten ausgeprägt, und das Mass der Erhöhung wurde durch die SR-Effizienz bestimmt. Der Verlust der SWA war am zweiten Erholungstag kompensiert. Diese Resultate zeigen, dass die homöostatische Regulierung von Schlaf unter chronischen Schlafmangelbedingungen erhalten bleibt und dass sie die gleichen Indikatoren zeigt wie kurzfristiger Schlafverlust.

Obwohl die Funktion von Schlaf weitläufig unklar bleibt, spielt sie vermutlich eine wichtige Rolle beim Lernen und der Gedächtnisbildung und ist notwendig für mindestens einen Teil der neuronalen Plastizitäts, welche für den Erwerb von motorischen Fähigkeiten im gesunden Gehirn wesentlich ist.

Schlafstörungen treten häufig bei Schlaganfallpatienten auf und haben nachteilige Auswirkungen auf die Erholung der motorischen und kognitiven Funktionen. Darüber hinaus hat eine Störung des Schlafs bei Ratten nachteilige Auswirkungen auf die Infarktgrösse und die Expression von Genen die in Zusammenhang mit Plastizität stehen, während schlafstimulierende Mittel bei Mäusen vorteilhafte Wirkungen haben. Da die langfristige Erholung nach einem Schlaganfall von der neuronalen Plastizität abhängt, könnten Strategien zur Verbesserung von langfristigen Outcome nach einem Schlaganfall die auf Schlaf ausgerichtet sind, erfolgreich sein.

Obwohl Änderungen in Schlaf, Wachsein und EEG-Aktivität in diesen Zuständen sowohl bei Patienten als auch bei Tiermodellen beschrieben wurden, bleibt ihre Beziehung zur funktionellen Erholung unklar. Wir haben die Effekte einer Ischämie im somatosensorischen Kortex während Wachsein, NREM und REM Schlaf als auch auf lokale, motorische EEG Aktivität während diesen Zuständen, in Beziehung zur Erholung der motorischen Funktionen bei Ratten analysiert.

Durch die Aufzeichnung von EEG in einem Gebiet, welches keinen strukturellen Schaden durch den Schlaganfall erhalten hat, konnten wir die funktionelle Änderungen in diesem Gebiet elektrophysiologisch auslesen, ohne das Auftreten von Störeffekten von massivem Zelltod im Infarktgebiet.

Ein Schlaganfall beeinträchtigte die Motorfunktion, verursachte aber keine wesentliche Änderung im Schlaf und Wachsein. EEG Power in Frequenzen zwischen 7Hz und 25Hz wurden jedoch reduziert in der Hemisphäre ipsilateral zum Infarkt in allen Wachsamkeitsstadien. Unsere Experimente zeigten, dass Power in den höheren Frequenzen des EEG Spektrums (~15-25Hz) während des Schlafs in Verbindung mit der Erholung der motorische Funktion steht, was möglicherweise die Fähigkeit des motorischen Kortex darstellt, um die komplexen Muster welche notwendig sind zur Ausführung von Bewegungen zu aktivieren.