

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/35174> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Diepen, Hester Catharina van

**Title:** Retinal and neuronal mechanisms of circadian photoreception

**Issue Date:** 2015-09-10

## SAMENVATTING

De draaiing van de aarde zorgt voor dagelijkse veranderingen in licht en donker. Alle organismen hebben ingebouwde mechanismen om op dit ritme van licht en donker te kunnen anticiperen en bij zoogdieren is dat de biologische klok. De werking van deze klok, op welke signalen ze reageert en hoe het dagelijkse biologische ritme daarmee wordt gereguleerd is onderwerp van het onderzoek dat tot het voorliggende proefschrift heeft geleid. Om de invloed van omgevingslicht op het biologische ritme te bepalen zijn bij muizen gedragsmetingen en metingen in het betrokken hersengedeelte uitgevoerd. De muis is een waardevol model voor de mens, omdat het ritme van de biologische klok van muizen in fase is met dat van de biologische klok van mensen. De invloed van licht op slaap werkt bij muizen in sommige opzichten juist omgekeerd als bij mensen, omdat muizen nachtdieren zijn. De interpretaties van de experimenten richten zich dan ook vooral op de ritmiek, faseverschillen en acute activatie van licht en niet zozeer op slaapedrag zelf.

In het eerste deel van dit proefschrift (hoofdstuk 2-5) is onderzocht welke lichtsignalen de biologische klok beïnvloeden en via welke weg de informatie wordt doorgegeven. De biologische klok bevindt zich in de suprachiasmatische nucleus (SCN) en is onderdeel van de hypothalamus, één van de oudste gebieden van onze hersenen. De SCN bestaat uit ongeveer 20 000 neuronen die verdeeld zijn over twee kleine kernen in elke hersenhelft. De SCN produceert circadiane ritmes van ongeveer 24 uur (circa dies: ongeveer een dag) en functioneert door elke dag de afwisselende perioden van rust en activiteit af te stemmen op het omgevingsritme. De SCN is functioneel door dat de periode elke dag wordt aangepast door de invloed van licht uit de omgeving. De SCN ontvangt licht informatie via lichtgevoelige cellen in het netvlies van het oog. In het netvlies zijn verschillende typen lichtgevoelige cellen aanwezig. De meest bekende zijn de staafjes en de kegeltjes, die belangrijk zijn voor het verwerken van visuele informatie. De staafjes zijn betrokken bij contrastherkenning, terwijl de kegeltjes vooral belangrijk zijn voor het zien van kleuren. Ongeveer 15 jaar geleden is een derde type lichtgevoelige cel ontdekt, namelijk de retinale ganglion cellen die het fotopigment melanopsine bevatten. Melanopsine is niet betrokken bij het verwerken van visuele informatie, maar speelt een rol bij de detectie van licht en donker voor niet-visuele hersengebieden zoals de SCN en het pretectum.

In hoofdstuk 2 wordt beschreven hoe licht gedetecteerd wordt in het oog en hoe de lichtinformatie wordt doorgegeven aan de SCN. Na activatie van de lichtgevoelige cellen in het netvlies wordt een signaal doorgegeven via de oogzenuw wat leidt tot de afgifte van neurotransmitters en verhoging van het aantal actiepotentialen in de SCN. Actiepotentialen zijn elektrische signalen en zijn het belangrijkste communicatiemiddel tussen neuronen (zenuwcellen). Neurotransmitters zijn signaalstoffen en spelen ook een rol bij de communicatie

tussen neuronen. Sinds de ontdekking van melanopsine is de detectie van licht voor niet-visuele hersengebieden voornamelijk toegeschreven aan melanopsine. De studies die beschreven staan in dit proefschrift laten zien dat niet alleen melanopsine, maar ook andere typen fotopigmenten bijdrage kunnen leveren aan het effect van licht op het circadiane systeem. Hoofdstuk 2 beschrijft de relatieve bijdragen van de verschillende typen lichtgevoelige cellen (staafjes, kegeltjes en retinale ganglion cellen met melanopsine) aan het verwerken van lichtinformatie door de SCN.

Hoewel recente studies hebben aangetoond dat niet alleen melanopsine een bijdrage levert aan het verwerken van lichtinformatie voor de SCN, is er nog maar weinig onderzoek gedaan naar de specifieke rol van kegeltjes in dit proces. Hoofdstuk 3 richt zich op het effect van ultraviolet (UV) licht op het circadiane systeem en slaap en de specifieke rol van de UV-kegel in dit proces. De resultaten laten zien dat UV licht net zo effectief is als wit licht in de regulatie van het circadiane systeem en slaap. Wit licht is samengesteld uit zowel lange als korte golflengten van licht, UV licht bestaat alleen uit korte golflengten. Onze experimenten tonen aan dat de effecten van UV licht op de SCN hoogstwaarschijnlijk gemedieerd worden door de UV-gevoelige kegels in het netvlies.

Het is de vraag of de staafjes en kegeltjes ook effecten van licht met langere golflengtes kunnen reguleren. Om dit te onderzoeken zijn in hoofdstuk 4 dezelfde type metingen uitgevoerd in muizen zonder melanopsine en zijn deze muizen blootgesteld aan licht met lange golflengtes. Het effect van dit licht op de elektrische activiteit van neuronen in de SCN van muizen zonder melanopsine was niet te onderscheiden van het effect van hetzelfde licht op de SCN van controle muizen, met staafjes, kegeltjes en melanopsine. De resultaten tonen aan dat staafjes en kegeltjes bijdragen aan de effecten van licht met zowel korte als lange golflengten. Om de specifieke bijdrage van melanopsine aan de regulatie van de elektrische activiteit van SCN neuronen in respons op licht te onderzoeken zijn dezelfde metingen ook gedaan in muizen met alléén melanopsine. Deze muizen hebben geen staafjes en geen kegeltjes en melanopsine is het enige type fotopigment in hun netvlies. De meetresultaten laten zien dat melanopsine ook een rol kan spelen bij de verhoging van elektrische activiteit van SCN neuronen in respons op licht, met name op hoge lichtintensiteiten.

Om de specifieke rol van kegeltjes in de effecten van licht op het circadiane systeem te onderzoeken zijn in hoofdstuk 5 zowel gedragsexperimenten als *in vivo* elektrofysiologische metingen uitgevoerd in muizen met alleen kegeltjes in hun netvlies. Deze muizen konden zich in hun gedragsactiviteit nog steeds aanpassen aan de externe licht-donker cyclus. Uit de *in vivo* elektrofysiologische metingen bleek dat de elektrische activiteit van SCN neuronen verhoogd werd door blootstelling aan licht van verschillende golflengten, maar dat deze elektrische activiteit alleen verhoogd was tijdens de eerste fase van de lichtperiode. Hieruit

blijkt dat kegeltjes waarschijnlijk met name een rol spelen bij de eerste fase van lichtdetectie, maar niet in staat zijn om lichtinformatie door te geven tijdens langere periodes van licht.

De bevinding dat staafjes en kegeltjes ook een rol spelen bij het verwerken van lichtinformatie door de SCN, sluit geen rol uit voor melanopsine in de regulatie van dit proces. De resultaten zoals beschreven in de hoofdstukken 3, 4 en 5 laten zien dat het waarschijnlijk is dat alle drie de typen fotopigmenten in het netvlies bijdragen aan lichtdetectie door de SCN. De relatieve bijdragen van staafjes, kegeltjes en melanopsine aan dit proces is naar alle waarschijnlijkheid afhankelijk van de intensiteit, de duur en de golflengte van het licht.

In het tweede deel van dit proefschrift (hoofdstuk 6-7) zijn andere factoren onderzocht die afzonderlijk of in combinatie met licht het biologische ritme en gedrag kunnen beïnvloeden. Uit deze studies blijkt dat er feedbackmechanismen zijn, en dat slaap en gedrag een invloed kunnen uitoefenen op de biologische klok. Eerdere studies hebben aangetoond dat er een sterke interactie is tussen slaap en het circadiane systeem. Bij een verhoogde slaapdruk is het circadiane systeem minder goed in staat om onder invloed van licht voor een verschuiving in de gedragsactiviteit te zorgen. In hoofdstuk 6 zijn *in vivo* elektrofysiologische metingen van neuronen in de SCN gedaan om het mechanisme te onderzoeken dat deze reductie in de verschuiving van de gedragsactiviteit veroorzaakt. Bij een verhoogde slaapdruk veroorzaakt door een slaapdeprivatie van 6 uur reageerden de neuronen in de SCN minder sterk op licht. Deze verlaagde respons op licht in elektrische activiteit werd hersteld na toediening van cafeïne. Cafeïne bindt aan dezelfde receptoren als de neurotransmitter adenosine en heeft een tegengestelde werking. Adenosine is een neurotransmitter die betrokken is bij slaapregulatie. Na een slaapdeprivatie zijn de adenosine niveaus in de hersenen verhoogd. De bevinding dat cafeïne een remmende werking heeft op het effect van een slaapdeprivatie, impliceert een rol voor adenosine in de bepaling van lichtgevoeligheid van de klok.

Een andere neurotransmitter die betrokken zou kunnen zijn bij de verwerking van lichtinformatie van de SCN is het vasoactieve intestinale peptide (VIP). Muizen zonder VIP reageren in hun gedragsactiviteit niet op licht, maar het mechanisme dat dit veroorzaakt is onbekend. In hoofdstuk 7 is de signaaltransductie van licht van het oog naar de SCN onderzocht in muizen zonder VIP. Licht bereikt de SCN eerst in het ventrale gedeelte en informatie wordt daarna doorgegeven aan het dorsale gedeelte. Uit *in vivo* elektrofysiologische metingen bleek dat licht een zelfde verhoging in elektrische activiteit van SCN neuronen veroorzaakt als in controle muizen in het ventrale gedeelte van de SCN. Echter, na stimulatie van de oogzenuw om het effect van licht op verhoging van de elektrische activiteit van SCN neuronen *in vitro* na te bootsen werd een verminderde respons gevonden in het dorsale gedeelte van de SCN. Deze verlaagde respons werd ook gedetecteerd

in licht-geïnduceerde activatie van genen. De data tonen aan dat lichtinformatie in deze muizen wel de SCN bereikt, maar dat VIP waarschijnlijk belangrijk is voor de communicatie tussen de neuronen in de SCN waardoor de lichtinformatie niet de gehele SCN bereikt.

In hoofdstuk 8 is het effect van loopwielactiviteit op de amplitude van de SCN onderzocht. Blootstelling aan licht zorgt voor een acute verhoging van de elektrische activiteit van SCN neuronen en inductie van slaap, terwijl gedragsactiviteit juist voor een acute verlaging in deze elektrische activiteit leidt. In hoofdstuk 8 is de hypothese getest dat verhoogde gedragsactiviteit leidt tot een verhoging in de amplitude van het ritme van de SCN. Om deze hypothese te testen zijn *in vivo* elektrofysiologische metingen uitgevoerd in vrij bewegende muizen. Tijdens de meting van elektrische activiteit van SCN neuronen kregen de muizen toegang tot een loopwiel die zorgde voor verhoogde gedragsactiviteit van de muizen. Deze verhoging in gedragsactiviteit leidde tot een verhoging in de amplitude van het ritme van de SCN en tot een verhoging van de sterkte van het ritme. De resultaten laten zien dat beweging een positieve invloed heeft op de SCN en het ritme en gebruikt zou kunnen worden als een niet-invasieve methode om het circadiane systeem te verbeteren van bijvoorbeeld ouderen, mensen die werken in ploegendiensten of mensen die regelmatig een jetlag ondervinden.

Samenvattend laten de resultaten in dit proefschrift zien dat de hoeveelheid lichtinformatie die de SCN bereikt, kan worden bepaald door zowel lichtgevoelige cellen in het netvlies van het oog als door neurotransmitters van het circadiane systeem. De bevindingen tonen aan dat staafjes, kegeltjes én melanopsine een bijdrage kunnen leveren aan de transductie van lichtinformatie naar de klok en dat hun relatieve bijdrage afhankelijk is van de golflengte, de duur en de intensiteit van licht. Naast de rol van de lichtgevoelige cellen in het oog, wordt de hoeveelheid lichtinformatie die de klok bereikt gereduceerd na slaapdeprivatie en speelt de neurotransmitter adenosine hierbij waarschijnlijk een rol. De neurotransmitter VIP is vooral belangrijk voor de communicatie tussen de neuronen binnen de SCN, nadat de lichtinformatie de SCN via de oogzenuw bereikt heeft. Hoewel licht de sterkste stimulus is die de SCN beïnvloedt, wordt de SCN niet alleen beïnvloed door licht, maar heeft gedragsactiviteit ook invloed op de klok. Meer beweging zorgt voor een grotere amplitude van de SCN en een sterker ritme, wat een waardevolle interventie voor deficiënties in het circadiane systeem kan zijn.

De kennis die is verkregen over de precieze werking van de biologische klok kan bijdragen aan een betere interpretatie van de effecten van licht op de SCN. Dit kan weer worden gebruikt in toegepast onderzoek, variërend van behandeling van slaapstoornissen bij mensen tot het creëren van een optimale leefomgeving voor huisdieren, of voor dieren in de natuur of in de veehouderij.