Universität für Bodenkultur

Institut für Nutztierwissenschaften

Department für Nachhaltige Agrarsysteme



Ethologische und elektrophysiologische Untersuchungen zum Schlaf beim adulten Rind

Ethological and electrophysiological assessment of sleep in adult cattle

Masterarbeit

Vorgelegt von: Corina Strasser Matrikelnummer: 0345162 Betreuer: Dr. Christoph Winckler Dr. Laura Hänninen

Wien, Juni 2011

Ich widme diese Arbeit meinen verstorbenen Großeltern

Maria, Elfriede und Josef.

Ihr wart stets mein Fels in der Brandung,

Inhaltsverzeichnis

1		Einle	itung .		5
2		Litera	aturüb	ersicht	6
	2.	1	Defini	tion Schlaf	6
		2.1.1	Die	Schlafphasen	7
		2.1.2	Re	gulation des Schlafes im Gehirn	10
		2.1.3	Die	Bedeutung von Schlaf	10
		2.1.4	Ge	hirnstrommessung und andere elektrophysiologische Messgrößen	12
	2.2	2	Schla	f bei Säugetieren	13
		2.2.1	Sch	nlaf bei Wiederkäuern	15
		2.2.2	EE	G Messungen	18
3		Tiere	, Mate	rial und Methode	19
	3.	1	Unter	suchungen in Finnland	19
		3.1.1	Vei	suchsstall und Versuchstiere	19
		3.1.2	. Dat	enerhebung	19
		3.	1.2.1	EEG, EMG und EOG	19
		3.	1.2.2	Verhaltensbeobachtungen	21
	3.2	2	Unter	suchungen in Schweden	23
	3.	3	Beoba	achterInnenabgleich	23
	3.4	4	Dater	analyse	23
		3.4.1	Rei	mLogical	23
		3.4.2	Ob	server 5.0	24
	3.	5	Statis	tische Analyse	24
4		Erge	bnisse	·	26
	4.	1	Elektr	ophysiologische Messgrößen für Schlaf- und Ruhephasen	26
	4.	2	•	eich der aus den elektrophysiologischen Messungen abgeleiteten	20
		101		fstadien mit den Ergebnissen der Verhaltensbeobachtungen	
		4.2.1		nische Daten	
		4.2.2		nwedische Daten	
E		4.2.3		bbachterInnenabgleich	
5				adiaaha Aanakta	
	5.			eich von EEG und Beobachtungen	
	5.3	_	veral	aich von EEG und Beodachlunden	აე

6	Schlussfolgerung	.38
	Zusammenfassung	
	Abstract	
9	Danksagung	.41
	Abbildungsverzeichnis	
11	Tabellenverzeichnis	.43
12	Quellenverzeichnis	.44

1 Einleitung

Adäquater Schlaf ist wichtig für die Gesundheit und das Wohlbefinden von Tieren (HÄNNINEN et al. 2008). Schlaf bei Säugetieren hat vitale Funktionen, die jedoch noch nicht vollständig geklärt sind. Dazu zählen die Regeneration (MEDDIS 1975), die Reduktion des Energiebedarfs (SIEGEL 2005) oder die Immobilisation und damit z.B. die Verhinderung von gefährlichen Aktivitäten (z.B. Futtersuche; ZEPELIN et al. 2005).

Beim Schlaf von Säugetieren werden zwei Schlafstadien unterschieden: Non-Rapid-Eye-Movement (NREM)-Schlaf mit der Einnahme einer für die jeweilige Tierart spezifischen Schlafposition (PARMEGGIANI 2005). Die Bezeichnung Rapid-Eye-Movement (REM)-Schlaf leitet sich aus den schnellen Augenbewegungen während dieser Schlafphase ab (SIEGEL 2005); weitere charakteristische Merkmale sind Erschlaffung der Muskulatur, Zuckungen an den Extremitäten und im Kopfbereich (ELGAR et al. 1988; PARMEGGIANI 2005), sowie Unregelmäßigkeit in der Atmung und der Herzrate (SIEGEL 2005). NREM-Phasen überwiegen gegenüber REM-Schlaf (ELGAR et al. 1988).

Für adulte Rinder liegen vor allem ältere Untersuchungen zum Schlaf vor, welche invasiv durchgeführt wurden. Ziel dieser Arbeit war es daher, Schlaf- und Ruhephasen von Rindern anhand von elektrophysiologischen Messungen nichtinvasiv zu erfassen und zu bestimmen sowie diese Messungen mit beobachteten Verhaltensweisen zu vergleichen. Die Korrelationen zwischen elektrophysiologischen Messgrößen und Verhaltensweisen könnten dann dazu genutzt werden, um anhand vergleichsweise einfach feststellbarer Verhaltensweisen Rückschlüsse auf den Schlaf bei adulten Rindern zu ziehen.

2 Literaturübersicht

2.1 Definition Schlaf

Schlaf kann als Zustand von Unbeweglichkeit definiert werden, welche mit einer stark reduzierten Reaktionsfähigkeit einher geht (SIEGEL 2005, SIEGEL 2008). Diese Immobilität kann sehr rasch rückgängig gemacht werden (SIEGEL 2005; SIEGEL 2008, ZEPELIN et al. 2005), wodurch sie sich von Koma, Betäubung und Unterkühlung (z.B. Winterstarre) unterscheidet (SIEGEL 2005, ZEPELIN et al. 2005). Schlaf wird typischerweise – aber nicht notwendigerweise – u.a. von folgenden Verhaltensweisen begleitet: Liegeposition, Ruhe, geschlossene Augen. (CARSKADON & DEMENT 2011, ZEPELIN et al. 2005). Viele Säugetierarten können auch mit halbgeöffneten Augen schlafen (ZEPELIN et al. 2005). Ruhen meint nicht notwendiger Weise Immobilität. Einige Zetazeen schwimmen, während sie schlafen (ZEPELIN et al. 2005). Auch nach SIEGEL (2008) muss Schlaf von reduzierter Reaktionsfähigkeit unterschieden werden. Ob allerdings Ruhen tatsächlich ein Kriterium für Schlaf darstellt, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. SIEGEL (2008) beschreibt Ruhen als einen Zustand von reduzierter Aktivität ohne Bewusstseinsverlust, der von Schlaf zu unterscheiden ist.

Nach Carskadon & Dement (2011) ist Schlaf ein reversibles Verhalten, das sich durch Loslösung von und Unempfänglichkeit gegenüber der Umwelt charakterisiert. Wenn Schlaf verhindert wird, versucht der Körper die verlorene Schlafmenge zurück zu gewinnen (Tobler 1995, Siegel 2005, Zepelin et al. 2005) oder der NREM-Schlaf wird intensiviert (Tobler 1995, Zepelin et al. 2005). Eine weitere Eigenschaft von Schlaf ist, dass er hormonell reguliert wird. Durch die hormonelle Selbstregulation wird bei Säugetieren die Schlafmenge und –tiefe im Gleichgewicht gehalten (Siegel 2008, Zepelin et al. 2005). Schlaf hat vermutlich mehrere Funktionen für das Gehirn und den Körper (Siegel 2005), welche genauer in Kapitel 2.1.3 besprochen werden.

Auch, wenn Schlaf komplett entzogen wird, zeigen die meisten Tiere einen ausgeprägten zirkadianen Rhythmus von Wachsamkeit und Aktivität sowie von reduzierter Reaktionsfähigkeit und Inaktivität (SIEGEL 2008). Die Summe der zirkadianen und hormongesteuerten Schlafprozesse bestimmt die Wachsamkeit (BORBÉLY & ACHERMANN 2005).

In welcher Ausprägung Schlaf gezeigt wird, ist durch die Anpassung an ökologische Faktoren bestimmt und kann sich daher zwischen den Arten qualitativ unterscheiden (SIEGEL 2005). Ökologische Faktoren haben einen bemerkenswerten Effekt auf das Schlafmuster wie beispielsweise die Verfügbarkeit von Futter und anderer Ressourcen oder die Energiekosten, die zur Erreichung von getrennten Schlaf- und Futterplätzen aufgewendet werden müssen, wodurch es zu mehr monophasischem

Schlaf kommt (ACERBI et al. 2008). In der Natur gibt es eine enorme Variation von Schlaf- und Ruhezuständen (SIEGEL 2008).

Schlaf muss unterschieden werden von Winterschlaf und Torpor (= Erstarrung) (SIEGEL 2008). Torpor und Winterschlaf sind geregelte Einsparmechanismen. Der Winterschlaf ist ein Mittel zur Energieeinsparung während langer Kälteperioden und Perioden von Nahrungsmangel. Man unterscheidet zwischen Torpor und echtem Winterschlaf, wobei im Torpor der Stoffwechsel auf "Sparflamme" geht und im "echten" Winterschlaf eine Körpertemperatur über mehrere Tage nahe dem Gefrierpunkt erreicht wird (ENGELHARDT 2010).

Der Schlaf-Wach-Rhythmus ist unterschiedlich ausgeprägt bei den einzelnen Säugetierarten. Menschen und Menschenaffen haben meist einen monophasischen Schlafzyklus, d.h. sie schlafen nur in einer einzelnen Phase. Durch gelegentliche Schlafphasen am Nachmittag kann der Schlafzyklus auch biphasisch werden. Die meisten anderen Säugetierarten zeigen einen polyphasischen Schlafzyklus, d.h. lange Aktivitätsphasen werden von kurzen Schlafperioden immer wieder unterbrochen (TOBLER 1995, ZEPELIN et al. 2005).

2.1.1 <u>Die Schlafphasen</u>

Schlaf wird üblicherweise in zwei Stadien unterteilt: NREM- (Non Rapid Eye Movement) und in REM- (Rapid Eye Movement) Schlaf (STAUNTON 2005, RUCKEBUSCH 1972, TOBLER 1995, CARSKADON & DEMENT 2011). Im Zustand des Wachseins unterscheidet man zwischen alarmierter Wachsamkeit und Dösen. Dösen ist das Gegenteil von alarmierter Wachsamkeit (RUCKEBUSCH 1972). Zur Unterscheidung von Wachsein und Schlafen ist die Weckschwelle von entscheidender Bedeutung. Wenn das Tier schläft, sind intensivere Stimuli notwendig, um eine Reaktion zu erhalten, als wenn das Tier döst oder im Zustand des ruhigen Wachseins ist (TOBLER 1995, ZEPELIN et al. 2005).

Der NREM-Schlaf ist nach STAUNTON (2005) durch Bewusstlosigkeit charakterisiert. Dabei kommt es zum Abfall des Blutdrucks und zur Verlangsamung der Atmung. Im EEG stellt er sich durch synchronisierte langsame Aktivität von hoher Spannung dar (STERIADE 2005, RUCKEBUSCH 1972, STAUNTON 2005, TOBLER 1995), wobei der Muskeltonus reduziert ist (RUCKEBUSCH 1972). Das EEG Muster im NREM-Schlaf wird als synchron beschrieben, da es charakteristische Wellenformen zeigt wie Schlafspindeln und K-Komplexe (CARSKADON & DEMENT 2011). Das Schlafen beginnt vermutlich immer mit dem Stadium des NREM-Schlafes; menschliche Neugeborene fallen jedoch nach dem Wachsein zuerst in den REM-Schlaf (CARSKADON & DEMENT 2011). Nach RUCKEBUSCH (1972) können Tiere nur aus dem NREM-Schlaf in den REM-Schlaf fallen (RUCKEBUSCH 1972). Der NREM-Schlaf wird ausschließlich bei

höheren Primaten (inkl. Menschen) in vier Stadien unterteilt (TOBLER 1995, STAUNTON 2005), welche sich generell durch die Schlaftiefe unterscheiden (STAUNTON 2005). Der menschliche Schlaf beginnt normalerweise mit dem Stadium 1, welches nur wenige Minuten (1-7 Min.) dauert. In diesem Stadium ist die Weckschwelle sehr niedrig, was sich dadurch äußert, dass eine Person sehr leicht aufwacht, wenn man sie zum Beispiel sanft berührt oder leise ihren Namen sagt. Stadium 2 ist charakterisiert durch Schlafspindeln und K-Komplexe, die im EEG sichtbar werden. Es dauert zwischen 10 und 25 Minuten an. In diesem Stadium sind bereits stärkere Stimuli notwendig, um ein Aufwachen zu bewirken. Stadium 3 ist charakterisiert durch ein EEG mit 20 – 50% langsamen Wellen. Stadium 4 hat bereits mehr als 50% langsame Wellen. Deshalb werden die Stadien 3 und 4 gewöhnlich als langsamwelliger Schlaf (slow wave sleep, SWS) bezeichnet. Die Weckschwelle ist in diesen Stadien erhöht. Stadium 3 und 4 sind sehr tiefe Schlafstadien, weshalb sie auch beim Menschen als Tiefschlafphase bezeichnet werden (CARSKADON & DEMENT 2011). temperaturregulierende Körperhaltung und eine Muskelaktivität sind grundlegende körperliche Merkmale des NREM-Schlafes. Während des NREM-Schlafes überwiegt der parasympathische Einfluss, die sympathische Aktivität wird hingegen verhindert (PARMEGGIANI 2005). In früheren Publikationen wird zum Teil als Synonym für NREM-Schlaf auch von SWS oder QS (quiet sleep, ruhiger Schlaf) gesprochen. In dieser Arbeit wird jedoch ausschließlich der Begriff "NREM-Schlaf" verwendet.

REM-Schlaf ist durch ein aktiviertes EEG charakterisiert, welches sich durch desynchronisierte schnelle Aktivität mit niedriger Spannung darstellt (DEMENT 1958, KLEMM 1966, TOBLER 1995, ZEPELIN et al. 2005, STAUNTON 2005, SIEGEL 1990). Parallel dazu zeigen sich im EMG meist schnelle Zuckungen der Augenlider (rapid eye movements) sowie totale Muskelentspannung (STAUNTON 2005, RUCKEBUSCH 1972, KLEMM 1966, TOBLER 1995, PARMEGGIANI 2005, ZEPELIN et al. 2005, SIEGEL 1990). Zuckungen des Gesichtes, der Gliedmaßen sowie generelle Muskelzuckungen können ebenfalls auftreten (DEMENT 1958, KLEMM 1966, PARMEGGIANI 2005). Der REM-Schlaf zeigt eine desynchrone EEG-Aktivität, da die Wellenformen keinem eindeutigen Muster folgen (ZEPELIN et al. 2005). RUCKEBUSCH (1972) konnte während einiger Phasen von REM-Schlaf Tachykardie, irreguläre Atmung und Bewegungen der Extremitäten bei Schafen, Kühen, Schweinen und Pferden beobachten. Ein Anstieg bzw. Unregelmäßigkeiten der Respirations- und Herzrate während des REM-Schlafes wurden auch in anderen Studien festgestellt (STAUNTON 2005, ZEPELIN et al. 2005). Bei Ziegen wurde während des REM-Schlafes hingegen eine langsamere Herz- und Respirationsrate beobachtet als im Wachsein (KLEMM 1966). Die thermoregulatorische Reaktionsfähigkeit ist im REM-Schlaf stark gehemmt (ZEPELIN et al. 2005). REM-Schlaf zeigt ein EEG-Muster, das dem von Wachsein in den meisten Hirnregionen gleicht (SIEGEL 2005a, DEMENT 1958). Dieses Muster ist im EEG vieler Arten nicht unterscheidbar von dem Muster des Wachseins (SIEGEL 1990). Trotz der Ähnlichkeit der Gehirnaktivität im REM-Schlaf und im Wachsein besteht der auch für den NREM-Schlaf typische Verlust der Aufmerksamkeit gegenüber der Umwelt auch im REM-Schlaf (JOHN et al. 2004). REM-Schlaf tritt am ausgeprägtesten beim Fötus und in der ersten Woche nach der Geburt beim Menschen auf. Danach sinkt der Anteil des REM-Schlafes dramatisch ab. Er fördert die Reifung des fötalen Nervensystems (ROFFWARG et al. 1966). Der Prozentsatz an REM-Schlaf ist charakteristisch für die verschiedenen Tiergruppen, wobei er bei Fleischfressern größer ist als bei Pflanzenfressern (RUCKEBUSCH 1972). Im REM-Schlaf ist die sympathische Aktivität sehr variabel, jedoch wird die parasympathische Aktivität entlastet (PARMEGGIANI 2005). Als Synonym für REM-Schlaf wird häufig auch von "Paradoxer Schlaf" (= paradoxical sleep, PS) oder "Aktiver Schlaf" (= active sleep, AS) gesprochen. In dieser Arbeit hingegen wird ausschließlich der Begriff "REM-Schlaf" verwendet. Ruckebusch setzte 1974 den "paradoxen Schlaf" dem "Tiefschlaf" gleich. Auch Seefeld et al. (1972) spricht von Tiefschlafperioden, gemeint ist der REM-Schlaf. Der REM-Schlaf wurde in früheren Untersuchungen an Katzen als Tiefschlaf bezeichnet, da bei diesen die Weckschwelle im REM-Schlaf am höchsten war. Auch heute noch wird zum Teil die Bezeichnung "Tiefschlaf" anstelle von "REM-Schlaf" verwendet, wenn man von Untersuchungen bei Tieren spricht. Beim Menschen jedoch wird der Tiefschlaf dem NREM-Schlaf zugeordnet (CARSKADON & DEMENT 2011).

REM-Schlaf ist nicht gleichzusetzen mit Träumen, da Träumen auch im NREM-Schlaf auftreten kann. REM-Schlaf deutet jedoch auf Träumen hin (STAUNTON 2005). Es gibt eine starke Korrelation zwischen der REM-Schlafquote und dem Grad der Geburtsreife. Nesthocker haben nach einer kurzen Tragzeit mit einem geringen Prozentsatz des adulten Gehirngewichts einen höheren REM-Schlafanteil, wogegen Nestflüchter einen geringeren Schlafanteil haben (ZEPELIN et al. 2005). Nach ROFFWARG et al. (1966) spielt der REM-Schlaf eine bedeutende Rolle in der ontogenetischen Entwicklung des zentralen Nervensystems.

Dösen hat – vergleichbar mit NREM-Schlaf – unterschiedliche Tiefen, die durch die entsprechenden vorhandenen langsamen und schnellen Wellen entstehen. Es ist nach Ruckebusch (1972) ein stabiles, nicht-evolutionäres Stadium des Wachseins, welches abrupt in einen Übergang zu entweder alarmierten Wachsein oder NREM-Schlaf endet und währenddessen die Aktivierungsschwelle durch Geräuschstimulation niedrig ist. Dösen könnte als Zwischenstadium zwischen alarmiertem Wachsein und NREM-Schlaf charakterisiert werden (Ruckebusch 1972). Ruckebusch hat den Begriff "Dösen" geprägt, dieser wird jedoch nicht kritiklos von anderen Autoren übernommen. Ob es tatsächlich so etwas wie Dösen gibt, wird in der Literatur kontrovers diskutiert (Tobler 1995, Zeppelin et al. 2005, Merrick 1971). Für LIMA et al. 2005 ist es fraglich, ob Dösen eine wachsame Form von Schlaf ist oder nicht.

2.1.2 Regulation des Schlafes im Gehirn

Unterschiedliche Gehirnregionen sind während des NREM- bzw. REM-Schlafes aktiv. Der Unterschied zwischen Wachsein und REM-Schlaf kann auf eine kleine Anzahl von Neuronen zurückgeführt werden, deren Aktivität sich in beiden Zuständen unterscheidet. Sie sind verantwortlich für den Unterschied in der Muskelanspannung (CHASE & MORALES 2005). Im basalen Vorderhirn befindet sich eine Gruppe von Schlaf aktivierenden Neuronen. Diese Zellen bewirken den NREM-Schlaf und der Schlaf wird großteils reduziert, wenn diese Region Schaden nimmt. Sie erhalten auch das Wachsein (SIEGEL 2005). Während des REM-Schlafes werden das basale Vorderhirn und der Hypothalamus aktiviert. (STAUNTON 2005). REM-Schlaf kann durch den isolierten Hirnstamm erzeugt werden, genaugenommen durch den Pons und das benachbarte Mittelhirn. Die hier enthaltenen Neuronen - "REM-ON" Neuronen - sind während des REM-Schlafes maximal aktiv und für den totalen Muskelspannungsverlust verantwortlich. Der REM-Schlaf wird für lange Zeit verhindert oder großteils vermindert, wenn diese Neuronen beschädigt werden. Mehr REM-Schlaf wird gezeigt, wenn der isolierte Hirnstamm gekühlt wird (HELLER 2005, SIEGEL 2005a, McGINTY & SZYMUSIAK 2005, SIEGEL 2005).

Andere Regionen des Hirnstammes bewirken eine erhöhte Aufmerksamkeit. Werden sie gereizt, bewirken sie einen Weckreiz, während es bei ihrer Zerstörung zur Somnolenz kommt (ENGELHARDT 2010). Diese Neuronen sind im Raphekern des Hirnstammes angesiedelt und kontrollieren auch den NREM-Schlaf (McGINTY & HARPER 1976). Die "REM-OFF" Neuronen sind ständig aktiv während des Wachseins. Die REM-ON- bzw. REM-OFF-Neuronen haben jedoch eine verminderte Aktivität während des NREM-Schlafes (SIEGEL 2005). Der Isocortex ist ein notwendiges physikalisches Trägermaterial für den NREM-Schlaf (STAUNTON 2005). Noradrenalin-, Serotonin- und Histaminneuronen sind kontinuierlich aktiv während des Wachseins die Abgabe von Neurotransmittern geht jedoch während des NREM-Schlafs zurück. Während des REM-Schlafs wird die Abgabe vollkommen eingestellt (JOHN et al. 2004).

2.1.3 <u>Die Bedeutung von Schlaf</u>

Viele Neurologen und Schlafforscher nehmen an, dass alle Tiere schlafen (SIEGEL 2008), auch wenn dies bis heute nicht eindeutig bewiesen werden konnte. Eine weitere Annahme besteht darin, dass Schlafentzug tödlich ist für Tiere, wenn er lange genug anhält (STAUNTON 2005). Letzteres wurde vor allem für Ratten beschrieben (RECHTSCHAFFEN & BERGMANN 2002). Aus beiden Annahmen lässt sich schließen, dass Schlaf eine allgemeine, lebensnotwendige Funktion hat (SIEGEL 2005, SIEGEL 2008).

Es gibt mehrere Theorien, die die Funktion des Schlafens zum Inhalt haben.

1) Energieeinsparungstheorie

Nach der Energieeinsparungstheorie wird im Schlaf Energie gespeichert und der Schlaf hält die verschiedenen Tierarten vom Aktivsein zu ungelegenen Zeiten ab. Große Pflanzenfresser entwickelten möglicherweise eine geringere Schlafdauer, da sie gegenüber Jägern verletzlicher sind als kleine Pflanzenfresser. Grasende Tiere benötigen mehr Zeit im wachen Zustand, um zu fressen, da ihre Nahrung nur von geringem kalorischem Wert ist. Kleine Pflanzenfresser und andere Tiere benötigen möglicherweise eine längere Schlafdauer, um Energie zu sparen, da ihre relativ große Körperoberfläche im Verhältnis zur Körpermasse viel Energie zur Erhaltung der Körpertemperatur kostet. Die Energieeinsparung scheint besonders für Neugeborene wichtig zu sein, da sie ebenfalls eine große Köperoberfläche im Verhältnis zur Körpermasse haben. Wenn die Körpergröße zunimmt und das sensorisch-motorische System heranreift, haben die jungen Tiere mehr Vorteile von einer größeren Aktivität im Wachsein. Gleichzeitig nimmt die Schlafdauer ab (SIEGEL 2005).

2) Immobilisationstheorie

Die mit Schlaf verbundene Immobilisation kann als Überlebensstrategie z.B. zur Feindkontaktvermeidung angesehen werden. Eine umfangreiche Erholung würde man bei der Immobilisationstheorie nicht erwarten, auch nicht nach längerem Schlafentzug (MEDDIS 1975). Die Funktion des Schlafens bedeutet ein angepasstes Nicht-Antworten, d.h., dass der Schlaf Aktivitäten (z.B. Futtersuche) verhindert, wenn diese gefährlich oder ineffizient wären. Durch den Schlaf werden schädliche Reaktionen blockiert. Vor dem Schlafen ablaufende Rituale sind charakteristisch für einige Arten, z.B. Nestbauen. Aufgrund dieser vorbereitenden Verhaltensweisen kann der Schlaf als instinktives Verhalten angesehen werden (ZEPELIN et al. 2005).

3) Regenerationstheorie

Die Regenerationstheorie besagt, dass es im Schlaf lebensnotwendige Prozesse gibt, die während des Wachseins nicht ablaufen können (MEDDIS 1975). Gehirnprozesse, die während des Schlafens ablaufen, unterstützen das Verhalten, z.B. Lernen, im wachen Zustand (ZEPELIN et al. 2005). Laut dieser Theorie ist ein gesundes Leben ohne Schlaf nicht möglich, zumindest nicht bei Säugetieren. Diese Theorie lässt sich jedoch nur aufrecht erhalten, wenn man davon ausgeht, dass alle Säugetiere schlafen (MEDDIS 1975). Gegen diese Theorie sprechen Untersuchungen von Van TWYVER & ALLISON (1969 in MEDDIS 1975), in denen das EEG von Spitzmäusen keine eindeutige Schlafperiode zeigte. Spitzmäuse haben eine hohe Stoffwechselrate und müssen in regelmäßigen Abständen fressen, was jedenfalls keine ausgedehnten Schlafperioden erlaubt. Die hohe Stoffwechselrate entsteht, da es in Säugetieren eine Beziehung zwischen Körpermasse und gewichtsspezifischer

Stoffwechselrate gibt. Die Stoffwechselrate des Gehirns ist in kleinen Tieren größer als in großen Tieren und korreliert mit der Stoffwechselrate des Körpers (TURNER et al. 2005). Ebenfalls weiß man von Albatrossen (MEDDIS 1975), dass sie mehrere Wochen fliegen können ohne dazwischen zu landen. Es ist fraglich, ob diese Tiere im Fliegen schlafen oder ob sie den Schlaf für eine längere Zeit unterdrücken können. Nach ZEPELIN et al. (2005) konnte die Annahme, dass einige Säugetierarten nicht schlafen, durch systematische Beobachtungen widerlegt werden. Einige Arten können eventuell unter besonderen Umständen das Schlafen für längere Zeit hinauszögern oder der Schlaf ist einfach schwer zu beobachten.

2.1.4 Gehirnstrommessung und andere elektrophysiologische Messgrößen

Das Mittel zur Wahl, um den Schlaf zu erforschen, ist, Zusammenhänge zwischen dem Verhalten und veränderten Gehirnstrommessungen (=EEG) festzustellen (TOBLER 1995).

Bei den meisten elektrophysiologischen Messungen werden Elektroden verwendet, die nicht im direkten Kontakt mit dem Gewebe stehen, sondern außen auf die Haut aufgebracht werden. Für die Verbindung zwischen Haut und Gewebe wird ein Gel unter den Elektroden verwendet, wodurch ein stabiles elektrisches Potential entstehen kann. Ein EEG sollte eine repräsentative Darstellung über die räumliche Verteilung der elektrischen Potentiale des gesamten Gehirns geben, weshalb die Elektroden an verschiedenen Stellen des Schädels angebracht werden (NIEDERMEYER & LOPES 2005).

EEG-Aufnahmen beziehen sich auf die Messung, Verstärkung und Erfassung von Unterschieden zwischen schwankenden elektrischen Feldpotentialen als Funktion der Zeit (NIEDERMEYER & LOPES 2005). Die Übertragung von elektrischen Impulsen über eine synaptische Erregung im Organismus. Dabei werden Neurotransmitter eingesetzt. Durch diese chemische Erregungsübertragung kann der Organismus bestimmte Funktionen des Nervensystems durch biochemische und hormonelle Einflüsse gezielt steuern. Jedes Neuron setzt nur einen Transmittertyp ein, wodurch neuronale Funktionssysteme nur einen bestimmten Transmitter benutzen (z.B. serotoninerge, noradrenerge, dopaminerge Systeme). Somit kann der Organismus gezielt durch das Ausschütten von z.B. Hormonen Neuronensysteme steuern, wodurch u.a. der Schlaf-Wach-Rhythmus kontrolliert wird (ZSCHOCKE 2002).

Biologische Artefakte sind jene Potenzialschwankungen, die zwar im Körper des Versuchstieres, nicht aber in seinem Gehirn entstehen. Diese Artefakte können durch z.B. Pulswellen, Lidbewegungen, Atembewegungen oder Körperbewegungen entstehen (WEHRLI & LOOSLI-HERMES 2003). Vor allem Bewegungen des Kopfes führen

zu Artefakten im EEG (NIEDERMEYER & LOPES 2005). Exogene Artefakte werden durch z.B. technische Geräte ausgelöst (WEHRLI & LOOSLI-HERMES 2003). Bis auf wenige Ausnahmen bestätigen Veränderungen im EEG zuverlässig schlafrelevante Verhaltensänderungen und Veränderungen der Gehirnaktivität (ZEPELIN et al. 2005).

2.2 Schlaf bei Säugetieren

Von rund 55 500 Wirbeltierarten (STEINER 2004) wurden weniger als 50 auf Kriterien, die auf Schlaf hindeuten, untersucht. Einige dieser Säugetierarten erfüllen ihr ganzes Leben nicht einmal die Kriterien für Schlaf. Anderen wiederum scheint es möglich zu sein, die Schlafdauer stark zu reduzieren oder für lange Zeit ganz ohne Schlaf auszukommen (SIEGEL 2008), zum Beispiel Spitzmäuse (TWYVER & ALLISON 1969; siehe 2.1.3) oder Zetazeen nach der Geburt (SIEGEL 2005). In manchen Arten ist die Unterscheidung zwischen Wachsamkeit und Schlaf nicht ganz klar. Dies betrifft vor allem Fleischfresser, Huftiere und Insektenfresser (ZEPELIN et al. 2005). NREM- und REM-Schlaf scheinen jedoch eine fundamentale Eigenschaft des Säugetierschlafes zu sein (TOBLER 1995), obwohl REM-Schlaf bisher beim Ameisenigel, beim Koalabären, beim Delphin und beim Elephanten nicht bzw. nicht mit Gewissheit beobachtet werden konnte (ZEPELIN et al. 2005).

Schlaf wurde bisher bei landlebenden Säugetieren und in Meeressäugern untersucht, wobei deutliche Unterschiede zu erkennen sind. Dies hängt vermutlich damit zusammen, dass der Schlaf an den Lebensstil der jeweiligen Art angepasst ist (MEDDIS 1975).

-) Landlebende Säugetiere

In landlebenden Säugetieren variiert die tägliche Schlafmenge zum Teil stark von Art zu Art. Fledermäuse beispielsweise schlafen bis zu 19 Stunden, Pferde hingegen nur drei Stunden täglich (ZEPELIN et al. 2005). Pflanzenfressende Huftiere, insbesondere jedoch die Wiederkäuer, müssen sich über große Teile des Tages mit der Nahrungsaufnahme und -verwertung beschäftigen. Wiederkauen findet auch während Ruhephasen statt. Die Tiere müssen ihre Nachtruhe häufiger unterbrechen und zum Koten bzw. Harnen aufstehen, da sie große Mengen an Ballaststoffen mit der zellulosehaltigen Nahrung aufnehmen (BALCH 1955). Unter natürlichen Bedingungen müssen Tiere wachsam bleiben und können sich lange Schlafperioden nicht leisten. Daher kann ein Schlafmangel durch intensivere NREM-Schlafphasen ausgeglichen werden. Eine längere Schlafdauer wäre nicht sinnvoll (TOBLER, 1995). Die morphologischen, ethologischen und anatomischen Unterschiede einer Säugetierordnung erklären nicht so einfach die unterschiedlichen Schlafmengen der einzelnen Arten (ZEPELIN et al. 2005). Primaten beispielsweise zeigen keine speziellen Schlafeigenschaften, die sie von Nagetieren, Insektenfressern oder anderen Säugetierordnungen unterscheiden würden. Auch der Mensch scheint keine speziellen Schlafeigenschaften zu zeigen, die ihn von anderen Arten unterscheiden würde (SIEGEL 2005). Die tägliche Schlafmenge ist bei Fleischfressern am höchsten, geringer bei Allesfressern und am geringsten bei Pflanzenfressern, in welchen sie korreliert ist Körpermasse umaekehrt zur (ZEPELIN et al. 2005). Gesamtschlafdauer ist positiv korreliert mit der Stoffwechselrate und negativ korreliert mit der maximalen Lebenserwartung, dem Gehirngewicht sowie dem Körpergewicht, wobei die Schlafintensität hierbei nicht berücksichtigt wird (TOBLER 1995). Diese Korrelation ist verantwortlich für eine insgesamt signifikante Korrelation zwischen Körpermasse und Schlafdauer in allen bisher untersuchten Säugetieren (ZEPELIN et al. 2005).

Kleine Tiere haben einen kürzeren Schlafzyklus und die Zyklusdauer reicht von 8 Minuten bis zu 1,8 Stunden. Die Gründe für diese Korrelation sind unbekannt (SIEGEL 2005). Landlebende Säugetiere zeigen fast alle als Jungtiere ein sehr großes Schlafbedürfnis, welches mit dem Heranwachsen abnimmt und sich dem Rhythmus der erwachsenen Artgenossen angleicht (HASSENBERG 1965). Landlebende Säugetiere haben nach der Geburt die größte Gesamtschlaf- bzw. REM-Schlafmenge bzw. sind nur minimal aktiv. Wächst das Tier heran zum Adulten, sinkt die Schlafmenge allmählich ab und die Aktivität steigert sich (CARSKADON & DEMENT 2011). Der REM-Schlaf spielt für die Entwicklung des Nervensystems des Fötus und des Neugeborenen eine entscheidende Rolle (STAUNTON 2005). Er tritt am häufigsten in frühen Lebensphasen auf. Die REM-Schlafzeit reduziert sich jedoch, wenn NREM-Schlaf und Wachsamkeit während der Reifung entstehen (ZEPELIN et al. 2005). REM-Schlaf zeigte sich bei fast allen bisher untersuchten landlebenden Säugetieren, auch bei den primitiven eierlegenden Säugetieren wie dem Schnabeligel und dem Schnabeltier. Diese Arten zeigten sogar den größten Anteil an REM-Schlaf im Vergleich zu allen bisher untersuchten Säugtierarten (SIEGEL et al. 1999).

-) Meeressäuger

Bei allen bisher untersuchten Säugetieren geschieht die Veränderung im Muster des EEGs von der Synchronisation zur Desynchronisation bzw. umgekehrt während des Schlaf-Wach-Rhythmus in beiden Gehirnhälften gleichzeitig. Bei großen Tümmlern geschieht dies nicht nur gleichzeitig sondern kann auch unabhängig voneinander auftreten. Bei Zetazeen zeigen sich fast nie langsame Wellen mit hoher Spannung gleichzeitig in beiden Gehirnhälften (MUKHAMETOV et al. 1977, LYAMIN et al. 2004). Die Funktion dieser Adaptierung ist bis heute nicht ganz klar, könnte jedoch eine Anpassung an das Leben im Meer darstellen, da das Atmen nur möglich ist, solange das Tier in Bewegung bleibt (TOBLER 1995). Bei allen bisher untersuchten Meeressäugern ist jenes Auge, welches sich kontralateral zur Gehirnhälfte mit den langsamen Wellen befindet, fast immer geschlossen. Das andere hingegen ist fast immer offen (SIEGEL 2005, LYAMIN et al. 2004). Außerdem wurde bei Zetazeen bisher noch kein REM-Schlaf beobachtet (STAUNTON 2005, MUKHAMETOV et al. 1977). Das

sensorische System und der Bewegungsapparat zeigen keine Inaktivität im herkömmlichen Sinne.

SIEGEL (2005) weist darauf hin, dass bei Zetazeen nach Schlafmangel keine Kompensation durch vermehrtes oder intensiveres Schlafen auftritt und sich daher die Frage stellt, ob Zetazeen wirklich schlafen. Ein weiterer wichtiger Unterschied ist das fast vollständige Fehlen von Schlafverhalten bei Neugeborenen und das reduzierte Schlafverhalten der Mutter nach der Geburt (LYAMIN et al. 2005). Zetazeen zeigen nur sehr wenig Schlafverhalten – wie z.B. Unbeweglichkeit oder Schließen der Augen – nach der Geburt. Dieses steigert sich nur langsam über Monate hinweg auf das Niveau eines adulten Tieres. Dieses geringe Schlafverhalten zeigt sich in einer Phase des schnellsten Wachstums von Körper und Gehirn im Neugeborenen. Es ist nach der Geburt noch stark an die Mutter gebunden (Saugen, Futter finden, Feindkontakt vermeiden, Schwimmen lernen). Das Neugeborene hat wesentlich weniger Körperfett, weshalb sein Nicht-Schlafen der Thermoregulation im kalten Meereswasser dienen könnte. Sobald das Tier an Masse und Fett gewinnt und die Größe eines Erwachsenen erreicht, zeigen sich auch Schlaf- und Ruheverhalten sowie Phasen von Immobilität wie in ausgewachsenen Tieren (SIEGEL 2005).

2.2.1 Schlaf bei Wiederkäuern

Pflanzenfressende Nutztiere verbringen etwa 85% einer 24h-Periode im Stadium des Wachseins. Kühe und Schafe schlafen vor allem in der Nacht, Pferde jedoch ausschließlich nachts. Pferde (80%) und Schafe (60%) verbringen den Großteil der Nacht stehend, während Kühe (87%) hauptsächlich liegen (RUCKEBUSCH 1972). 9 -10 Wochen alte Kälber liegen innerhalb einer 20h-Periode zu 58%, davon zu 5% in Seitenlage (HÄNNINEN et al. 2008). Die Grundhaltung des Liegens bei adulten Kühen ist das Liegen im Brustbereich auf der Sternalregion. Die Vorderbeine sind normalerweise untergeschlagen im Bereich des Karpalgelenks und die Hinterbeine etwas gestreckt, wobei das eine mehr unter dem Rumpf liegt und daher mehr belastet wird als das andere. Die Klauen ragen seitlich unter dem Bauch hervor. Der Bauch ist etwas verdreht, sodass das Euter sichtbar wird. Füllungszustand und Größe des Euters spielen bei der Lage der Hinterhand eine entscheidende Rolle. Der Kopf wird normalerweise aufrecht getragen (SAMBRAUS 1978, BOGNER & GRAUVOGL 1984). Beim Schlafen jedoch werden Kopf und Hals auch flach auf den Boden gestreckt bzw. seitlich an die Flanke gelegt. Die totale Seitenlage ist beim adulten Rind selten, da es zu Ansammlungen von Gärgasen im Pansen kommt, die in dieser Ruheposition nicht abgegeben werden können (SAMBRAUS 1978, BOGNER & GRAUVOGL 1984). Nach TOBLER (1995) ist die Seitenlage mit ausgestreckten Beinen die bevorzugte Schlafposition von Pferden und Elefanten und kann auch bei ungestörten Kühen beobachtet werden.

Liegen verbunden mit Aufstützen des Kopfes am Boden ist ein bekanntes Verhalten von Rindern beim Ruhen (MERRICK & SCHARP 1971, SAMBRAUS 1978). Wenn die Tiere nicht daran gehindert werden, drehen sie den Kopf gerne auf die Flanke. Diese "Milchfieberposition" ist charakteristisch und zeigt sich 6 – 10 Mal pro Nacht und dauert insgesamt weniger als eine Stunde (RUCKEBUSCH & BEUNO 1972 in RUCKEBUSCH et al. 1974). Der Zeitraum, in dem diese Kopfposition eingenommen wird, entspricht etwa der unten beschriebenen täglichen REM-Schlafdauer bei Rindern (SAMBRAUS 1978). Manchmal ruhen die Tiere mit dem Kopf am Boden, als ob sie gleich einschlafen würden. Tatsächlich jedoch scheint es, als ob sie die Umgebung erkunden würden (RUCKEBUSCH et al. 1974).

Bei Kühen, Schafen und Pferden sind die Augen während des Wachseins offen und während des REM-Schlafes geschlossen. Während des Dösens ist das obere Augenlid der Kuh entspannt und während des NREM-Schlafes sind die Augen bei Kühen, Schafen und Pferden teilweise geschlossen (RUCKEBUSCH 1972). Kälber können mit geschlossenen und halbgeschlossenen Augen schlafen (HÄNNINEN et al. 2008).

Kühe haben einen zerstückelten Schlaf-Wach-Rhythmus (TOBLER 1995). Nach RUCKEBUSCH (1972) unterteilt sich der Schlaf während der Nacht generell in zwei oder drei Perioden und während jeder dieser Perioden wiederholt sich der Übergang von NREM-Schlaf zum REM-Schlaf drei oder vier Mal. Die Länge des NREM- bzw. REM-Schlafzyklus kann bei Rindern stark variieren (TOBLER 1995). Nach MEDDIS (1957) können sich Herbivoren, welche die meiste Zeit wach sein müssen um Nahrung aufzunehmen, lange Schlafperioden nicht leisten.

REM-Schlaf zeigte sich bei Pferden, Kühen und Schafen nur in der Nacht (RUCKEBUSCH 1972). Auch Ziegen zeigen einige Minuten REM-Schlaf pro Nacht (RUCKEBUSCH 1962a in RUCKEBUSCH 1972). Bei Wiederkäuern tritt er vier- oder fünfmal pro Nacht auf und dauert fünf bis zehn Minuten. Es gibt zum Großteil ältere Untersuchungen zum Schlaf beim adulten Rind, wobei elektrophysiologische Messungen ausschließlich mit invasiven Methoden durchgeführt wurden. Nach Ansicht mancher Autoren gibt es zwei Phänomene, die den REM-Schlaf bei Rindern charakterisieren: Der Kopf liegt am Boden auf und die Pansenkontraktionen sind langsam (SEEFELD et al. 1972, RUCKEBUSCH & BEUNO 1972 in RUCKEBUSCH et al. 1974). Bei Kühen zeigt sich ein abrupter Verlust des Haltungstonus jedoch nur zu Beginn des REM-Schlafes (RUCKEBUSCH 1972). REM-Schlaf bei erwachsenen Wiederkäuern wird weiterhin charakterisiert durch einen vollkommen entspannten Genickmuskel, Zuckungen der Augenlider, der Gesichtsmuskeln und der Ohren, durch rollende Augäpfel sowie durch kortikale schnelle Aktivität von niedriger Spannung in einem desynchronisierten EEG (MERRICK & SCHARP 1971, RUCKEBUSCH 1962a sowie RUCKEBUSCH & BELL 1970 in RUCKEBUSCH et al. 1974). Erwachsene Rinder verbringen nur 30 - 60 Minuten pro Tag im REM-Schlaf. Die Dauer der einzelnen REM-Schlafperioden ist nie länger als zwei bis acht Minuten. REM-Schlaf zeigt sich nur, wenn das Tier gut an seine Umgebung angepasst ist (RUCKEBUSCH et al. 1974, (SAMBRAUS 1978).

NREM-Schlaf zeigt sich, wenn sich das Tier hinlegt oder wenn es steht, mit oder ohne Unterstützung des Kopfes; er tritt nach Ruckebusch (1965) auch während des Wiederkauens auf. Ruckebusch (1972) beobachtete, dass Schafe und Kühe während des alarmierten Wachseins und des Dösens wiederkauten. Möglicherweise tritt auch NREM-Schlaf während des Wiederkauens auf. Wenn das Wiederkauen endet, fallen Kühe häufig abrupt in den REM-Schlaf (Ruckebusch 1972). Das EEG-Muster einer ruhenden, wiederkauenden Kuh könnte dem des Dösens oder dem des NREM-Schlafes gleichen. Zu Beginn des Wiederkauens ist immer das EEG-Muster entweder von alarmiertem Wachsein oder von Dösen, manchmal auch das von NREM-Schlaf zu erkennen (Ruckebusch 1972). Das Muster des EEGs von Ziegen ist während des Wiederkauens nicht von dem des Schlafes unterscheidbar (Bell 1960).

Das EEG wird durch die Entwicklung der Vormägen und durch das Wiederkauen beeinflusst (RUCKEBUSCH 1965). Zwei Tage alte Lämmer zeigten innerhalb einer 24 Stunden Periode 130 Minuten REM-Schlaf, welcher sich auf 22 Einzelperioden aufteilte. Sobald bei diesen Sauglämmern das Wiederkauen begann, sank die Menge an REM-Schlaf (RUCKEBUSCH 1962b in RUCKEBUSCH 1972). Bei zwölf Monate alten Schafen zeigte sich eine weitere Reduktion des REM-Schlafes auf 32 Minuten, wobei auch totaler Muskelspannungsverlust und eine reduzierte Pansenbeweglichkeit beobachtet werden konnten (RUCKEBUSCH 1972).

Einen beträchtlichen Anteil des Wachseins verbringen Nutztiere, die gut an ihre Umwelt angepasst sind, mit Dösen. Kühe verbringen den größten Teil ihres Wachseins im Stadium des Dösens, Pferde hingegen verbringen die meiste Zeit in aufmerksamer Wachsamkeit. Dösen zeigt sich vor allem in der Nacht (RUCKEBUSCH 1972). Bei 9 – 10 Wochen alten Kälbern konnte kein Dösen beobachtet oder im EEG festgestellt werden (HÄNNINEN et al. 2008). Im Dösen zeigen sich Delta-Rhythmen im EEG bei Kühen, vor allem während des Wiederkauens. Kühe erreichen beim Dösen einen tieferen Zustand als Pferde und Schafe, wobei sie einen höheren Prozentsatz von synchronisierten langsamen Wellen aufweisen (RUCKEBUSCH 1972). Bei erwachsenen Schafen ist das EEG-Muster des Dösens durch Spindeln charakterisiert (RUCKEBUSCH et al. 1974). Bei Rind, Pferd und Schaf weist das EEG Gemeinsamkeiten auf. NREM-Schlaf ist charakterisiert durch synchronisierte langsame Aktivität mit hoher Spannung (= HVSA). REM-Schlaf und alarmierte Wachsamkeit sind charakterisiert durch schnelle Aktivität mit niedriger Spannung (= LVFA). Dösen setzt sich aus einer Mixtur von beidem, HVSA und LVFA, zusammen (RUCKEBUSCH 1972).

Veränderungen im EEG von Kälbern lassen vermuten, dass die kortikale bzw. die subkortikale Aktivität bei neugeborenen Kälbern noch nicht vollständig ausgereift ist. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Differenzierung und die Reifung des

Gehirns einer bestimmten ontogenetischen Reihenfolge folgen, welche für jede Tierart charakteristisch ist. Die Myelinisierung (= "Isolierung" von Nervenbahnen) des Kalbgehirns ist nach der Geburt, im Gegensatz zur Motorik, noch nicht vollständig abgeschlossen (JASTRZEBSKI 1973, TAKEUCHI et al. 1998). HÄNNINEN et al. (2008) konnte beobachten, dass 9 – 10 Wochen alte Kälber den Schlaf mit REM-Schlaf begannen, obwohl Säugetiere und Vögel normalerweise mit NREM-Schlaf beginnen (ZEPELIN et al. 2005). Dies lässt ebenfalls vermuten, dass die Gehirnentwicklung beim Jungtier noch nicht vollständig abgeschlossen ist (SIEGEL 2005). Innerhalb einer 20h-Periode schliefen die 9 -10 Wochen alten Kälber zu 25%, wovon sie 45% im REM-Schlaf verbrachten (HÄNNINEN et al. 2008).

2.2.2 <u>EEG Messungen</u>

Ein Großteil des bisherigen Wissens, das man über den Schlaf bei Säugetieren gewonnen hat, erlangte man durch die Verhaltensbeobachtung bestimmter Säugetierarten, wie z.B. Schweine (LUIF 2008), Wale und Delphine (LYAMIN et al. 2005), Elefanten (TOBLER 1992) und Giraffen (IMMELMANN & GEBBING 1962, TOBLER & SCHWIERIN 1996). In einigen anderen Studien wurden elektrophysiologische Messungen mit implantierten Elektroden zum Beispiel an Rindern, Pferden, Ziegen, Schweinen, Kälbern, Delphinen, Rhesusaffen, Katzen oder dem Schnabeltier durchgeführt (RUCKEBUSCH 1965, RUCKEBUSCH 1972, RUCKEBUSCH et al. 1974, MUKHAMETOV et al. 1977, MERRICK & SCHARP 1971, KLEMM 1966, TAKASHI 1998, HSIEH et al. 2008, SIEGEL 1999, WÖHR & ERHARD 2006, DEMENT 1958). Die in dieser Arbeit verwendete nicht-invasive Methode wurde bei Rindern bisher nur an Kälbern (HÄNNINEN 2007) angewendet. Diese Methode sowie die erforderliche Ausstattung werden in der humanen Schlafforschung eingesetzt.

3 Tiere, Material und Methode

3.1 Untersuchungen in Finnland

3.1.1 <u>Versuchsstall und Versuchstiere</u>

Die Untersuchungen fanden im Versuchsstall der veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Helsinki in Finnland statt. Es standen sieben Kühe der Rasse Ayrshire im Alter zwischen vier und sieben Jahren zur Verfügung; vier Kühe waren trockenstehend und drei Kühe waren in der Hochlaktation. Die vier trockenstehenden Kühe erhielten 40kg Grassilage (TM 22-23%) sowie 200g Mineralfutter pro Tag. Die drei hochlaktierenden Kühe erbrachten eine tägliche Milchleistung von 40-45kg und erhielten 50kg Silage (TM 22-23%) sowie 14-15kg Kraftfutter pro Tag.

Die sieben Versuchskühe wurden vor den Aufnahmen in Anbindehaltung gehalten, jedoch für die elektrophysiologischen Messungen in eine Box mit Gummimatten und Sägespäneeinstreu gebracht, damit sie sich frei bewegen konnten. Prinzipiell lebten die Kühe im Laufstall mit automatischer Melkung, sie wurden jedoch in der Trockenstehphase in Anbindung gehalten. Nur zwei der sieben Versuchskühe standen in permanenter Anbindehaltung, da ihre Euter zu tief saßen für die Robotermelkung. Zur Gewöhnung an die neue Umgebung und die neuen Nachbarn wurden die Kühe mindestens vier Stunden vor Beginn der Aufnahme in die Kuh verblieb für die elektrophysiologischen Abkalbebox gebracht. Eine Aufzeichnungen in der Anbindehaltung. Dies geschah, weil eine andere, kurz vor dem Abkalben stehende Kuh in der Abkalbebox für die Aufnahmen vorgesehen war, die Vorbereitungen nach drei Stunden jedoch abgebrochen wurden, da sie vermutlich bereits Wehen hatte. Daher wurde die Beobachtung auf eine der angebundenen Kühe verlagert, welche bereits mit einem zweiten, baugleichen Embla Titanium[®] ausgestattet war. Diese Kuh zeigte auch in der Anbindehaltung verschiedene Ruhe- bzw. Schlafpositionen sowie NREM-, REM-Schlaf und Dösen in der späteren Auswertung des EEGs.

3.1.2 Datenerhebung

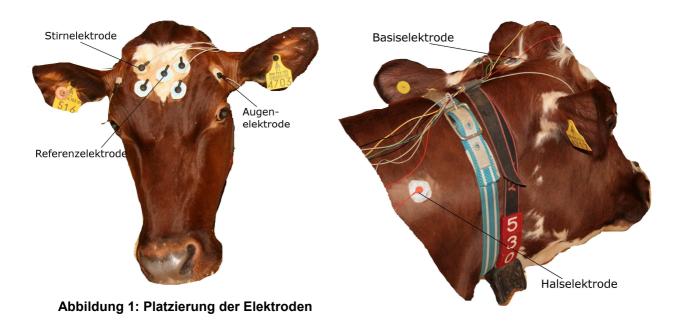
3.1.2.1 EEG, EMG und EOG

Um Schlaf elektrophysiologisch darstellen zu können, wurden die drei Parameter EEG(Elektroenzephalogramm), EMG (Elektromyogramm) sowie EOG (Elektrookulogramm) erfasst (WEHRLI & LOOSLI-HERMES 2003). Die elektrophysiologischen Aufzeichnungen wurden mit Hilfe des Embla Titanium $^{\otimes}$ -

einem Gerät aus der humanen Schlafforschung - nicht-invasiv erfasst. Insgesamt wurden neun Aufzeichnungen mit einer Gesamtaufnahmezeit von rund 39 Stunden gemacht. Jede Kuh bekam einen Euterhalter angelegt, was keine Irritation für die Tiere darstellte, da sie diesen gewohnt waren. Der Euterhalter diente als Befestigungspunkt für den Embla Titanium[®], an dem er mit Klebeband fixiert wurde. Als Gegengewicht wurde eine mit Wasser gefüllte Plastikflasche verwendet. Mit Snap-on-Kabeln wurden die angeklebten Elektroden mit dem Embla Titanium[®] verbunden. Die Aufnahmen wurden manuell mit Hilfe der Software RemLogical 2.0 gestartet.

Für die elektrophysiologischen Messungen mussten die Kühe auf der Stirn, über den Augen, im Genick sowie am Hals bis auf die Haut rasiert werden, um den elektrischen Hautwiderstand zu reduzieren und so ein störfreies Signal für die polysomnographischen Aufzeichnungen zu erhalten (s. Abbildung 1). Rasiert wurde zuerst mit Elektro- und danach mit Nassrasierer. Alle Elektroden wurden mit Superkleber angeklebt.

Die Position für die aufgeklebten Elektroden auf den Kühen für die elektrophysiologischen Messungen orientierte sich an jener für Kälber (HÄNNINEN 2007).



Auf der Stirn wurden fünf Elektroden aufgeklebt, wobei die mittlere Elektrode die Referenzelektrode darstellte und die äußeren vier Elektroden der EEG Messung dienten. Über der Augenhöhle am Augenmuskel wurden jeweils links und rechts die Augenelektroden zur EOG Messung angebracht. Für die EMG Messung wurden

jeweils links und rechts am Halsmuskel die Halselektroden aufgeklebt. Die Basiselektrode wurde im Genick hinter der Hornbasis angebracht; sie stellte den Nullleiter für den Embla Titanium[®] dar. Durch die massive Hornbasis war der Nullleiter vor elektrophysiologischen Störsignale geschützt.

Bis auf die Augenelektroden lieferten alle Elektroden ein klares Signal für die Auswertung. Obwohl sich bei Kälbern durch die gewählte Position der Augenelektroden ein schönes EOG zeigte (HÄNNINEN 2010), war dies bei adulten Kühen nicht der Fall.

3.1.2.2 Verhaltensbeobachtungen

Während der elektrophysiologischen Aufzeichnungen wurde das Verhalten der Kühe mittels Observer 5.0 kontinuierlich erfasst. Folgende Verhaltensweisen wurden dabei beobachtet:

Tabelle 1: Definition der während der kontinuierlichen Direktbeobachtungen verwendeten Verhaltensparameter

Verhaltenswe	eise	Definition					
Stehen		mindestens drei Klauen berühren mit der Sohle					
		den Boden					
Liegen		auf der Seite oder in Brustlage; beginnt, sobald das					
	,	Brustbein den Boden berührt					
	getragener Kopf	Kopf wird getragen und ist ruhig					
	aufgestützter	Kopf ruht auf der Flanke bzw. auf dem Boden und					
Kopfposition	Kopf	wird nicht getragen					
		Kopf wird getragen und bewegt sich, die Kuh ist					
	wach	aufmerksam (Ohren spitzen, etwas mit den Augen					
		verfolgen)					
	offen	Augenlider bedecken weniger als die Hälfte des					
	Offeri	Augapfels, der Augapfel ist sichtbar					
		Augenlider bedecken die Hälfte oder mehr als die					
Augen	halbgeschlossen	Hälfte des Augapfels, der Augapfel ist noch					
		sichtbar					
	geschlossen	Augapfel ist nicht mehr sichtbar					
Zuckungen		Schnelle Bewegungen der Muskulatur, der Ohren,					
		der Augen, des Flotzmauls bzw. des ganzen					
		Körpers					

Die Beobachtungsdauer lag zwischen 1h 46min und 5h 50min. Der Beobachtungszeitraum lag zwischen ca. 17Uhr nachmittags und 02Uhr früh.

Tabelle 2: Protokoll der Verhaltensbeobachtungen

Datum	Kuh	Beobachtungs-	Beobachtungs-	Beobachtungs-
		beginn	ende	dauer
04.03.2010	Tussaud	21:22:33	01:47:23	4h 27min 50sec
06.03.2010	Viennetta	20:49:17	01:44:18	4h 55min 01sec
07.03.2010	Viennetta	23:44:14	01:30:26	1h 46min 12sec
07.03.2010	Sibylla	20:47:40	23:41:48	2h 54min 08sec
09.03.2010	Triumf	21:22:09	01:09:45	3h 12min 36sec
11.03.2010	Tavernessa	16:54:13	22:44:14	5h 50min 01sec
12.03.2010	Unikko	21:25:42	23:52:51	2h 27min 09sec
13.03.2010	Unikko	20:05:55	23:10:27	3h 04min 33sec
27.03.2010	Venetia	20:52:15	23:39:24	2h 47min 09sec

Bei einer Testmessung wurde eine Kuh bis 05Uhr früh beobachtet. Bei dieser Beobachtung konnte zwischen 02Uhr und 05Uhr früh nicht mehr Schlaf beobachtet werden als in den Stunden davor. Deshalb wurde ein Beobachtungszeitraum bis maximal 02Uhr früh ausgewählt. Durch diverse technische Probleme mit dem Embla Titanium® verzögerte sich zum Teil der Beginn der Beobachtung (Tabelle 2, Kuh Tussaud, Kuh Triumf, Kuh Unikko). Die Direktbeobachtungen wurden von der Autorin selbst mit Hilfe einer schwedischen und einer finnischen Kollegin durchgeführt. Gemeinsam mit der schwedischen Kollegin Emma Ternman wurden die Kühe zwischen 04. und 07.03.2010 beobachtet. Eine finnische Kollegin half bei der Beobachtung vom 11.03.2010 mit. Aus organisatorischen Gründen musste diese Beobachtung bereits vor 20Uhr beginnen. Die beobachtete Kuh (Tavernessa) zeigte im EEG trotzdem NREM-, REM-Schlaf sowie Dösen. Alle anderen Beobachtungen wurden von der Autorin alleine durchgeführt, wobei auch hier durch diverse technische Probleme mit den Beobachtungen zum Teil erst deutlich nach dem geplanten Startzeitpunkt 20Uhr begonnen werden konnte.

3.2 Untersuchungen in Schweden

Zum Vergleich der finnischen Daten mit einem weiteren Datensatz wurden vom Department of the Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala (Emma Ternman) fünf elektrophysiologische Aufzeichnungen sowie Verhaltensbeobachtungen von drei Kühen der Rasse Swedish Red zur Verfügung gestellt. Die Kühe waren zwischen fünf und elf Jahre alt, trockenstehend und erhielten Grassilage ad libitum; Kraftfutter wurde nicht verabreicht. Die Kühe wurden normalerweise in Anbindehaltung gehalten, kamen jedoch zehn Stunden vor Beginn der elektrophysiologischen Aufzeichnungen in eine Abkalbebox, die mit Strohhäcksel eingestreut war. Der Versuchsaufbau und das verwendete Equipment waren identisch mit dem finnischen Versuch. Auch die Verhaltensparameter waren identisch. Die Verhaltensbeobachtung wurde mit einem tragbaren Computer PSION Workabout MX (PSION Teklogix) aufgezeichnet.

3.3 BeobachterInnenabgleich

Für den BeobachterInnenablgleich wurden die in Schweden erfassten elektrophysiologischen Aufzeichnungen Beobachtungen) (n=5 zwei verschiedenen Personen nach denselben Kriterien beurteilt. Wenn in demselben 30-Sekunden-Fenster bei beiden Personen die gleiche Schlaf-. Ruhe- bzw. Aktivitätsphase gewertet wurde, galt dies als Übereinstimmung.

3.4 Datenanalyse

Die Auswertung der elektrophysiologischen Aufzeichnungen erfolgte mit Hilfe der Software REMLogical 2.0., welche auch in Human-Schlaflabors verwendet wird.

Die Beobachtungen wurden mittels Observer 5.0 kontinuierlich erfasst und ausgewertet.

3.4.1 RemLogical

Zur Auswertung standen vier EEG-Spuren, zwei EOG-Spuren und zwei EMG-Spuren zur Verfügung, wobei immer jene Spur beurteilt wurde, die sich am deutlichsten darstellte. Folgende Filter wurden eingesetzt:

Tabelle 3: Eingesetzte Filter im EEG, EMG und EOG (nach HÄNNINEN 2007)

Spur	Filter	Filter
	High cut	Low cut
EEG	30Hz	0.3Hz
EMG	-	10Hz
EOG	0.15Hz	15.0Hz

Die Aufzeichnungen wurden in 30–Sekunden–Perioden unterteilt und nach ihren unterschiedlichen Ruhe- und Aktivitätsphasen bewertet. Dabei wurde neben Wachsein und Bewegung zwischen Dösen, NREM-Schlaf, REM-Schlaf und Wiederkauen unterschieden (Abbildung 2 bis Abbildung 5, vgl. Kapitel 4.1). Zur Beurteilung der Spuren wurden drei Powerspektren pro Individuum als Hilfsmittel eingesetzt. Die hierbei definierten Grenzwerte (siehe Kapitel 4.1) wurden nicht starr eingehalten, da immer das beurteilt wurde, was man in einer 30-Sekunden-Periode im EEG und EMG großteils sehen konnte. D. h., wenn man zu 2 /₃ Dösen eindeutig erkennen konnte, im letzten Drittel die Kuh jedoch aufwachte und sich bewegte, dann wurde dieses Fenster mit Dösen beurteilt und nicht mit Wachsein oder Bewegung, obwohl das Powerspektrum über 1 μV Power anzeigte.

3.4.2 <u>Observer 5.0</u>

Auch die Daten aus der Direktbeobachtung wurden mit Hilfe des Softwarepakets Observer (Noldus 5.0) in 30-Sekunden-Fenster unterteilt. Zum Vergleich der Beobachtungen mit den elektrophysiologischen Aufzeichnungen wurden diese Fenster sekundengenau auf die 30-Sekunden-Perioden des EEGs abgestimmt.

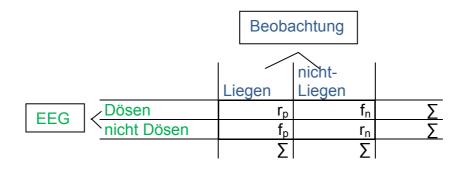
3.5 Statistische Analyse

Die statistische Analyse erfolgte mittels Excel 2007.

Für die abschließende Analyse konnten nur jene Fenster ausgewertet werden, für die sowohl Beobachtungen als auch elektrophysiologische Aufzeichnungen für denselben Zeitraum vorlagen.

Zum Vergleich der elektrophysiologischen Messungen mit den Beobachtungen wurden die Sensitivität, die Spezifizität und die Vorhersagbarkeit ermittelt. Diese wurden mittels einer Wahrheitsmatrix in Excel 2007 berechnet.

Die Wahrheitsmatrix wird am Beispiel Dösen erklärt:



r_p ...richtig positiv (= jene Tiere, die Dösen und dabei auch Liegen)

f_n ...falsch negativ (= jene Tiere, die Dösen, aber dabei nicht Liegen)

f_p ...falsch positiv (= jene Tiere, die Liegen, aber dabei nicht Dösen)

r_n ...richtig negativ (= jene Tiere, die nicht Dösen und dabei nicht Liegen)

Sensitivität =
$$\frac{r_p}{r_p + f_n}$$
 Spezifizität = $\frac{r_n}{r_n + f_p}$ Vorhersagbarkeit = $\frac{r_p + f_p}{r_p + f_n}$

Die Sensitivität gibt die Wahrscheinlichkeit an, den jeweiligen Schlafzustand unter Berücksichtigung des Verhaltens erkennen zu können. Die Spezifizität hingegen gibt die Wahrscheinlichkeit an, das Wachsein bzw. einen anderen Schlafzustand anhand des Verhaltens richtig ausschließen zu können. Sensitivität und Spezifizität wurden auf Ebene der einzelnen 30-Sekunden-Perioden ermittelt (n=x bzw. n=y).

Für die Vorhersagbarkeit wurden auf Basis der Beobachtungstage (n=9 bzw. n=5) jene Anteile für die verschiedenen Schlafkategorien, die auf Basis des Verhaltens ermittelt wurden, den Anteilen, welche sich aus den elektrophysiologischen Messungen ableiten ließen, gegenübergestellt.

Für den BeobachterInnenabgleich diente die Auswertung der schwedischen Kollegin als Referenzwert. Die Übereinstimmung wurde als Prozentanteil der von beiden Beobachterinnen gleich beurteilten 30-Sekunden-Perioden ausgedrückt. Hierbei wurde zusätzlich zwischen Bewegung (Loc, vgl. Tabelle 8) und sonstigem Wachsein (AW) unterschieden.

4 Ergebnisse

4.1 Elektrophysiologische Messgrößen für Schlaf- und Ruhephasen

Abbildung 2 bis Abbildung 5 zeigen typische Beispiele für die verschiedenen Schlafund Ruhephasen im EEG und EMG:

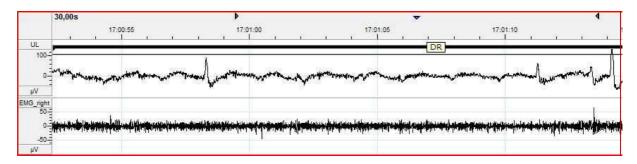


Abbildung 2: Beispiel für ,typisches' Dösen anhand von EEG (1. Zeile) und EMG (2. Zeile)

Im Dösen ist häufig eine wellenartige Struktur mit ab und zu auftretenden K-Komplexen im EEG zu erkennen. Das EMG zeigt parallel dazu eine recht niedrige Aktivität.

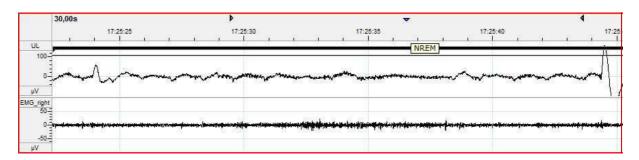


Abbildung 3: Beispiel für 'typischen' NREM-Schlaf anhand von EEG (1. Zeile) und EMG (2. Zeile)

Im NREM-Schlaf setzt sich das wellenartige Muster im EEG fort und kann bei sehr tiefem NREM-Schlaf in große, langsame Wellen übergehen. Die Wellen zeigen weniger Störgeräusche als beim Dösen. Graphisch stellt sich dies so dar, dass die Linie dünner wird. Auch hier sind wie beim Menschen K-Komplexe erkennbar (CARSKADON & DEMENT 2011). Das EMG zeigt im Vergleich zu Dösen eine weiter verringerte Aktivität.

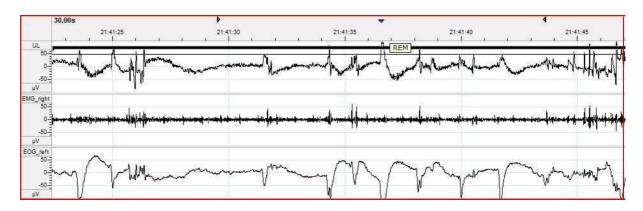


Abbildung 4: Beispiel für ,typischen' REM-Schlaf anhand von EEG (1. Zeile), EMG (2. Zeile) und EOG (3. Zeile)

Der REM-Schlaf ist gekennzeichnet durch unregelmäßige Ausschläge im EEG, die in Abbildung 4 sehr gut zu erkennen sind. Dieser ungleichmäßige Verlauf findet Entsprechungen im EMG und EOG. Das EEG stellt sich graphisch uneinheitlicher dar und folgt keinem eindeutigen Muster mehr. Das EMG zeigt eine sehr niedrige Aktivität, d.h. der Muskeltonus ist sehr niedrig. Die oben genannten Ausschläge scheinen blockweise aufzutreten. Dazwischen zeigen sich im EEG immer wieder längere, ruhige Abschnitte, ähnlich wie es beim Menschen beschrieben wurde (CARSKADON & DEMENT 2011).

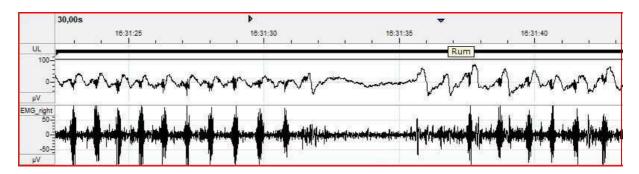


Abbildung 5: Beispiel für ,typisches' Wiederkauen anhand von EEG (1. Zeile) und EMG (2. Zeile)

Das EEG und das EMG des Wiederkauens sind geprägt von durch die Kaubzw Wiederkautätigkeit hervorgerufenen Artefakten (Abbildung 5). Dies wurde bereits von KLEMM (1966) beschrieben. Durch die Artefakte ist nicht erkennbar, ob die Kühe während des Wiederkauens in den NREM-Schlaf fallen. Nach KLEMM (1966) zeigt sich "echter" Schlaf (=NREM-Schlaf) nur, wenn nicht wiedergekaut wird. Nach ZEPELIN et al. (2005) dagegen schlafen Rinder auch, während sie wiederkauen. Die Kriterien, wann Tiere schlafen und wann nicht, sind zwischen den Arten äußerst verschieden und nicht pauschal auf alle Säugetiere gleich zutreffend (ZEPELIN et al. 2005).

Abbildung 2 bis Abbildung 5 sind Paradebeispiele für die einzelnen Ruhe- und Schlafphasen. Bis auf das Wiederkauen, welches bei vielen Kühen sehr ähnlich aussieht, unterscheiden sich die Kurven von Dösen, NREM- und REM-Schlaf häufig stark zwischen den einzelnen Individuen. Es lässt sich jedoch innerhalb eines Individuums ein Muster erkennen. Man muss also das EEG jeder einzelnen Kuh aufs Neue lesen lernen.

Bei der Bewertung der Gehirnstrommessung wurde nicht nur auf die graphische Darstellung der Kurven geachtet, sondern es wurden auch in Anlehnung an HÄNNINEN (2007) drei Powerspektren als Hilfsmittel eingesetzt.

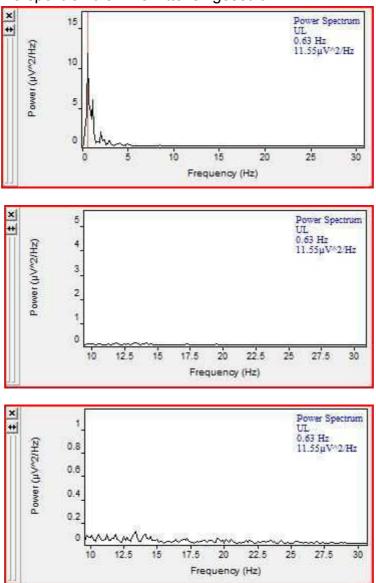


Abbildung 6: Beispiel für ein Powerspektrum im NREM-Schlaf

Das 1. Fenster des Powerspektrums (Abbildung 6) zeigt eine Übersicht. In einem Frequenzbereich von 0 – 30 Hz bei einer Power von 0 – 15 μ V kann man die Gehirnaktivität während des Schlafens und im Wachsein gut erkennen. Im

niederfrequenten Bereich (0 - 4 Hz) ist immer Aktivität zu sehen, sowohl im Wachals auch im Dös- oder Schlafzustand. Daher wurde zur Unterscheidung der einzelnen Schlafphasen voneinander sowie vom Dösen der hochfrequente Bereich (10 - 30 Hz) näher betrachtet.

Der Power-Bereich von 0 – 5 μ V (Abbildung 6, 2. Fenster) ergibt eine Übersicht über den hochfrequenten Gehirnaktivitätsbereich. Dieser Bereich ist wenig aktiv (< 1 μ V), wenn die Kuh döst, und vermehrt bzw. besonders aktiv (> 1 μ V), wenn die Kuh wach ist bzw. sich bewegt. Bei Bewegung sind alle Frequenzbereiche stark aktiv, sowohl die hoch- als auch die mittel- sowie die niederfrequenten Bereiche.

Das dritte Fenster (Abbildung 6) dient der Unterscheidung von Dösen und NREM-Schlaf. Hierzu wird der Frequenzbereich 10 – 30 Hz bei einer Power von 0 – 1 μ V betrachtet. Die Abgrenzung von Dösen und NREM-Schlaf erschien bei 0,2 μ V als sinnvoll. Bei mehr als 0,2 μ V aber unter 1 μ V wurde die Kuh als dösend eingestuft, bei weniger als 0,2 μ V als im NREM-Schlaf befindlich. Beim Dösen zeigt das EMG eine geringe Aktivität, im NREM-Schlaf eine sehr geringe Aktivität (Vgl. Abbildung 2 und Abbildung 3). Im Wachsein sieht man im EMG eine vermehrte, in der Bewegung eine sehr starke Aktivität.

Der REM-Schlaf ist gekennzeichnet durch eine vermehrte Aktivität im hochfrequenten Bereich bei gleichzeitig sehr geringer Aktivität im EMG. Das EEG ist ähnlich zu jenem im Wachsein (DEMENT 1958). Bei der Auswertung der Testkühe konnte dies nicht immer festgestellt werden. Teilweise war im hochfrequenten Bereich nur eine geringe Aktivität im EEG sichtbar. Die graphische Darstellung der Gehirnströme und der Muskelspannung haben den REM-Schlaf aber meist gut erkennen lassen. Die Zuckungen sind im EEG und EMG deutlich erkennbar gewesen bei gleichzeitig sehr geringer Aktivität im EMG. Die Zuckungen waren im EOG nur schwach erkennbar (Vgl. Abbildung 4)

4.2 Vergleich der aus den elektrophysiologischen Messungen abgeleiteten Schlafstadien mit den Ergebnissen der Verhaltensbeobachtungen

4.2.1 Finnische Daten

Insgesamt konnten 2987 30-Sekunden-Perioden zugeordnet werden; weitere 350 Perioden stellten Artefakte dar, welche vermutlich durch die automatische Fütterungsanlage im Versuchsstall verursacht wurden. Von den verwertbaren 30-Sekunden-Perioden entfielen 13,7% auf Dösen, 14,6% auf NREM-Schlaf, 1,5% auf REM-Schlaf, 32,9% auf Wachsein und 37,3% auf Wiederkauen. REM-Schlaf wurde nur bei fünf der neun polysomnographischen Messungen beobachtet.

Die Übereinstimmung der elektrophysiologisch ermittelten Ruhe- bzw. Schlafphasen wurde mit den verschieden kombinierten Verhaltensweisen aus der Beobachtung verglichen. Für den Vergleich wurden jene Verhaltensweisen bzw. Kombinationen von Verhaltensweisen herangezogen, die sinnvoll erschienen, um Schlaf(-phasen) zuordnen zu können. Von Bedeutung hierbei waren die Kopfposition, die Position der Augen und, ob das Tier liegt oder steht (s. Tabelle 4 und Tabelle 5).

Tabelle 4: Sensitivität (S, %) und Spezifität (SP, %) der Beurteilung des Schlafzustands anhand des Verhaltens (K1 = Kombination Liegen/Kopf nicht aufgestützt, K2 = K1 + Augen halbgeschlossen oder geschlossen, K3 = Liegen/Kopf aufgestützt, K4 = K3 + Augen halbgeschlossen oder geschlossen, K5 = K3 + Muskelzuckungen)

Sensitivität und Spezifizität in %													
	Lie	gen	K1		K2		K3		K4		K5		
	S	SP	S	SP	S	SP	S	SP	S	SP	S	SP	
Schlaf (inkl.Dösen)	90	45	59	45	51	39	23	5	18	4	3	1	
Schlaf (exkl.Dösen)	98	62	63	48	59	40	33	7	27	5	3	2	
Dösen	81	69	55	51	42	45	12	14	8	12	3	2	
NREM-Schlaf	98	64	68	47	63	39	27	10	22	7	2	2	
REM-Schlaf	100	71	16	53	16	45	87	12	71	9	20	2	

Tabelle 5: Vorhersagbarkeit (%) des Schlafzustands anhand des Verhaltens (K1 = Kombination Liegen/Kopf nicht aufgestützt, K2 = K1 + Augen halbgeschlossen oder geschlossen, K3 = Liegen/Kopf aufgestützt, K4 = K3 + Augen halbgeschlossen oder geschlossen, K5 = K3 + Muskelzuckungen)

Vorhersagbarkeit in %											
	Liegen	K1	K2	K3	K4	K5					
Schlaf (inkl.Dösen)	150	109	94	29	23	4					
Schlaf (exkl.Dösen)	279	202	174	53	42	8					
Dösen	327	237	204	62	50	9					
NREM-Schlaf	307	223	192	59	47	9					
REM-Schlaf	2978	2158	1862	569	453	84					

In Tabelle 4 liegt die Sensitivität für alle Schlafkategorien bei über 80%, wenn man ausschließlich die Verhaltensweise "Liegen" berücksichtigt. Dieses Ergebnis ist jedoch nicht sehr spezifisch (45-71%). Betrachtet man z.B. die Schlafkategorie REM-Schlaf bezüglich der Verhaltensweise "Liegen", erkennt man, dass REM-Schlaf zu 100% im Liegen auftritt, jedoch kann das Wachsein bzw. ein anderer Schlafzustand nur zu 71% richtig ausgeschlossen werden. Dies führt zu einer erheblichen Überschätzung des REM-Schlafanteils, wenn man zur Beurteilung alleine die Verhaltensweise "Liegen" heranzieht. Diese Überschätzung zeigt sich auch in der Vorhersagbarkeit, wo der REM-Schlafanteil anhand der Verhaltensweise "Liegen" rund 30-fach überschätzt wurde.

Alle einbezogenen Verhaltenskombinationen ergaben jedoch eine geringere Sensitivität im Vergleich zu der Verhaltensweise "Liegen" (Tabelle 4). Die Sensitivität für z.B. die Kombination "Liegen und ruhig getragener Kopf" (K1) betrug für Dösen 55% (22 – 95%, n=9 Messungen) und für NREM-Schlaf 68% (20 – 100%, n=8 Messungen). Liegen in Kombination mit Aufstützen des Kopfes (K3, 63 – 100%, n=5) weist zwar für die Erkennung von REM-Schlaf eine hohe Sensitivität auf (87%), diese Aussage ist jedoch nicht sehr spezifisch (12%) und führt zu einer fast sechsfachen Überschätzung des Anteils an REM-Schlaf (Tabelle 5).

Mit der Kombination "Liegen, aufgestützter Kopf, Muskelzuckungen" (K5, 0-50%, n=5) wurden nur 20% REM-Schlaf richtig erkannt. Die Einbeziehung der Augen (offen, halbgeschlossen, geschlossen) führte bei allen Verhaltenskombinationen zu einer deutlich schlechteren Übereinstimmung mit den Ergebnissen der elektrophysiologischen Messungen.

Wenn man die verschiedenen Verhaltenskombinationen berücksichtigt, liegt für fast alle Schlafkategorien eine erhebliche Unter- oder Überschätzung vor (Tabelle 5). Eine Ausnahme stellen die Verhaltenskombinationen K1 (Liegen, Kopf nicht aufgestützt) und K2 (Liegen, Kopf nicht aufgestützt, Augen halbgeschlossen oder geschlossen) zur Erfassung des Schlafs dar, wenn Dösen dabei inkludiert wird, sowie die Abschätzung der REM-Schlafanteile durch die Verhaltenskombination K5 (Liegen, Kopf aufgestützt, Muskelzuckungen).

4.2.2 Schwedische Daten

Bei den schwedischen Kühen konnten insgesamt 3133 30-Sekunden-Perioden ausgewertet werden. Artefakte waren hier nicht zu erkennen, was möglicherweise daran liegt, dass es im schwedischen Versuchsstall keine automatische Fütterungsanlage gab. Von den verwertbaren 30-Sekunden-Perioden entfielen 17,7% auf Dösen, 11,8% auf NREM-Schlaf, 1,3% auf REM-Schlaf, 5,9% auf Wachsein und 63,3% auf Wiederkauen. REM-Schlaf wurde bei vier von fünf polysomnographischen Messungen beobachtet.

In Tabelle 6 und Tabelle 7 werden analog zu Kap. 4.2.1 die Sensitivität, die Spezifizität und die Vorhersagbarkeit dargestellt:

Tabelle 6: Sensitivität (S, %) und Spezifität (SP, %) der Beurteilung des Schlafzustands der schwedischen Kühe anhand des Verhaltens (K1 = Kombination Liegen/Kopf nicht aufgestützt, K2 = K1 + Augen halbgeschlossen oder geschlossen, K3 = Liegen/Kopf aufgestützt, K4 = K3 + Augen halbgeschlossen oder geschlossen, K5 = K3 + Muskelzuckungen)

Sensitivität und Spezifizität in %													
	Lie	gen	k	(1	K2		K3		K4		K5		
	S	SP	S	SP	S	SP	S	SP	S	SP	S	SP	
Schlaf (inkl.Dösen)	74	39	50	19	25	8	16	8	11	7	1	0	
Schlaf (exkl.Dösen)	91	56	59	37	37	14	24	9	15	8	1	1	
Dösen	62	75	43	47	15	28	10	19	8	12	1	1	
NREM-Schlaf	93	57	64	36	40	14	21	12	14	9	1	1	
REM-Schlaf	71	69	17	46	12	22	55	13	26	10	5	1	

Tabelle 7: Vorhersagbarkeit (%) des Schlafzustands der schwedischen Kühe anhand des Verhaltens (K1 = Kombination Liegen/Kopf nicht aufgestützt, K2 = K1 + Augen halbgeschlossen oder geschlossen, K3 = Liegen/Kopf aufgestützt, K4 = K3 + Augen halbgeschlossen oder geschlossen, K5 = K3 + Muskelzuckungen)

Vorhersagbarkeit in %											
Liegen K1 K2 K3 K4 K5											
Schlaf (inkl.Dösen)	82	54	26	17	12	1					
Schlaf (exkl.Dösen)	192	126	62	41	29	3					
Dösen	142	94	46	30	21	2					
NREM-Schlaf	214	141	69	46	32	4					
REM-Schlaf	1881	1236	605	402	283	31					

Die Sensitivität für die Verhaltensweise "Liegen" war bei den schwedischen Kühen deutlich niedriger, als bei den finnischen, d.h. Schlaf bzw. die einzelnen Schlafphasen traten nur zu 62-93% im Liegen auf. Außerdem war dieses Ergebnis nicht sehr spezifisch (39-75%, Tabelle 6). Auch hier lag, ähnlich wie bei den finnischen Kühen, eine deutliche Überschätzung der einzelnen Schlafkategorien vor, wenn man nur das Merkmal "Liegen" berücksichtigte. Eine Ausnahme hingegen bildete die Vorhersagbarkeit von Schlaf, welcher auch das Dösen inkludierte (82%, Tabelle 7).

Die Sensitivität für die Kombination "Liegen und ruhig getragener Kopf" (K1) betrug für Dösen nur 43% (23-63%, n=5 Messungen) und für NREM-Schlaf nur 64% (49-85%, n=5). Im Vergleich zu den finnischen Kühen erreichte die Verhaltenskombination "Liegen und aufgestützter Kopf" (K3) für die Erkennung von REM-Schlaf nur eine geringe Sensitivität von 55% (0-100%, n=4). Auch hier war die Spezifizität nur sehr gering (13%).

Bei den schwedischen Kühen können durch die Verhaltenskombination "Liegen, aufgestützter Kopf und Muskelzuckungen" (K5, 0-75%, n=4) keinerlei Aussagen über den Anteil an REM-Schlaf getroffen werden (Vgl. Tabelle 6 und Tabelle 7). Die

Einbeziehung der Augen (offen, halbgeschlossen, geschlossen) führte auch bei den schwedischen Kühen bei allen Verhaltenskombinationen zu einer deutlich schlechteren Übereinstimmung mit den Ergebnissen der elektrophysiologischen Messungen.

Unter Berücksichtigung der verschiedenen Verhaltenskombinationen liegt für die meisten Schlafkategorien eine erhebliche Unter- oder Überschätzung vor, ähnlich wie bei den finnischen Kühen. Eine Ausnahme hierzu bilden hingegen die Verhaltenskombination K1 (Liegen, Kopf nicht aufgestützt) zur Erfassung des Dösens und das Liegen zur Erfassung des Schlafes inklusive Dösen (Tabelle 7).

4.2.3 <u>BeobachterInnenabgleich</u>

Die elektrophysiologischen Aufzeichnungen aus Schweden wurden sowohl von Emma Ternman, als auch von der Autorin selbst mit Hilfe von RemLogical 2.0 beurteilt. Dadurch war es möglich, die Beobachterübereinstimmung für die Auswertung der elektrophysiologischen Aufzeichnungen auszuwerten. Tabelle 8 enthält die Ergebnisse des BeobachterInnenabgleichs.

Tabelle 8: BeobachterInnenabgleich (ja = Übereinstimmung, nein = keine Übereinstimmung; Referenz: E. Ternman; REM=REM-Schlaf, NREM=NREM-Schlaf, AW=Wachsein, DR=Dösen, Loc=Bewegung)

BeobachterInnenabgleich (in Prozent)												
	Ada_0604		Ada_3103		Pia_0704		Risa_1404		Risa_1505			
	ja	nein	ja	nein	ja	nein	ja	nein	ja	nein		
REM	24	76	69	31	0	0	-		67	33		
NREM	88	12	59	41	100	0	71	29	69	31		
AW	24	76	43	57	4	96	7	93	8	92		
DR	67	33	83	17	80	20	85	15	85	15		
Loc	47	53	80	20	100	0	68	32	50	50		
gesamt	64	36	66	34	50	50	54	46	43	57		

Die Übereinstimmung bewegte sich für die Beurteilung des NREM-Schlafes sowie von Dösen zwischen 59% und 100% bzw. 67% und 85%. Die Beurteilung von Wachsein wies eine deutlich geringere Übereinstimmung auf (4-24%). Bei der Betrachtung von REM-Schlaf zeigt sich bei zwei von fünf Kühen keine bzw. nur eine sehr geringe Übereinstimmung, bei zwei weiteren Kühen betrug die Übereinstimmung dagegen 69% bzw. 67%. Die Übereinstimmung für Bewegung wies eine große Spannweite auf (47-100%).

5 Diskussion

5.1 Methodische Aspekte

Die Verwendung von Superkleber stellte sich als notwendig heraus, da selbst die mit Superkleber angeklebten Elektroden von den Kühen zeitweise durch Kratzen, Scheuern bzw. gegenseitiges Belecken heruntergerissen wurden und danach neu angeklebt werden mussten. Versuchsweise wurde am Hals einer Testkuh Enthaarungscreme verwendet, da es die Überlegung gab, dass die chemische Entfernung der Haare insbesondere am Kopf und im Nacken für die Kühe weniger belastend wäre als die Verwendung eines Elektro- und eines Nassrasierers. Die Enthaarungscreme führte jedoch an der betroffenen Stelle zu einer stark entzündeten, nässenden und geröteten Haut, weshalb diese Idee wieder verworfen wurde.

Durch technische Probleme mit der Software RemLogical bzw. Observer (Noldus 5.0) verzögerte sich teilweise der geplante Startzeitpunkt der Beobachtung. Beide Programme waren auf unterschiedlichen Computern installiert, wodurch immer mit zwei Computern gleichzeitig gearbeitet werden musste. Entscheidend für die Arbeit mit zwei Computern ist, dass die Uhrzeit auf beiden sekundengenau synchronisiert ist. Ansonsten erfolgen die Aufzeichnung der Beobachtung und jene des EEGs nicht zeitgleich und die Daten können nicht für die Ergebnisanalyse verwendet werden. In der vorliegenden Untersuchung stellte dies kein Problem dar, soll aber als Hinweis für weitere Studien dienen.

REM-Schlaf wurde nur selten zugeordnet, da die in der Literatur beschriebenen "klassischen" Zuckungen im EMG und EEG (KLEMM 1966, DEMENT 1957) nur selten zu sehen waren. Da es keinen Referenzwert gibt, der beschreibt, wie sich der REM-Schlaf bei dieser Untersuchungsmethode im EEG und EMG darstellen sollte, bleibt fraglich, ob REM-Schlaf nicht erkannt wurde oder ob er vielleicht gar nicht auftrat. Weiters trat der REM-Schlaf nur für wenige Sekunden auf, was möglicherweise zu einer Unterschätzung der REM-Schlafanteile geführt hat. In diesem Zusammenhang ist auch die relativ geringe Beobachterübereinstimmung bei REM-Schlaf zu erwähnen. Ursache dafür könnte unter anderem sein, dass sich das EOG nicht gut darstellte, da die Elektroden möglicherweise nicht optimal platziert waren. Dadurch waren die Augenbewegungen während des REM-Schlafes nur schwer zu interpretieren. Die optimale Position zur Erhaltung eines klaren Signals für das EOG muss hier erst noch gefunden werden. Die übrigen Elektroden waren offensichtlich an der richtigen Position angebracht, da sie bei allen Kühen meist ein schönes Bild vom EEG und vom EMG lieferten.

5.2 Vergleich von EEG und Beobachtungen

Während der Verhaltensbeobachtung zeigten die Kühe teilweise während des Wiederkauens Zeichen der Entspannung mit entspannter Muskulatur, hängenden Ohren, ruhiger Atmung und halbgeschlossenen bzw. geschlossenen Augen. Bei der Auswertung des EEGs war das Wiederkauen in Einzelfällen für ca. 30 Sekunden unterbrochen und es war dann klarer NREM-Schlaf bzw. Dösen zu erkennen. Dies könnte darauf hindeuten, dass Kühe auch während des Wiederkauens in den NREM-Schlaf fallen können. Hierzu sind jedoch weitere Untersuchungen nötig; z.B. müsste ein Algorithmus entwickelt werden, der ein Herausfiltern der Artefakte ermöglichen würde.

Bei Kälbern kann über die Erfassung der Ruheposition auf die Gesamtschlafdauer (Summe von NREM- und REM-Schlaf) geschlossen werden (HÄNINNEN et al. 2007). Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung deuten jedoch darauf hin, dass dies nicht für adulte Rinder gilt, denn weder der Gesamtschlaf noch die verschiedenen Schlafphasen konnten ausreichend sicher erkannt werden. Dies trifft sowohl auf die Ergebnisse der finnischen, als auch der schwedischen Kühe zu. Obwohl die Sensitivität für die Verhaltensweise "Liegen" sowohl bei den finnischen (81-100%), als auch bei den schwedischen Kühen (62-93%) teilweise hoch war, war die Spezifizität gleichzeitig meist geringer. Dieses Ergebnis überrascht jedoch nicht, da von vornherein angenommen wurde, dass das alleinige Heranziehen des Merkmals "Liegen" keinen Aufschluss über die einzelnen Schlafkategorien zulässt. Deshalb wurden Verhaltenskombinationen getestet, von denen angenommen wurde, dass sie eine bessere Vorhersage über den Schlaf bei Milchkühen zulassen. Berücksichtigung verschieden kombinierter Verhaltensweisen führte jedoch großteils zu einer erheblichen Über- oder Unterschätzung der Schlafanteile. Zum Beispiel beruht die geringe Spezifität der Erfassung von REM-Schlaf anhand von Liegen mit aufgestütztem (K3) unter anderem Kopf darauf. dass bei Verhaltenskombination auch zu 41% (finnische Daten) bzw. zu 13% (schwedische Daten) NREM-Schlaf vorlag. NREM-Schlaf kann auch bei abgestütztem Kopf gezeigt werden. REM-Schlaf, der hier nur selten und bei den finnischen Kühen auch nur bei fünf von neun polysomnographischen Aufzeichnungen erfasst wurde, tritt dagegen aufgrund der damit verbundenen Erschlaffung der Muskulatur nur dann auf, wenn der Kopf abgestützt wird (z.B. STAUNTON 2005, RUCKEBUSCH 1972, TOBLER 1995, ZEPELIN et al. 2005). Sensitivität und Spezifizität sind dennoch gering; die Zuckungen sind also kein eindeutiger Hinweis für REM-Schlaf. Zusammen mit dem gleichzeitigen Vorliegen von Muskelzuckungen ließen sich die Anteile für REM-Schlaf bei den finnischen Kühen jedoch relativ gut vorhersagen (84%). In diesem Zusammenhang muss berücksichtigt werden, dass sich Sensitivität und Spezifizität im Hinblick auf die Berechnungsgrundlage grundsätzlich von der Vorhersagbarkeit unterscheiden. Bei der Sensitivität und bei der Spezifizität bezieht man sich auf die einzelnen 30 – Sekunden – Perioden, d.h. es wird verglichen, wie oft die Verhaltenskombination "Liegen, aufgestützter Kopf und Muskelzuckungen" zeitgleich mit dem REM-Schlaf im EEG auftritt bzw. nicht auftritt. Bei der Vorhersagbarkeit hingegen werden die Gesamtanteile für den REM-Schlaf und für die Beobachtung "Liegen, aufgestützter Kopf und Muskelzuckungen" ermittelt und miteinander verglichen. Letzteres überprüft daher lediglich, wie zuverlässig der Anteil dieser Schlafphase an der Gesamtbeobachtungszeit abgeschätzt werden kann, ohne die tatsächliche Überstimmung auf der Ebene der einzelnen 30-Sekungen-Periode zu berücksichtigen.

Die Ergebnisse der schwedischen Untersuchung zeigen, dass durch die Verhaltenskombination "Liegen, aufgestützter Kopf und Muskelzuckungen" der REM-Schlaf nur sehr schlecht erkannt werden konnte (<20%); Sensitivität und Spezifizität für diese Verhaltenskombination (K5) sind sehr gering (<5%). Auch bei Kälbern müssen Zuckungen während des REM-Schlafs nicht auftreten bzw. kommen sie auch im NREM-Schlaf vor (HÄNINNEN et al. 2008). Eine zuverlässige Differenzierung der Schlafphasen war auch beim Kalb nicht möglich; so wurde REM-Schlaf durch die Beobachtung der Liegeposition nur zu 61% und NREM-Schlaf nur zu 54% erkannt (HÄNINNEN et al. 2008).

Durch die Berücksichtigung der Lidstellung wurde bei Kälbern häufig zu viel Wachsein angenommen, da sie auch mit halbgeschlossenen Augen schlafen, wie auch viele andere Säugetiere (HÄNINNEN et al. 2008, ZEPELIN et al. 2005). Dies bestätigte sich auch bei SIEGEL (2008), da Individuen die Augen für längere Zeit geschlossen haben können und dabei aber bei vollem Bewusstsein sind, d.h. nicht schlafen. Die finnischen Kühe dieser Untersuchung zeigten zum Teil Stehen während des Dösens, im Mittel zu 17% (0-65%, n=9 Messungen). Dass Kühe auch im Stehen dösen können, beschrieb bereits RUCKEBUSCH 1970 (in TOBLER 1995). Während des NREM-Schlafes konnte Stehen im Mittel nur zu unter 1% (0-3%, n=8 Messungen) beobachtet werden. Hier könnte es sich um Übergänge vom Dösen in den NREM-Schlaf handeln. Ob Kühe tatsächlich im Stehen schlafen können, ist bis heute nicht vollständig geklärt. Bei Elefanten und Giraffen konnte dies jedoch bereits beobachtet werden (TOBLER 1995).

Eine weitere Ursache für die mangelnde Übereinstimmung könnte auch bei methodischen Aspekten liegen. Mit Ausnahme von älteren Untersuchungen (RUCKEBUSCH 1965, 1972, 1974) liegen bisher nur wenige Untersuchungen zum Schlaf bei adulten Rindern vor. Dementsprechend existieren auch nur wenige Richtwerte für die Beurteilung der elektrophysiologischen Messgrößen (EEG, EMG und EOG), was dazu geführt haben könnte, dass Schlaf- bzw. Ruhephasen fehlinterpretiert wurden. Der REM-Schlaf beispielsweise wurde anders ausgewertet als die übrigen Schlaf- und Ruhestadien. Eine 30-Sekunden-Periode im EEG wurde als REM-Schlaf bewertet, wenn sich REM-Schlaf auch nur für wenige Sekunden zeigte. Da jeweils 30 Sekunden und keine kleineren Einheiten gewählt wurden für die

Beurteilung des EEGs, wäre REM-Schlaf kaum gewertet worden, da er meist nur für wenige Sekunden auftritt und danach von Aufwachen. NREM-Schlaf oder Dösen abgelöst wird. Daher ist es auch leichter möglich, den REM-Schlaf als solchen zu übersehen, was die geringe Beobachterübereinstimmung erklären könnte. Richtwerte zur Beurteilung der elektrophysiologischen Messgrößen orientierten sich insbesondere an HÄNNINEN (2007). Der Status des Dösens musste dabei im EEG neu definiert werden, da Dösen bei Kälbern bisher nicht beobachtet werden konnte (HÄNNINEN et al. 2008). Die hier vorgenommene Beurteilung der elektrophysiologischen Messgrößen könnte daher auch Fehler in der Interpretation aufweisen. Auch die Grenzwerte für die Differenzierung von NREM-Schlaf und Dösen (0,2µV im Powerspektrum) bzw. von Dösen und Wachsein (1µV) stellen im Zuge dieser Untersuchung aufgestellte Richtwerte dar, die jedoch möglicherweise mit Fehlern zur Diskussion stehen. Dies und zeiat sich BeobachterInnenabgleich. Betrachtet man zum Beispiel den NREM-Schlaf (59-100% Übereinstimmung) und das Dösen (67-85% Übereinstimmung), so fällt auf, dass diese Stadien im EEG von beiden BeobachterInnen im ähnlichen Ausmaß eingeschätzt wurden. Jedoch trifft dies nicht auf den REM-Schlaf (0-69% Übereinstimmung) bzw. das Wachsein (4-24% Übereinstimmung) zu, was möglicherweise an einer unterschiedlichen Anwendung der Grenzwerte lag. Bezüglich Wachsein stimmen die unterschiedlichen Bewertungen so gut wie gar nicht überein, was daran liegen könnte, dass die Autorin bei der Bewertung der schwedischen Daten zum Teil Wiederkauen mit Fressen verwechselt hat, wodurch ein wesentlich höherer Anteil an Wiederkauen im Vergleich zum Wachsein entstanden ist. Emma Ternman hingegen hat das Fressen als solches erkannt und dieses als Wachsein bewertet (s. Tabelle 8). Für Bewegung konnte zum Teil einer sehr hohe, zum Teil nur eine geringe Übereinstimmung (47-100%) beim BeobachterInnenabgleich erreicht werden. Eine mögliche Ursache dafür könnte sein, dass sich die Abgrenzung von Wachsein und Bewegung nicht nach einem bestimmten Grenzwert richtete, sondern dass hierbei der Gesamteindruck des EEGs und EMGs entscheidend für die Beurteilung war. Fraglich bleibt, ob es überhaupt sinnvoll ist. Wachsein und Bewegung voneinander zu unterscheiden, da man davon ausgehen kann, dass bei Bewegungen wie Kopfschlagen immer Wachsein vorliegt.

Der BeobachterInnenabgleich verdeutlicht außerdem, wie groß die tierindividuellen Unterschiede sind. Bei der Kuh Pia konnten für den NREM-Schlaf und für die Bewegung eine 100% Übereinstimmung erreicht werden. Dies bedeutet, die BeobachterInnen schätzten alle 30-Sekunden-Perioden von NREM-Schlaf und von Bewegung identisch ein. Parallel dazu erreichten sie jedoch bei der Kuh Risa_1505 für den NREM-Schlaf nur eine 69% und für die Bewegung eine 50% Übereinstimmung. Der Vergleich dieser beiden Kühe zeigt, dass sich die Gehirnströme im EEG und die Muskelspannung im EMG von Individuum zu Individuum differenziert darstellen können, wodurch es bei manchen Tieren offenbar einfacher ist Schlaf-, Ruhe- und Aktivitätsphasen voneinander zu unterscheiden als

bei anderen. Durch diese tierindividuellen Unterschiede im EEG-Muster kann es bei Auswertung eines einzelnen **Tieres** vorkommen, dass verschiedene BeobachterInnen die unterschiedlichen Ruheund Aktivitätsphasen unterschiedlich interpretieren, wodurch eine niedrige Übereinstimmung BeobachterInnenabgleich erzielt wird. Eine mögliche Ursache diese tierindividuellen Unterschiede könnten die anatomischen Unterschiede von Tier zu Tier sein, zum Beispiel hinsichtlich Dicke der Schädeldecke. Wichtig ist, dass bei der Aufstellung von Grenzwerten für die Auswertung weiterer elektrophysiologischer Messungen diese tierindividuellen Unterschiede berücksichtigt werden. Vermutlich sind sogar starre Grenzwerte nicht ausreichend, um diese Individualität gerecht zu werden. Es werden Grenzbereiche, die eine größere Spannweite inkludieren, definiert werden müssen, um Schlaf- und Ruhephasen besser voneinander unterscheiden zu können. Hierfür sind jedoch weitere Studien mit größeren Tierzahlen unter Berücksichtigung verschiedener BeobachterInnen notwendig.

6 Schlussfolgerung

Mit Hilfe eines Polysomnographen können Ruhe- und Aktivitätsphasen bei Milchkühen gut nicht-invasiv erfasst und quantifiziert werden. Ruhe- und Aktivitätsphasen können sehr gut im EEG und EMG dargestellt werden, jedoch gibt es noch einige offene Fragen zur Auswertung der elektrophysiologischen Aufzeichnungen, z.B. wie das Dösen von den Schlafstadien zu unterscheiden ist bzw. ob dieses als solches überhaupt existiert.

Die Berücksichtigung verschieden kombinierter Verhaltensweisen führte regelmäßig zu einer erheblichen Über- oder Unterschätzung der Schlafanteile. NREM-Schlaf kann auch im Liegen bei aufgestütztem Kopf gezeigt werden, obwohl diese Kopfhaltung in früheren Untersuchungen als charakteristisch für den REM-Schlaf ausgewiesen wurde. Die bisherigen Ergebnisse deuten darauf hin, dass die hinreichende Verhaltensbeobachtung alleine keine Auskunft über die unterschiedlichen Schlafphasen und deren Dauer bei Milchkühen ermöglicht. Um die Schlafguantität und -qualität bei Milchkühen korrekt beurteilen zu können, sind demnach elektrophysiologische Aufnahmen unerlässlich. Zur Bewertung dieser sind jedoch klare Definitionen nötig, welche weitergehende Untersuchungen zur Gehirnaktivität erfordern.

7 Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, den Schlaf von Milchkühen elektrophysiologisch mittels einer nicht-invasiven Methode zu erfassen sowie eine mögliche Korrelation von verschiedenen Verhaltensweisen, welche auf Schlaf hindeuten könnten, mit den elektrophysiologischen Aufzeichnungen zu bestimmen. Die Erhebungen wurden an sieben Milchkühen der Rasse Ayrshire im Versuchsstall der veterinärmedizinischen Fakultät Helsinki und an drei Kühen der Rasse Swedish Red in Schweden durchgeführt. Bei jeder Kuh wurden EEG-, EMG- und EOG-Aufnahmen sowie Direktbeobachtungen durchgeführt; bei letzteren wurden die Grundaktivität (Liegen oder Stehen), die Kopfposition (nicht aufgestützt/ruhig, auf der Flanke bzw. auf dem Boden ruhend, Kopf bewegt sich bzw. Tier ist aufmerksam), die Augenstellung (offen, halb geschlossen bzw. geschlossen) sowie Muskelzuckungen der Ohren, der Augen, der Extremitäten bzw. des Flotzmauls erfasst. Aus den finnischen Daten ergab sich beim Vergleich von Verhaltensweisen bzw. Verhaltenskombinationen mit den einzelnen Schlafphasen bzw. mit dem Gesamtschlaf für Liegen die höchste Sensitivität (> 80%), jedoch war die Spezifität gering (45-71%). Dies führte zu einer erheblichen Überschätzung des Gesamtschlafes bzw. der einzelnen Schlafanteile, insbesondere des REM-Schlafes (Vorhersagbarkeit 150-2978%) ausdrückte. Alle einbezogenen Verhaltenskombinationen ergaben eine geringere Sensitivität im Vergleich zu der Verhaltensweise "Liegen". Die Verhaltenskombination "Liegen und aufgestützter Kopf" erreichte zwar eine hohe Sensitivität (87%), diese Aussage war jedoch ebenfalls nicht sehr spezifisch (12%) und führte zu einer fast sechsfachen Überschätzung des Anteils an REM-Schlaf. Dies lässt sich unter anderem dadurch erklären, dass bei dieser Verhaltenskombination im Mittel auch zu 41% (15-80%, n=5 NREM-Schlaf vorlag. obwohl die Kopfhaltung Messungen) Verhaltenskombination in früheren Untersuchungen als charakteristisch für den REM-Schlaf ausgewiesen worden war. Die Auswertung der Daten der schwedischen Kühe erbrachte grundsätzlich vergleichbare Ergebnisse. Der die schwedischen der BeobachterInnenabgleich, bei dem Daten elektrophysiologischen Messungen von zwei unterschiedlichen Personen bewertet wurden, zeigte, dass für die Bewertung von NREM-Schlaf und Dösen eine recht hohe Übereinstimmung vorlag. Andererseits konnte für das Wachsein kaum eine Übereinstimmung und für den REM-Schlaf und die Bewegung nur bei einzelnen Tieren eine hohe Übereinstimmung erreicht werden. Die Ruhe- und Aktivitätsphasen konnten sowohl bei den finnischen, als auch bei den schwedischen Milchkühen mittels eines Polysomnographen sehr gut nicht-invasiv erfasst und quantifiziert werden. Die Verhaltensbeobachtung alleine gab bei dieser Studie keine hinreichende Auskunft über die unterschiedlichen Schlafphasen und deren Dauer bei Milchkühen.

8 Abstract

The aim of this study was to assess sleep of adult dairy cattle using a non-invasive technique and to investigate possible correlations between the electrophysiological recordings and different behaviours, which may refer to sleep. The experiments were carried out using seven dairy cows of the breed Ayrshire at the experimental barn of the Veterinary Faculty of the University of Helsinki and three cows of the breed Swedish Red in Sweden (SLU). For each cow EEG, EMG and EOG measurements were carried out. Parallel direct observations were done in order to assess the activity (lying or standing), the position of the head (head supported by the neck and still, head lies on the ground or on the flank, head moves), the position of the eyelid (open, half-closed, closed) and muscle twitches of the ears, the eyes, the limbs and the muzzle. For the Finnish data, the highest sensitivity (> 80%) was found comparing the behaviour 'lying' with the different sleep states and with the total sleep. However, 'lying' was not specific in predicting sleep (45-71%) and led to a major overestimation of the different sleep states respectively total sleeping time. This was especially the case for REM sleep (predictability 150 – 2978%). All other behaviours showed a lower sensitivity compared to the behaviour 'lying'. The behaviour 'lying' plus head lying on the ground/on the flank' achieved a sensitivity of 87% but this wasn't very specific too (12%) and led to a six fold overestimation of the REM-sleep proportion. This may be explained by the fact that cows showing the above mentioned behaviour also were diagnosed with NREM sleep by 41% (15-80%, n=5 measurements), although this behaviour has earlier been described as typical for REM-sleep in earlier studies. Similar results were found for the Swedish data. Furthermore, the Swedish electrophysiological data were scored by two independent observers which revealed a reasonable agreement for NREM sleep and drowsing. However, the agreement for being awake was low. For REM sleep and locomotion it was satisfactory only in some of the individuals. In this study it was possible to noninvasively assess different resting and activity phases of adult dairy cattle using a polysomnograph. Behaviour observations alone did not provide sufficient information about the different sleeping states and their duration in dairy cattle.

9 Danksagung

Hiermit möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Familie und bei meinem Freund für die mentale und emotionale Unterstützung bei der Entstehung dieser Arbeit bedanken. Ihr habt mich in all meinen Vorhaben und Ideen immer unterstützt.

Ein großes Dankeschön gebührt meinem Betreuer Dr. Christoph Winckler für die exzellente Betreuung, die vielen konstruktiven Besprechungsstunden und die Möglichkeit, meine Arbeit auf einer wissenschaftlichen Tagung vorstellen zu dürfen.

Very special thanks go to Laura Hänninen for the excellent supervision during my stay in Helsinki and to Emma Ternman for helping me to collect the data and for borrowing me the Swedish data.

I would like to thank the team of the experimental barn of the veterinary faculty of Helsinki for their support and their help.

Schlussendlich möchte ich mich auch bei den Kühen des Versuchsstalls der veterinärmedizinischen Fakultät Helsinki bedanken, die alle Experimente geduldig über sich ergehen ließen.

10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Platzierung der Elektroden	20
•	Beispiel für ,typisches' Dösen anhand von EEG (1. Zeile) und EMG (2. Zeile)	26
_	Beispiel für ,typischen' NREM-Schlaf anhand von EEG (1. Zeile) und EMG (2. Zeile)	26
•	Beispiel für 'typischen' REM-Schlaf anhand von EEG (1. Zeile), EMG (2. Zeile) und EOG (3. Zeile)	27
•	Beispiel für 'typisches' Wiederkauen anhand von EEG (1. Zeile) und EMG (2. Zeile)	27
Abbildung 6:	Beispiel für ein Powerspektrum im NREM-Schlaf	28

11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Definition der während der kontinuierlichen Direktbeobachtungen verwendeten Verhaltensparameter	21
Tabelle 2:	Protokoll der Verhaltensbeobachtungen	22
Tabelle 3:	Eingesetzte Filter im EEG, EMG und EOG (nach HÄNNINEN 2007)	24
Tabelle 4:	Sensitivität (S, %) und Spezifität (SP, %) der Beurteilung des Schlafzustands anhand des Verhaltens	30
Tabelle 5:	Vorhersagbarkeit (%) des Schlafzustands anhand des Verhaltens	30
Tabelle 6:	Sensitivität (S, %) und Spezifität (SP, %) der Beurteilung des Schlafzustands der schwedischen Kühe anhand des Verhaltens	32
Tabelle 7:	Vorhersagbarkeit (%) des Schlafzustands der schwedischen Kühe anhand des Verhaltens	32
Tabelle 8:	BeobachterInnenabgleich	33

12 Quellenverzeichnis

Acerbi, A., McNamara, P., Nunn, C.L. (2008): To sleep or not to sleep: the ecology of sleep in artificial organisms, BMC Ecology, Vol. 8

Balch, C. C. (1955): Sleep in ruminants, Nature, Vol.175, Letters to the editors, S. 940 – 941

Bell, F. R. (1960): The electroencephalogram of goats during somnolence and rumination, Animal Behaviour, Vol. 8, S. 39-42

Borbély, A. A. & Achermann, P. (2005): Sleep homeostasis and models of sleep regulation, Principles and Practice of Sleep Medicine, 4. Auflage, Verlag Elsevier Saunders, S. 405–417

Bogner, H. & Grauvogl, A. (1984): Verhalten landwirtschaftlicher Nutztiere, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, S. 189

Chase, M. H. & Morales, F. R. (2005): Control of motoneurons during sleep, Principles and Practice of Sleep Medicine, 4.Auflage, Verlag Elsevier Saunders, S. 154–168

Carskadon, M. A. & Dement, W. C. (2011): Normal human sleep: An overview, Principles and Practice of Sleep Medicine, 5. Auflage, Verlag Elsevier Saunders, S. 16-26

Dement, W. (1958): The occurrence of low voltage, fast, electroencephalogram patterns during behavioral sleep in the cat, Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, Vol. 10, S. 291-296

Elgar, M. A., Pagel, M. D. & Harvey, P. H. (1988): Sleep in mammals, Animal Behaviour, Vol. 36, S. 1407-1419

Engelhardt, v. W. (2010): Physiologie der Haustiere, 3. Auflage, Enke Verlag, S. 68, 491, 674

Haßenberg, L. (1965): Ruhe und Schlaf bei Säugetieren, A. Ziemsen Verlag, S. 12, 13

Hänninen, L. (2007): Sleep and rest in calves, Dissertation, University of Helsinki, Faculty of veterinary medicine, S. 32

Hänninen, L., Mäkelä, J. P., Rushen, J., de Passillé, A. M. & Saloniemi, H. (2008): Assessing sleep state in calves through electrophysiological and behavioural recordings: A preliminary study, Applied Animal Behaviour Science, Vol. 111, S. 235-250

Hänninen, L. (2010): Persönliche Mitteilung. University of Helsinki, March 2010.

Heller, C. H. (2005): Temperature, Thermoregulation, and Sleep, Principles and Practice of Sleep Medicine, 4.Auflage, Verlag Elsevier Saunders, S. 292 – 304

Hsieh Kung-Chiao, Robinson, E. L. & Fuller, C. A. (2008): Sleep architecture in unrestrained rhesus monkeys (Macaca mulatta) synchronized to 24-hour light-dark cycles, Sleep, Vol. 31, S. 1239-1250

Immelmann, K. & Gebbing, H. (1962): Schlaf bei Giraffiden, Zeitschrift für Tierpsychologie, Vol. 19, S. 84-92

Jastrzebski, M. (1973): Zur Entwicklung der Markscheiden der Gehirnnerven im Markhirn des Rindes, Anatomia Histologia Embryologia, Vol. 2, S. 221-228

John, J., Ming-Fung Wu, Boehmer, L. N., Siegel, J. M. (2004) Cataplexy-active neurons in the posterior hypothalamus: implications for the role of histamine in sleep and waking behaviour, Neuron, Vol. 42, S. 619–634

Klemm, W. R. (1966): Sleep and paradoxical sleep in ruminants, Proceedings of Society for Experimental Biology and Medicine, Vol. 121, S. 635 – 638

Luif, C. (2008): Ruhe- und Schlafverhalten von Sauen in unterschiedlichen Abferkelsystemen, Diplomarbeit, Universität für Bodenkultur

Lyamin, O.I., Mukhametov, L.M. & Siegel, J.M. (2004): Relationship between sleep and eye state in Cetaceans and Pinnipeds, Archives italiennes de biologie, Pisa, Vol. 142, S. 557 – 568

Lyamin, O., Pryaslova, J., Lance, V. & Siegel, J. (2005): Animal behaviour: Continuous activity in cetaceans after birth, Nature, Vol. 435, S. 1177

McGinty, D.J. & Szymusiak, R. (2005): Sleep-promoting mechanisms in mammals, Principles and Practice of Sleep Medicine, 4.Auflage, Verlag Elsevier Saunders, S. 169–184

McGinty, D.J. & Harper, R.M. (1976): Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in cats, Brain Research, Vol. 101, S. 569-575

Meddis, R. (1975): On the function of sleep, Animal Behaviour, Vol. 23, S. 676-691

Merrick, A. W. & Scharp, D. W. (1971): Electroencephalography of resting behaviour in cattle, with observations on the question of sleep, American Journal of Veterinary research, Vol. 32, S. 1893-1897

Mukhametov, L.M., Supin, A.Y. & Polyakova, I. G. (1977): Interhemispheric asymmetry of the electroencephalographic sleep patterns in dolphins, Brain Research, Vol. 134, S. 581-584

Niedermeyer, E. & Lopes, da S. FH. (2005): Electroencephalography. Basic Principals, Clinical Applications and Related Fields, 5. Auflage, Verlag Williams and Wilkins, London, S. 127, 128, 130

Parmeggiani, P. L. (2005): Physiologic regulation in sleep, Principles and Practice of Sleep Medicine, 4.Auflage, Verlag Elsevier Saunders, S. 185 – 191

Rechtschaffen, A. & Bergmann, B. M. (2002): Sleep Deprivation in the rat: An update of the 1989 paper, Sleep, Vol. 25, S. 18-24

Roffwarg, H. P., Muzio, J. N. & Dement, W. C. (1966): Ontogenetic development of the human sleep-dream cycle, Science, Vol. 152, S. 604-619

Ruckebusch, Y. (1962a): Activité corticale au cours du sommeil chez la chèvre. C. r. séanc. Soc. Biol., Vol. 156, S. 867-870

Ruckebusch, Y. (1962b): Evolution post-natale du sommeil chez les ruminants. C. r. séanc. Soc. Biol., Vol. 156, S. 1869-1873

Ruckebusch, Y. (1965): The Normal and pathological electroencephalogram of ruminants, Proceedings of the Royal Society of Medicine, Vol. 58. Royal Soc Medicine Press Ltd., London, England, S. 551–552

Ruckebusch Y. & Bell, F. R. (1970): Etude Polygraphique et Comportémentale des Etates de Veille et de Sommeil chez la Vache (Bos taurus), Ann. Rech Vet, 1, S. 41-62

Ruckebusch, Y. (1972): The relevance of drowsiness in the circardian cycle of farm animals, Animal Behaviour, Vol. 20, Page 637-643

Ruckebusch, Y. & Beuno, L. (1972): Analyse quantitative des relations – activité alimentaire – etats de vigilance chez les Bovines en stabulation, Ann. Rech. Vet., Vol. 3, S. 399-402

Ruckebusch, Y., Dougherty, R.W. & Cook, H.M. (1974): Jaw movements and rumen motility as criteria for measurement of deep sleep in cattle; American Journal of Veterinary Research, Vol. 35, S. 1309-1312

Sambraus, H. H. (1978): Nutztierethologie, 1. Auflage, Verlag Paul Parey, S. 113, 115

Seefeld, H., Wittke, G. & Krzywanek, H. (1972): Respiratorische, zirkulatorische und rumenomotorische Veränderungen im Tiefschlaf des Rindes, Zentralblatt für Veterinärmedizin, Vol. 19, S. 353-363

Siegel, J. M. (2008): Do all animals sleep?, Trends in Neurosciences, Vol. 31, Issue 4, S. 208-213

Siegel, J.M. (2005a): REM sleep, Principles and Practice of Sleep Medicine, 4.Auflage, Verlag Elsevier Saunders, S. 120–135

Siegel, J. M. (2005): Clues to the functions of mammalian sleep, Nature, Vol. 437, Oct. 2005

Siegel, J. M., Manger, P. R., Nienhuis, R., Fahringer, H. M., Shalita, T. & Pettigrew, J. D. (1999): Sleep in the platypus, Neuroscience, Vol. 91, Nr. 1, S. 391–400

Siegel, J. M. (1990): Mechanisms of sleep control, Journal of Clinical Neurophysiology, Vol. 7, S. 49-65

Steiner, H. M. (2004): Zoologie im Studium Pferdewissenschaften, Vorlesungsskript, Institut für Zoologie, Department für integrative Biologie, Universität für Bodenkultur, Wien, S. 121

Steriade, M. (2005): Brain electrical activity and sensory processing during waking and sleep, Principles and Practice of Sleep Medicine, 4.Auflage, Verlag Elsevier Saunders, S. 101–119

Staunton, H. (2005): Mammalian sleep, Naturwissenschaften, Vol. 92, S. 203-220

Takeuchi Takashi, Sitizyo Kiitiro, Harada Etsumori (1998): Analysis of the electroencephalogram in growing calves by use of power spectrum and cross correlation, American Journal of Vet. Research, Vol. 59, S. 777 – 781

Tobler, I. (1992): Behavioural sleep in the Asian elephant in captivity, Sleep, Vol. 15, S. 1-12

Tobler, I. (1995): Is sleep fundamentally different between mammalian species? Behavioural Brain Research, Vol. 69, S. 35-41

Tobler, I. & Schwierin, B. (1996): Behavioural sleep in the giraffe (Giraffa camelopardalis) in zoological garden, Journal of Sleep Research, Vol. 5, S. 21-32

Turner, N., Else, P.L. & Hulbert, A.J. (2005): An allometric comparison of microsomal membrane lipid composition and sodium pump molecular activity in the brain of mammals and birds, The Journal of Experimental Biology, Vol. 208, S. 371-381

Wehrli, W. & Loosli-Hermes, J. (2003): Enzyklopädie elektrophysiologischer Untersuchungen, 2. Auflage, Verlag Elsevier, München, S. 330

Wöhr, A.-C. & Erhard, M. (2006): Polysomnographische Untersuchungen zum Schlafverhalten des Pferdes, KTBL-Schrift 448, S.127 – 135

Zepelin, H., Siegel, J. M. & Tobler, I., (2005): Mammalian sleep, Principles and Practice of Sleep Medicine, 4. Auflage, Verlag Elsevier Saunders, S. 91 – 100

Zschocke, S. (2002): Klinische Elektroenzephalographie, 2. Auflage, Springer, Berlin, S. 4, 5, 6, 7