

Diplom-Biologin Stefanie Zehle

Influence of early postnatal stress on the development of the limbic system in the rodent species *Octodon degus*: Behavioral, pharmacological and neuroanatomical analyses of the impact of the dopaminergic system

In the present dissertation it could be shown that exposing pups of the rodent species *Octodon degus* to periodic separation stress during the first three postnatal weeks leads to behavioral alterations, which include reduced attention towards an emotional stimulus and motoric hyperactivity and that these alterations are paralleled by synaptic changes in the dorsal anterior cingulate cortex (ACd), a limbic cortex region which plays a key role in the modulation of attentional and executive functions. The behavioral changes shown in the animal model are reminiscent of symptoms of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD).

ADHD-patients are typically treated with Methylphenidate (MP), where it can partly normalize hyperactivity and reduced attention, as well as altered brain metabolic activity in prefrontal and nigrostriatal brain areas. The metabolic activity of these brain areas was shown to be reduced also in the early stressed degus in the present dissertation. Thus, Open Field tests and (14C)-2-fluoro-deoxyglucose-autoradiography (2FDG) experiments were used to assess the effect of acute MP-treatment on early separation stress dependent alterations of behavior (e.g. hyperactivity or attention) and brain metabolic activity. On the behavioral level acute treatment with 1mg/kg MP on postnatal day 22 normalized hyperactive behaviour and increased attention towards an emotional stimulus (siblings play vocalizations). The same MP-dose increased the metabolic brain activity in the dorsal anterior cingulate, the prelimbic, infralimbic and orbitofrontal cortex in the early stressed animals, where as 5mg/kg MP did not increase the 2FDG-uptake. Taken together our study revealed that stress-induced altered behavior and which is paralleled by region specific alterations of 2-FDG activity can be partly reversed by acute MP-treatment.

Since the effect of chronic MP-treatment on neuronal and synaptic maturation in the developing brain was still unknown, the Golgi-Cox staining technique was applied to test in which way chronic MP-treatment interferes with dendritic and synaptic development in the ACd and whether this treatment can restore the stress-induced changes of neuronal connectivity. We found that chronic treatment with 1mg/kg MP recovers stress-induced changes of spine densities in the ACd. Furthermore, MP-treatment resulted in increased dendritic length and complexity in both, stressed as well as unstressed control animals. These results indicate that synaptic reorganization as well as dendritic growth in the prefrontal cortex continue into prepuberty and are modulated by MP-treatment. The present results reveal that early social experience and emotional challenges such as separation stress induce significant changes on behavior and on the dopaminergic system. Thus, in contrast to other established animal models for ADHD which are mainly focussed on its genetic background, the degu model is more related to the contribution of environmental factors to the development of ADHD.

In conclusion, the early stressed degu as animal model can provide new insights into the aetiology of ADHD in particular the underlying cellular and molecular neuronal mechanisms, a more detailed knowledge about the long-term neuronal, neurochemical and behavioral consequences of drug therapy in childhood and preadolescence.

Diplom-Biologin Stefanie Zehle

Einfluss früher postnataler Stresserfahrung auf die Entwicklung des limbischen Systems bei *Octodon degus*: Verhaltenspharmakologische und neuroanatomische Untersuchungen zur Beteiligung des dopaminergen Systems

In der vorliegenden Dissertation konnte gezeigt werden, dass bei Jungtieren der Nagetierart *Octodon degus*, die in den ersten drei Lebenswochen wiederholt (täglich 1h) von den Eltern getrennt wurden, Verhaltensänderungen, wie z.B. eine verminderte Aufmerksamkeit gegenüber einem emotional positiven Stimulus und motorische Hyperaktivität ausgelöst werden, die von diversen neuromorphologischen Modifikationen, wie z.B. der Veränderung der dendritischen Struktur von Pyramidenzellen der Schicht II/III des dorsalen anterior cingulären Cortex (ACd), einer limbischen Region, die eine Schlüsselrolle bei der Aufmerksamkeitssteuerung ausübt. Die stressinduzierten Verhaltensänderungen des Tiermodells *Degu* erinnern an die Schlüsselsymptome des Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndroms (ADHD).

ADHD-Patienten werden häufig mit Methylphenidat (MP), einem Hemmer des Dopamintransporters behandelt, was häufig zu einer Minderung des hyperaktiven Verhaltens, einer Besserung der selektiven Aufmerksamkeit sowie einer Korrektur der krankheitsbedingt veränderten metabolischen Gehirnaktivität präfrontaler und nigrostriärer Gehirngebiete führt. Um die Wirkung dieses Pharmakons im Tiermodell *Degu* auf die stressbedingten Veränderungen des Verhaltens und der metabolischen Gehirnaktivität zu testen, wurden Open Field Tests und (14C)-2-Fluoro-Deoxyglukose-Autoradiographie-Experimente durchgeführt. Es zeigte sich dabei, dass eine akute Behandlung gestresster Tiere mit 1mg/kg MP das hyperaktive Verhalten signifikant reduziert sowie die Aufmerksamkeit gegenüber den emotionalen Stimuli erhöht. Dieselbe MP-Dosis steigerte die metabolische Aktivität des dorsalen anterior cingulären, des prälimbischen, infralimbischen und orbitofrontalen Cortex. Zusammengefasst heißt dies, dass, durch den frühkindlichen Trennungstress hervorgerufene, regionsspezifische Änderungen der metabolischen Aktivität und des Verhaltens teilweise durch eine Behandlung mit MP normalisiert werden können.

Mit Hilfe histologischer Färbungen (Golgi-Cox) wurde zudem untersucht, in welcher Weise eine chronische MP-Behandlung während der Präadoleszenz die dendritische und synaptische Entwicklung des ACd beeinflusst. Die Ergebnisse zeigten, dass die Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 1mg/kg MP zu einer Normalisierung der, durch frühkindlichen Stress erhöhten, Spinefrequenz der Apikaldendriten von ACd-Pyramidenzellen führt. Diese Neurone zeigen zudem unabhängig von der Aufzuchtform längere und komplexere Dendriten. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass Prozesse der neuromorphologischen Plastizität des ACd wie das Dendritenwachstum bis zur Phase der Pubertät vorhanden und durch eine Behandlung mit MP behandelbar sind. Es kann daher geschlossen werden, dass die Entwicklung und Ausreifung neuronaler Systeme in Abhängigkeit von emotionalen Erfahrungen während der Kindheit modifiziert wird.

Zusammenfassend kann damit gesagt werden, dass das in der vorliegenden Studie verwendete Tiermodell des frühkindlich gestressten *Degu* im Unterschied zu anderen Tiermodellen des Krankheitsbildes ADHD, die die genetischen Ursachen des Symptombildes abbilden, die Bedeutung der Umgebung des sich entwickelnden Tieres für die Entstehung von Verhaltensänderungen und deren potentiellen neuroanatomischen und -funktionellen Ursachen verdeutlicht. Aufgrund der physiologischen und entwicklungsbiologischen Ähnlichkeit des *Degu* mit dem Krankheitsbild ADHD stellt der *Degu* ein geeignetes Tiermodell zur Untersuchung der Effekte frühkindlicher Umwelteinflüsse bei der Entwicklung von Sozial- und Verhaltensstörungen dar.