



Doctoral Thesis

Long-term developmental effects of postnatal environmental manipulation on stress and reward systems in Wistar and Fischer rats

Author(s):

Rüedi-Bettschen, Daniela

Publication Date:

2004

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004843259> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 15678

**Long-term developmental effects of postnatal
environmental manipulation on stress and reward systems
in Wistar and Fischer rats**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
for the degree of
Doctor of Natural Science

presented by

Daniela Rüedi-Bettschen
Dipl. Natural Scientist, ETH Zurich

born February 7th, 1972
Reichenbach im Kandertal (Bern)

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Joram Feldon, examiner
PD Dr. Christopher R. Pryce, co-examiner
Prof. Dr. Eberhard Fuchs, co-examiner

2004

ABSTRACT

Depression disorder is the most common psychiatric disease. There is evidence from epidemiological and clinical studies that genetic and environmental factors, and an interaction of both, are involved in the aetiology of the disease. Depression is diagnosed on the basis of chronic symptoms, including depressed mood (sadness, helplessness, despair), and loss of pleasure/interest in every day activities (anhedonia). Associated features include increased hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) and cardiophysiological activity. There is a growing body of evidence that adverse early life environments, including parental emotional and physical neglect, are associated with traits of altered physiological and neurobiological function and long-term high vulnerability to depression. Animal studies based on early life adversity can potentially yield environmental models of developmental psychopathology. In the rat, mother and littermates are the most important components of the infant's environment, providing stimulation and protection. As such, experimental manipulations of the rat pup's interactions with its dam and littermates constitute important independent variables for the study of long-term effects of early life adversity on stress and reward systems.

The overall aim of this thesis was to develop an animal model of depression based on early life stress induced by postnatal environmental manipulation. The studies were performed with rats of the outbred Wistar and the inbred Fischer strains. In a first experiment, I investigated the effects on maternal behaviour and pup growth of daily 4-hour isolation of Wistar rat pups from dam and littermates on postnatal days 1-14 (early deprivation, ED). The effects of ED performed under different thermal and circadian conditions were compared, using completely undisturbed dams and litters (non-handling, NH) as the comparison groups. Thus, ED was performed at either 21°C (Cold), or 32°C (Warm), and either during the Light or Dark circadian phase. These conditions were studied since rat dams display a diurnal pattern of maternal care, with higher levels of care during the light circadian phase, and because 21°C, but not 32°C, is a thermal stressor for rat pups. All ED pups received high levels of maternal care at reunion relative to NH. Pups exposed to Cold ED, and most notably Dark-Cold ED, elicited sustained high levels of maternal care. Despite this, at weaning Cold ED pups were of lower body weight than Warm ED pups, and Warm ED pups were smaller than NH pups. These findings suggested that reduced pup weight and increased maternal care are short-term markers indicative of cold ED constituting a severe manipulation that could also impact negatively on long-term development.

When studied as adults, these Dark-Cold ED offspring exhibited reduced motivation to work for sucrose reward in a progressive ratio schedule and tended to be less mobile in a

forced swim test. They did not exhibit an escape deficit in a mild footshock (US) pre-exposure/shuttle box test, aimed at detecting predisposition to develop a learned helplessness-like state, or altered endocrine reactivity. Light ED, under both thermal conditions, was consistently without effect on the adult phenotype. Therefore, in the Wistar rat, I obtained evidence that Dark-Cold ED leads to a trait of mild reduced motivation to obtain gustatory reward, which is of potential importance as a rat model of mild anhedonia.

The Fischer rat strain exhibits augmented stress sensitivity, at least in adulthood, and therefore was in genetic terms of high potential interest as a study strain in this thesis. I investigated the short- and long-term effects of Dark-Cold ED using both NH and early handling (EH) as comparison groups. Short-term (infancy) effects of postnatal manipulation in Fischer rats included an intensified bout of maternal care in ED dams at reunion but not the sustained elevation of maternal care observed in Wistar rats. At weaning ED pups were of lower body weight than EH, and EH were smaller than NH pups.

In adulthood, there were no effects of ED in terms of basal HPA or cardiophysiological activity. Also, there was no effect of ED on reward motivation in the progressive ratio schedule. When challenged with a novel environment, ED exhibited a hyper-reactivity in terms of systolic blood pressure (measured using radiotelemetry) relative to NH and ED. When challenged with physical restraint, ED exhibited a reduced corticosterone response relative to NH. In the US pre-exposure/shuttle box test, ED exhibited an escape deficit. These findings suggest that in Fischer rats, ED leads to altered physiological reactivity to environmental challenges and to a state of impaired coping ability in aversive environments.

In a final study, I investigated the effects of chronic antidepressant treatment on the purported, depression-like ED coping deficit identified in the shuttle box test in Fischer rats. The test was modified such that the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine could be administered chronically between inescapable footshock pre-exposure and the shuttle box test. Then, the predictive validity of the model was assessed in terms of reversal of the hyper-reactivity to the US-pre-exposure demonstrated by ED rats. Male and female US-pre-exposed ED subjects treated with vehicle exhibited an avoidance deficit (but not an escape deficit) relative to NH and this ED effect was attenuated with fluoxetine treatment.

In conclusion, this thesis has yielded novel data with respect to the relevance of the long-term effects of a specific postnatal manipulation in rats to models of stress- and reward-related symptoms of depression. Two strains were studied and each yielded robust evidence for a depression-like phenotype, but in both cases this was specific: to anhedonia in the case of Wistar ED rats and to impaired stress coping in the case of Fischer ED rats.

ZUSAMMENFASSUNG

Depression ist die am häufigsten auftretende psychiatrische Erkrankung. Klinische und epidemiologische Studien belegen, dass sowohl genetische Faktoren und Umweltbedingungen, wie aber auch eine Interaktion dieser beiden Faktoren, an der Entstehung der Krankheit massgeblich beteiligt sind. Eine Depression wird aufgrund geschilderter oder beobachteter chronischer Symptome diagnostiziert, welche eine gedrückte Stimmung (Traurigkeit, Gefühl von Hilflosigkeit, Verzweiflung) und den Verlust von Freude/Interesse an Alltagsaktivitäten (Anhedonie) mit einschliessen. Weitere Merkmale sind auch eine erhöhte Aktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren (HPA) Achse und des Herz-Kreislauf-Systems. Es gibt immer mehr Hinweise dafür, dass frühe aversive Lebenserfahrungen, einschliesslich emotionalem und physischem Missbrauch durch die Eltern, mit veränderten psychologischen und neurobiologischen Funktionen einhergehen und längerfristig mit einer hohen Anfälligkeit für Depressionen assoziiert sind. Tierversuche, die auf solchen frühen aversiven Lebenserfahrungen basieren, sind potentielle Modelle für Entwicklungs-Psychopathologien. Bei der Ratte sind die Mutter und die Geschwister die wichtigsten Bestandteile der Umgebung eines Jungtiers, da sie für Stimulation und Schutz sorgen. Die experimentellen Manipulationen der Beziehung zwischen Rattenjungem und seiner Mutter, beziehungsweise seinen Geschwistern, stellen wichtige unabhängige Variablen für die Studie von Langzeiteffekten dar, die sich mit frühen negativen Lebensumständen und deren Einfluss auf das Stress- und Belohnungssystem befassen.

Das Ziel dieser Dissertation war die Entwicklung eines Tiermodells für die Depression, basierend auf frühem Lebensstress, welcher wiederum durch eine Manipulation der postnatalen Umgebung erreicht wird. Die Studien wurden mit zwei Rattenstämmen, dem Auszuchtstamm Wistar und dem Inzuchtstamm Fischer durchgeführt. In einem ersten Experiment untersuchte ich die Auswirkungen einer 4-stündigen, täglichen Trennung junger Wistarratten von Mutter und Geschwistern während der ersten 14 postnatalen Tage (early deprivation, ED) auf das Mutterverhalten und auf das Wachstum der Jungtiere. Mütter, die ungestört mit ihren Würfen (non-handling, NH) zusammenblieben wurden als Vergleichsgruppe benutzt, um die Auswirkungen von ED unter verschiedenen tagesrhythmischen und thermischen Bedingungen zu erforschen. ED wurde daher entweder bei 21°C (cold) oder 32°C (warm) durchgeführt, und während der Dunkelphase oder der Lichtphase eines Tagesrhythmus. Diese Bedingungen wurden gewählt, weil sich das Mutterverhalten von Ratten im Laufe des Tages ändert, das heisst, dass sie sich während der Lichtphase mehr um ihre Jungen kümmern als in der Dunkelphase, und weil 21°C - nicht aber 32°C - einen Kältestress für das Jungtier darstellen. Die Rückkehr der ED-Jungen zur

Mutter, vor allem derjenigen der ED-cold Gruppe, bewirkte einen fortwährenden Anstieg mütterlicher Fürsorge. Zum Zeitpunkt der Entwöhnung waren die ED-cold Jungtiere trotz allem leichter als die ED-warm Jungtiere, und diese wiederum waren leichter als die NH Jungtiere. Die Schlussfolgerung aus diesen Beobachtungen war, dass das verminderte Körpergewicht und die gesteigerte Fürsorge der Rattenmutter vorläufige Zeichen dafür sind, dass ED unter kühlen Bedingungen eine tiefgreifende Manipulation darstellt, welche die längerfristige Entwicklung des Jungtieres stark beeinflussen kann.

Verhaltenstests am ausgewachsenen Tier machten deutlich, dass die im Dunkeln und bei Raumtemperatur deprivierten Tiere eine geringere Motivation aufwiesen, für Zuckerwasser in einem „Progressive Ratio Schedule“ zu arbeiten und dazu tendierten, sich in einem erzwungenen Schwimmtest in kaltem Wasser (Forced Swim Test) weniger zu bewegen. Wurden diese Tiere mildem Fuss-Schock (US) ausgesetzt (preexposure) und anschliessend in einem Pendel-Box Test (shuttle box test) auf ihre Fähigkeit getestet, diesem US zu entfliehen, zeigten sie kein Defizit. Diese Versuchsanordnung diente dazu, die Prädisposition, Symptome der erlernten Hilflosigkeit zu entwickeln, zu erörtern. Auch die hormonelle Reaktionsfähigkeit auf Stress blieb unverändert. ED während der Lichtphase hatte bei beiden Temperaturbedingungen keinen Einfluss auf den erwachsenen Phänotypen. Daraus schloss ich, dass cold-ED während der Dunkelphase in der Wistar-Ratte zu einer leicht verminderten Motivation für eine wohlschmeckende Belohnung zu arbeiten führt. Dies ist von potentieller Bedeutung für ein Rattenmodell milder Anhedonie.

Der Fischer Rattenstamm zeigt von Natur aus, zumindest im Erwachsenenalter, eine erhöhte Sensibilität für Stress, und war deshalb aus genetischer Sicht ein hochinteressanter Stamm für die Studien dieser Dissertation. Ich untersuchte die kurz- und langfristigen Einflüsse von cold-ED während der Dunkelphase, verglichen mit NH und EH (early handling). Kurzfristige Effekte (in der frühen Kindheit) der postnatalen Manipulation in Fischer Ratten beinhalteten eine intensivierete Periode mütterlicher Pflege in ED-Müttern nach der Wiedervereinigung, aber diese Fürsorge war nicht andauernd wie in den Wistar Ratten. Zum Zeitpunkt der Entwöhnung waren ED-Junge leichter als EH, welche wiederum leichter waren als NH Rattenjunge.

Im Erwachsenenalter zeigten sich keine Einflüsse von ED auf die Ruhewerte der HPA Achse oder des Herz-Kreislauf-Systems. Ausserdem war kein Effekt im Hinblick auf die Motivation, für Belohnung in einem Progressive Ratio Schedule zu arbeiten, bemerkbar. Wurden diese Tiere jedoch in einer neuen Umgebung gefordert, zeigten ED Ratten verglichen mit NH und EH eine Hyperaktivität des systolischen Blutdrucks, der via Radiotelemetrie gemessen wurde. Verglichen mit NH zeigten ED Tiere einen reduzierten Corticosteronanstieg, wenn sie in einer engen Röhre eingesperrt wurden. Im US-pre-exposure/shuttle box test zeigten die ED Tiere ein Defizit in ihrer Fähigkeit dem US zu

entfliehen. All diese Beobachtungen machen deutlich, dass ED in Fischer Ratten zu einem veränderten physiologischen Reaktionsvermögen bezüglich neuer Umweltbedingungen führt und letztendlich zu einer beeinträchtigten Bewältigung bedrohlicher Situationen.

In einer letzten Studie untersuchte ich die Auswirkungen chronischer Antidepressiva-Gabe auf die bereits oben erwähnte, depressionsähnliche Schwäche im shuttle box test in Fischer Ratten. Der Test wurde insoweit modifiziert, dass eine chronische Gabe des selektiven Serotonin Wiederaufnahmehemmers Fluoxetin zwischen der preexposure des US und dem eigentlichen shuttle box test möglich war. Die Voraussage-Gültigkeit (predictive validity) dieses Modells wurde in der Annahme getestet, dass Fluoxetin die Überreaktivität der ED Ratten nach einer Exposition mit dem US vermindern sollte. Verglichen mit NH zeigten Männchen und Weibchen, die nur Placebo erhalten hatten, ein deutliches Manko, den US zu vermeiden (aber kein Defizit um dem US zu entfliehen) und dieser Effekt wurde durch chronische Fluoxetin-Gabe gelindert.

Schliesslich hat diese Dissertation neuartige, relevante Erkenntnisse hervorgebracht, die die Auswirkungen spezifischer postnataler Manipulationen auf Stress- und Belohnungsbezogene Symptommodelle der Depression aufzeigen. Es wurden zwei Rattenstämme untersucht, von denen jeder für sich handfeste Beweise für einen depressionsähnlichen Phänotypen erbrachte, welcher jedoch in beiden Fällen stets stammspezifisch war: Anhedonie im Falle der Wistar ED Ratten und beeinträchtigtes Bewältigen von Stress-Situationen in Fischer ED Ratten.