

DISS. ETH NO. 26703

**THE ACUTE STRESS RESPONSE IN THE BRAIN:
FROM NEUROMODULATION TO MOLECULES**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

AMALIA FLORIOU SERVOU

B.Sc., ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI

M.Sc., ETH Zurich

born on 09.10.1989

citizen of Greece

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Johannes Bohacek

Prof. Dr. Fritjof Helmchen

Prof. Dr. Hanns Ulrich Zeilhofer

Prof. Dr. Theofanis Karayannis

2020

ABSTRACT

All organisms have evolved elaborate systems to mount a stress response, which increases the chances of survival in dangerous situations. The response to acute stress encompasses a myriad of neurochemicals, the stress-mediators, that act in concert throughout the brain and body. One of the most crucial aspects of the stress response is the mobilization and reallocation of energy resources. The brain is the organ that first perceives potential threats and coordinates the stress response, yet the stress response also impacts the brain itself, changing its function and metabolic activity.

One brain area with a key role in the stress response is the locus coeruleus (LC), the largest noradrenergic cell population in the central nervous system, located in the pons of the brainstem. The LC sends diffuse projections to the entire brain, thus providing the main supply of norepinephrine (NE) in the brain, and controlling basic functions such as arousal, cognition and vigilance. Theories have proposed that LC activation mediates a rapid shift in the functional connectivity of the brain, to strengthen connections that promote a higher state of alertness, and enhance threat detection. However, causal evidence that the LC is able to directly exert this effect on large-scale brain function was missing. Here, we chemogenetically activated the mouse LC while performing resting-state functional magnetic resonance imaging (fMRI), an approach we termed chemo-connectomics. Our results showed an increase in brain-wide connectivity, and a rapid reconfiguration of the functional connectome that enhanced brain networks tasked with salience processing and threat detection. Even though this experiment was performed in anesthetized mice, these findings mirror the effects observed in fMRI scans of awake human subjects presented with emotionally aversive stimuli. Moreover, we provided clues that alpha1 and beta1 adrenergic receptors might be involved in these effects, by correlating the changes in functional connectivity to the distribution of adrenergic receptors at the mRNA level. These results highlight the role of LC in the stress response, as well as the potential of neuromodulators in regulating whole-brain states.

The release of stress-mediators in response to acute stress also affects the brain on a molecular level, in part through the recruitment of intracellular signaling cascades and the regulation of gene expression. Although a large body of literature has focused on such molecular changes in the context of stress-triggered neuropsychiatric disorders, the molecular events that affect cellular function to mediate the healthy, default response to acute stress have not been characterized in detail. Here, we used a multi-omic approach to investigate the molecular response to acute stress in the mouse brain. We focused on the hippocampus (HC), since this area – owing to its connectivity and molecular composition – is at the heart of the stress response. First, we showed that the dorsal (dHC) and ventral HC (vHC), are inherently different at the transcriptome and proteome level. Hence, we performed our analysis in those two regions separately, after an acute swim stress paradigm. We first used phosphoproteomics to identify the signaling events that initiate the cellular response to stress. In addition, we characterized the transcriptional changes that take place over time, as well as the changes on the translome of excitatory and inhibitory neurons. We found that stress-induced changes in protein phosphorylation and in gene expression are widespread and rapid, but tightly regulated, as they terminate within a few hours after the initiation of stress. Altogether, these results provide the most detailed characterization of the molecular stress response to date, and will hopefully provide a starting point for understanding where the healthy stress-response might be derailed in cases of stress-induced psychopathology.

ZUSAMMENFASSUNG

Alle Organismen haben umfangreiche Systeme für Stressreaktionen entwickelt, welche die Überlebenschancen in gefährlichen Situationen erhöhen. Die Reaktion auf akuten Stress beinhaltet mehrere Neurotransmitter, welche im Zusammenspiel in Gehirn und Körper wirken. Eine der wichtigsten Funktionen der Stressreaktion ist die Mobilisierung und Umverteilung von Energiereserven. Das Gehirn ist das erste Organ welches mögliche Gefahren erkennt und die Stressreaktion koordiniert, und gleichzeitig beeinflusst die Stressreaktion das Gehirn selber indem es seine Funktion und metabolische Aktivität verändert.

Eine Schlüsselrolle in der Stressreaktion übernimmt die Hirnregion locus coeruleus (LC), die grösste noradrenergische Zellpopulation im zentralen Nervensystem, welche in dem Pons vom Hirnstamm liegt. Der LC sendet diffuse Projektionen durch das ganze Gehirn, wodurch es die Hauptversorgung von norepinephrine (NE) im Gehirn übernimmt und grundlegende Funktionen wie Erregung, Kognition und Wachsamkeit kontrolliert. Theorien schlagen vor, dass die Aktivierung des LC eine schnelle Verschiebung von funktionelle Verbindung des Gehirns ermöglicht, indem jene Verbindungen verstärkt welche eine erhöhte Wachsamkeit ermöglichen und dadurch das Erkennen von Gefahren erleichtert. Es bestanden jedoch noch keine kausalen Zusammenhänge welche zeigten, dass der LC in der Lage ist diesen Effekt direkt auf grossübergreifende Hirnfunktionen auszuüben. Hier, haben wir den Maus LC mit chemogenetischen Methoden aktiviert während wir mit funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRI) den Ruhezustand des Hirns aufgezeichnet haben, ein Verfahren welches wir chemo-connectomics nennen. Unserer Resultate zeigen eine erhöhte gehirnweite Konnektivität und eine schnelle Konfigurierung des funktionellen Connectomes, wodurch Gehirnetzwerke verantwortlich für Salienz und Gefahrenerkennung verstärkt wurden. Obwohl dieses Experiment in anästhesierten Mäusen durchgeführt wurde, spiegeln unsere Befunde jene von fMRI Messungen in wachen Menschen während emotional aversiven Stimuli. Zudem fanden wir eine Korrelation zwischen den funktionellen Verbindungen im Gehirn und den mRNA Levels adrenergischer Rezeptoren, wodurch wir Hinweise liefern, dass alpha1 und beta1 adrenergische Rezeptoren in diesen Prozessen involviert sein könnten. Diese Resultate illustrieren die Rolle des LC in der Stressreaktion, so wie auch die Möglichkeit, dass Neuromodulatoren Zustände im ganzen Gehirn regulieren könnten.

Die Ausschüttung von Stressmediatoren auf Grund von akutem Stress hat auch molekulare Auswirkungen auf das Gehirn, Teils durch die Rekrutierung von intrazellulären Signalkaskaden wie auch durch die Regulation von Genexpression. Obschon viele Studien solche molekularen Effekte in stressinduzierten neuropsychiatrischen Erkrankungen untersucht haben ist nur wenig über die normale, gesunde molekulare Stressreaktion bekannt. Hier benutzen wir einen multi-omischen Ansatz um die molekulare akute Stressreaktion im Mausgehirn zu untersuchen. Wir fokussieren uns dabei auf den Hippocampus (HC), da diese Region auf Grund seiner Konnektivität und molekularer Zusammensetzung im Zentrum der Stressreaktion steht. Wir zeigen, dass der dorsale (dHC) und ventral HC (vHC) inhärent unterschiedlich sind, wenn man des Transkriptom und das Proteom betrachtet. Auf Grund dieser Tatsache haben wir beide Regionen nach akutem Swimstress getrennt analysiert. Zuerst verwendeten wir einen phosphoproteomischen Ansatz um die Veränderungen von Signalkaskaden, welche die zelluläre Stressreaktion initiieren, zu identifizieren. Zusätzlich charakterisierten wir Veränderungen in der Genetranskription welche sich über die Zeit entfalten, so wie auch Veränderungen in der Gentranslation in exzitatorischen und inhibitorischen Neuronen. Wir zeigen, dass stressinduzierte Veränderungen in Proteinphosphorylierung und Genexpression weiträumig und schnell ablaufen und stark reguliert sind, da sie bereits wenige Stunden nach der Initiierung von Stress wieder verschwinden. Zusammengefasst charakterisieren unsere Resultate die molekulare Stressreaktion mit anhin unbekannter Komplexität, und bieten damit hoffentlich neue Ansatzpunkte

in der Suche nach dem Verständnis wo die gesunde Stressreaktion in stressinduzierten Psychopathologien fehlschlägt.