Daniel Leible

Dr. med.

Monosynaptic input mapping and functional characterization of medial prefrontal cortex neurons projecting to the dorsal periaqueductal gray in compulsive alcohol drinking

Fach/Einrichtung: Pharmakologie

Doktormutter: Prof. Dr. Rohini Kuner

Alcohol use disorder ist eine der häufigsten psychischen Erkrankungen weltweit. Kompulsiver (auch genannt aversions-resistenter) Alkoholkonsum ist ein Hauptmerkmal dieser chronischen Erkrankung des Gehirns und ist definiert als anhaltender Alkoholkonsum trotz negativer Konsequenzen. Es wurde gezeigt, dass das Aktivitätsmuster von Neuronen im medialen präfrontalen Cortex (mPFC), die zum dorsalen periaqueductalen Grau (dPAG) projizieren, die Entwicklung von kompulsivem Alkoholkonsum in Mäusen vorhersagen kann. Außerdem wurde gezeigt, dass optogenetische Inhibition (Photoinhibition) von mPFC-dPAG Axonendigungen aversions-resistenten Alkoholkonsum unter Vergällung mit dem bitter-schmeckenden Chinin (als auch unter Fußschock) hervorrufen kann. Für meine Doktorarbeit plante ich, diesen vielversprechenden mPFC-dPAG-Schaltkreis im Kontext von kompulsivem Alkoholkonsum weiter funktional zu charakterisieren und neuroanatomisch zu erweitern.

Zuerst wollte ich herausfinden, ob der mPFC-dPAG-Schaltkreis spezifisch für den kompulsiven Aspekt des Alkoholkonsums ist, oder ob der aversions-resistente Alkoholkonsum während Photoinhibition der mPFC-dPAG-Axonendigungen durch eine generell verminderte Sensitivität für bestrafende Stimuli verursacht wird. In einem Schwanz-Rückzugs-Versuch, verglich ich die Latenzzeit, mit der Mäuse ihren Schwanz aus heißem Wasser zogen. Mäuse, die die licht-sensitive inhibitorische Chlorid-Pumpe eNpHR3.0 zur Photoinhibition der mPFC-dPAG-Axonendigungen exprimierten, zeigten eine signifikant höhere Latenzzeit im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies zeigte, dass der mPFC-dPAG-Schaltkreis auch die Reaktion auf andere bestrafende Stimuli moduliert und unterstützt die Hypothese, dass Photoinhibition der mPFC-dPAG-Axonendigungen aversions-resistenten Alkoholkonsum durch eine generelle Unterbrechung der Verarbeitung bestrafender Stimuli hervorrufen könnte. Dieser Schaltkreis scheint nicht schmerz-spezifisch zu sein, da Chinin als nicht schmerzhafter Stimulus von anderen verwendet wurde, um das kompulsive Alkohol-Trinkverhalten zu bewerten.

Es ist bekannt, dass optogenetische Kontrolle an den Axonendigungen und den Zellkörpern letztendlich in unterschiedlichen Aktivitätsmustern resultieren kann. Deshalb untersuchte ich im zweiten Teil meiner Doktorarbeit, ob Photoinhibition von mPFC-dPAG-Zellkörpern einen ähnlichen Effekt auf aversions-resistenten Alkoholkonsum und die Verarbeitung aversiver Stimuli hat wie Inhibition an den Axonendigungen. In einem Zwei-Flaschen-Auswahl-Versuch hatten Mäuse gleichzeitig Zugang zu Wasser und Alkohol für eine Stunde pro Durchlauf. Das Ethanol wurde dann mit steigenden Chinin-Konzentrationen vergällt und die nötige Chinin-Konzentration bestimmt, um den Alkoholkonsum um 50 % zu reduzieren (IC_{50}). Auch wenn das Ergebnis statistisch nicht signifikant war ($p = 0.222$), zeigten eNpHR3.0-exprimierende Mäuse einen etwa zweimal höheren IC_{50} -Wert als die Kontrollgruppe. Dieser Trend deutet an, dass Photoinhibition an den mPFC-dPAG-Zellkörpern ebenfalls aversions-resistenten Alkoholkonsum fördern könnte. Jedoch wird ein größerer Stichprobenumfang benötigt, um dies zu bestätigen. Ich führte außerdem einen Schwanz-Rückzugs-Versuch durch, um den Effekt von Photoinhibition an den mPFC-dPAG-Zellkörpern auf einen alleinigen bestrafenden Stimulus zu untersuchen, sowie einen Echtzeit-Orts-Präferenz-Versuch, um herauszufinden, ob die Zellkörper-Photoinhibition selbst als aversiver oder angenehmer Stimulus wahrgenommen wird. In beiden Tests wurde kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe festgestellt. Während solch ein fehlender Effekt theoretisch auf eine generell niedrigere Effektivität oder eine unterschiedliche Wirkung auf das Verhalten, verglichen mit Photoinhibition an den Axonendigungen, hinweisen könnte, wird jedoch ein größerer Stichprobenumfang benötigt, um diese Ergebnisse zu bestätigen.

Im dritten Teil meiner Doktorarbeit nutzte ich monosynaptisches Rabies-Tracing, um die vorgelagerten Hirnregionen zu identifizieren, die die mPFC-dPAG-Dysfunktion beim kompulsiven Alkoholkonsum potenziell hervorrufen. Der genetisch modifizierte Rabies-Virus kann sich rückwärts über genau eine Synapse hinweg ausbreiten und dadurch ausschließlich die direkten Input-Neurone zu einer bestimmten Starter-Zellpopulation markieren. Vor der Injektion des Rabies-Virus hatte ich bereits spezifisch die mPFC-dPAG-Neurone mit einem Helfer-Virus infiziert, sodass nur diese als Starter-Zellpopulation dienen konnten. Der anteriore Thalamus und das basale Vorderhirn zeigten eine konsistente Markierung von Input-Neuronen. Innerhalb des anterioren Thalamus, wies der anteromediale Thalamuskern eine signifikant höhere Input-Zellzahl als andere umgebende Kerne auf. Im basalen Vorderhirn formten der Kern des horizontalen (HDB) und vertikalen (VDB) Abschnittes des diagonalen Bandes, sowie der mediale septale Kern eine kontinuierliche und robuste Inputpopulation entlang der anterior-

posterioren Achse. Interessanterweise variierte zwischen den Versuchstieren das Verhältnis von Input-Zellen im basalen Vorderhirn zu Input-Zellen im anterioren Thalamus merklich. Daher fragte ich mich, ob diese Variationen durch unterschiedliche Verteilung der Starter-Zellen auf die Teilbereiche des mPFC (anterioren cingulären Cortex (ACC), prälimbischer Cortex (PL) und infralimbischer Cortex (IL)) erklärt werden können. Bemerkenswerterweise zeigte das Verhältnis von Input-Zellen in basalem Vorderhirn zu anteriorem Thalamus eine sehr starke Korrelation ($r = 0.9759$) mit dem Verhältnis von Starter-Zellen in PL und IL zu ACC. Basierend auf zwei Modellen der Starter-Zell-Verteilung im mPFC, deuteten diese Ergebnisse an, dass ACC-dPAG-Neurone und PL/IL-dPAG-Neurone zwei separate Starter-Zell-Subpopulationen mit eigenständigen direkten Input-Hirnregionen bilden. In diesem Modell erhalten ACC-dPAG-Neurone bevorzugt Input vom anterioren Thalamus, was konsistent mit dem bekannten Papez-Kreis ist. Der PL/IL-dPAG-Schaltkreis hingegen erhält vorzugsweise Input vom VDB/HDB im basalen Vorderhirn.