

Abstract

Energy homeostasis is the process via which an organism balances energy intake and expenditure. The impairment of this process can lead to obesity development, a disease that currently lacks adequate therapy options. The central nervous system (CNS), more specifically the arcuate nucleus (ARH) of the hypothalamus, is recognized as an important regulator of energy homeostasis. The ARH contains a neuronal population of orexigenic nature: the agouti-related peptide/neuropeptide Y (AgRP/NPY) neurons. Depending on peripheral signals, these neurons release γ -aminobutyric acid (GABA), AgRP and NPY, leading to effects on downstream neurons and/or to behavioral responses. The function of these neurotransmitters in regulating energy homeostasis remains unclear, thus we investigated the specific role of NPY in this process.

We established a mouse model to investigate the contribution of NPY-dependent signaling in response to AgRP neuron activation, i.e., conventional NPY-deficient mice in which AgRP neurons can be activated by exogenous stimuli. We showed that NPY deficiency does not affect AgRP expression or the ability of AgRP neurons to be activated upon optogenetic stimulation of the ARH.

We showed that AgRP neuron activation in the presence of NPY induced a rapid increase in feeding. However, in the absence of NPY, the acute feeding response upon either opto- or chemogenetic activation of AgRP neurons was abrogated. Thus, we demonstrated that the immediate AgRP-dependent feeding response depends on NPY, while the prolonged increase of feeding occurs independently of NPY signaling. In line with these findings, we verified that NPY signaling regulates acute food intake when endogenous AgRP neuron activity is high, i.e., during starvation. Next, we showed that NPY signaling mediates insulin resistance induced by opto- or chemogenetic stimulation of AgRP neurons. In addition, we demonstrated that NPY controls energy expenditure.

Some AgRP/NPY neuron projection sites control feeding in response to AgRP neuronal activation. We studied two of these: the lateral hypothalamus (LH) and the bed nucleus of the stria terminalis (BNST). We showed that the LH mediates the acute feeding response, while the BNST regulates not only the acute, but also the prolonged feeding response. Interestingly, we demonstrated that both the LH and BNST regulate food intake in an

NPY-dependent manner. Moreover, we found that only the BNST, but not the LH, controls locomotor activity in mice.

We aimed to define the molecular nature of NPY receptor expressing neurons that act downstream of AgRP/NPY neurons in the BNST to control food intake. Upon chemogenetic inhibition of NPY1 receptor (NPY1R)-expressing neurons in the BNST, we observed a tendency towards an increase in food intake. We further hypothesized that specific neuronal populations in the BNST are the second order neurons of NPY1R-expressing neurons and respond to AgRP neuronal signaling. We showed that corticotropin-releasing hormone (CRH), neurotensin (Nts) and prepronociceptin (Pnoc), but not somatostatin (Sst) expressing neurons in the BNST were activated upon chemogenetic activation of AgRP neurons. We could further demonstrate that CRH-expressing neurons in the BNST do not affect food intake, water intake, respiratory quotient (RQ) or locomotor activity, while Nts-expressing neurons in the BNST control locomotor activity, especially in the absence of food. The neuropeptidergic population responsible for the increase in food intake upon AgRP neuron activation remains to be elucidated.

Zusammenfassung

Die geregelte Balance zwischen Energieaufnahme und Energieabgabe wird auch unter dem Begriff der sogenannten Energiehomöostase zusammengefasst. Ein Ungleichgewicht der Energiehomöostase kann zur Entstehung einer Adipositas beitragen, eine Krankheit, für die es derzeit nur unzureichende Therapiemöglichkeiten gibt. Das zentrale Nervensystem, insbesondere der Nucleus arcuatus (ARH) des Hypothalamus, gilt als ein entscheidender Faktor in der systemischen Regulation der Energiehomöostase. Der ARH beinhaltet eine hungervermittelnde (orexigene) Neuronenpopulation, sogenannte AgRP/NPY-Neurone, die sowohl das Neuropeptid *Agouti-related peptide* (AgRP) als auch das Neuropeptid Y (NPY) ausdrücken. In Abhängigkeit von Signalen aus der Peripherie, können diese Neurone die γ -Aminobuttersäure (GABA), AgRP und NPY ausschütten, um Signale an nachgeschaltete Zellen zu übertragen und/oder eine Verhaltensreaktion auszulösen. Da die Rolle dieser Neurotransmitter in der kontrollierten Regulation der Energiehomöostase jedoch weitestgehend unklar ist, haben wir die Funktion von NPY in diesem Prozess untersucht.

Um der Fragestellung nachzugehen, ob der NPY-Signalweg an den Effekten einer AgRP-Neuronen-Stimulation beteiligt ist, haben wir ein entsprechendes Mausmodell entwickelt: Mäuse mit einer konventionellen NPY-Defizienz, in denen spezifisch AgRP-Neurone durch exogene Stimulation aktiviert werden können. In Experimenten zur Verifizierung dieser Mauslinie konnten wir nachweisen, dass die NPY-Defizienz weder die Expression von AgRP noch die Aktivierbarkeit von AgRP-Neuronen, durch optogenetische Stimulation des ARH, beeinflusst.

Wir haben zeigen können, dass die Aktivierung von AgRP-Neuronen eine rapide Zunahme der Nahrungsaufnahme bewirkt, jedoch nur, wenn NPY wildtypisch ausgeprägt wird. In der Abwesenheit von NPY war die akute Futteraufnahme erheblich unterdrückt. Somit konnten wir nachweisen, dass die AgRP-stimulierte Anregung der Nahrungsaufnahme in Abhängigkeit von NPY erfolgt, während die Regulation längerfristiger Nahrungsaufnahme unabhängig des NPY Signalwegs verläuft. In Übereinstimmung mit diesen Befunden konnten wir belegen, dass der NPY Signalweg dann an der Regulation der akuten Nahrungsaufnahme beteiligt ist, wenn die endogene Aktivität von AgRP-Neuronen hoch ist, also im Hungerzustand. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass die optogenetische Stimulation des AgRP/NPY Systems die Entstehung einer Insulinresistenz bewirkt und den Energieverbrauch reguliert.

Einige der AgRP/NPY-Projektionszentren regulieren die Nahrungsaufnahme als Reaktion auf eine Stimulation von AgRP-Neuronen. Wir haben zwei dieser Areale untersucht: Den laterale Hypothalamus (LH) und den Nucleus striae terminalis (BNST). Wir konnten zeigen, dass der LH an der Regulation der akuten Nahrungsaufnahme beteiligt ist, wohingegen der BNST nicht nur die akute sondern auch die längerfristige Nahrungsaufnahme kontrolliert. Interessanterweise regulierten sowohl der LH als auch der BNST die Nahrungsaufnahme in Abhängigkeit von NPY. Außerdem konnten wir darlegen, dass lediglich der BNST, nicht aber der LH, die lokomotorische Aktivität der Mäuse kontrolliert.

Eine Zielsetzung war es NPY-Rezeptor-ausprägende Neurone zu identifizieren, welche NPY/AgRP Neuronen nachgeschaltet sind und die Nahrungsaufnahme regulieren. Die chemogenetische Inhibierung von NPY1 Rezeptor (NPY1R)-ausprägenden Neuronen im BNST führte zu einer tendenziell erhöhten Nahrungsaufnahme. Des Weiteren haben wir die Hypothese aufgestellt, dass spezifische Neuronen-Populationen zweiter Ordnung im BNST NPY1R-ausprägenden Neuronen nachgeschaltet sind und auf eine Stimulation von AgRP Neuronen reagieren. Diesbezüglich haben wir zeigen können, dass sowohl Corticotropin freisetzende Hormon (CRH)-, Neurotensin (Nts)-, als auch Prepronociceptin (Pnoc)-ausprägende Neurone, nicht aber Somatostatin (Sst)-ausprägende Neurone, im BNST durch die chemogenetische Stimulation von AgRP-Neuronen im ARH aktiviert werden. Wir konnten außerdem zeigen, dass CRH-ausprägende Neurone im BNST keinen Einfluss auf die Nahrungs- und Wasseraufnahme, den Respirationsquotienten, und die lokomotorische Aktivität der Mäuse haben. Nts-ausprägende Neurone im BNST hingegen regulieren die lokomotorische Aktivität der Mäuse, insbesondere unter Futterentzug. Die neuropeptiderge Population im BNST, die den Anstieg der Nahrungsaufnahme nach Aktivierung von AgRP-Neuronen vermittelt, gilt es in Folgestudien zu ermitteln.