

ABSTRACT

Neural circuits regulating energy homeostasis by modulating innate behaviors such as food intake are crucial for survival and are redundant, hardwired as they are shaped by selective pressure. Accumulated evidence suggests that the ventromedial nucleus of the hypothalamus (VMH) is a key central region that regulates diverse physiological processes to maintain energy homeostasis. The VMH shows functional heterogeneity and genes that have defined roles in controlling the glucose metabolism and energy homeostasis have differential and overlapping expression within the VMH. Neurons in the VMH are sensitive to the fluctuations in the blood glucose levels and are also direct targets for the peripheral metabolic hormones such as leptin and insulin. However, it is unclear how VMH circuits underlying innate responses develop and function, in part because VMH remains poorly defined at cellular and molecular level.

In this study, we evaluated the expression profiles of different neuronal subtypes in the VMH in the rostral-caudal axis at molecular level, and identified novel subpopulations of neurons which were previously undefined. Furthermore, the genetic tools to target these neuronal subpopulations in the VMH both in vivo and in vitro, were developed to qualitatively and quantitatively assess the mechanistic roles of VMH neurons in mediating diverse physiological processes. Using the 'Dre-Cre sequential recombination' method, the activity responses of leptin receptor expressing SF1 neurons in the VMH were recorded using perforated patch clamp technique. In addition to the existing tools, a new mouse model which expresses the Dre recombinase in the endogenous Sf1 gene locus, that allows efficient targeting of VMHSF1 neurons was generated through ES-cell mediated knock-in strategy.

In summary, this study contributes to address one of the major concerns in the field of obesity research, by investigating the neuronal heterogeneity of the VMH at molecular level and by providing the necessary tools to evaluate the functional roles of the key neuronal subpopulations, to further broaden our understanding of the neuronal control energy homeostasis and glucose metabolism.

Z USAMMENFASSUNG

Energiehomöostase regulierende neuronale Netzwerke sind durch den Selektionsdruck redundant ausgeprägt. Immer mehr Daten zeigen, dass der ventromediale Nukleus des Hypothalamus (VMH) eine Schlüsselrolle in der Regulation des Energiestoffwechsels spielt. Der VMH weist eine funktionale Heterogenität auf. Markergene für Glukosestoffwechsel und Energiehomöostase zeigen teilweise distinkte und teilweise überlappende Expression in den verschiedenen Neuronen des VMH. Bekannt ist, dass die VMH Neuronen auf schwankenden Blutglukosekonzentrationen aber auch auf metabolische Hormone wie Leptin und Insulin reagieren können. Weiterhin unklar ist, wie genau neuronalen Netzwerke des VMH funktionieren und physiologische Prozesse regulieren. Dies liegt vor allem daran, dass der VMH auf zellulärer und molekularer Ebene bisher sehr wenig untersucht wurde.

In der vorliegenden Arbeit, wurden die Expressionsprofile verschiedener neuronaler VMH Subtypen auf molekularer Ebene charakterisiert. Dabei wurden neue und bisher unbekannte Subpopulationen entdeckt und beschrieben. Darüber hinaus wurden genetische Tools entwickelt, die es erlauben, sowohl in vivo als auch in vitro qualitative und quantitative Aussagen über die mechanistische Rolle des VMH auf physiologische Prozesse zu untersuchen. Durch die Verwendung der sequentieller Dre-Cre-Rekombinations Technik konnte die neuronale Aktivität der Leptin Rezeptor und Steroidogenic Factor 1 (SF1) exprimierenden Zellen des VMH aufgenommen werden. Dazu wurde die perforated patch clamp Technik genutzt. Als Ergänzung zu den bereits bestehenden Genetischen Tools, wurde ein neues Maus Modell erzeugt, in dem die Dre Rekombinase Sequenz in den endogenen Locus des Sf1 Gens eingebracht wurde. Diese Knock-In Strategie wurde durch die gezielte Manipulation und Selektion embryonaler Stammzellen verwirklicht.

Zusammenfassend liefert diese Arbeit neue Einblicke in die Heterogenität des VMH auf molekularer Ebene. Außerdem beschreibt sie neue Tools, die notwendig sind um die funktionelle Rolle der VMH Neuronen zu untersuchen. Damit ist sie ein wichtiger Bestandteil, um die Rolle der so zentralen Population der VMH Neuronen besser zu verstehen und in Zukunft weiter auf ihre Rolle in Energiehomöostase und Glukosestoffwechsel hin zu untersuchen.