

# Summary

In this study we aimed to anatomically and functionally investigate peripheral sensory neurons in metabolic control by using a novel, dual recombinase intersectional targeting approach. Expression of the histological marker tdTomato allowed for characterization of the innervation patterns of several subpopulations of vagal and spinal afferents. Moreover, we expressed the chemogenetic activating and inhibiting receptors hM3Dq and hM4Di in two non-overlapping subpopulations of gut-innervating vagal afferents and broadly probed their role in the regulation of feeding behavior and glucose metabolism. We found that molecularly distinct vagal afferents that selectively express either GLP1R or GPR65 do not only show different peripheral innervation of GI organs, but also have distinct, or even opposing functions in the control of feeding behavior and glucose metabolism.

GLP1R vagal afferents primarily innervate muscular layers of the upper GI tract, and their chemogenetic activation reduces food intake. Further, they are necessary to transmit the full effects of the anorexigenic agents LiCl and CCK. Accordingly, chemogenetic activation of GLP1R vagal afferents engages aversive IPBN CGRP circuits. In addition, GLP1R vagal afferents are glucoregulatory, as their activation reduces BG levels and improves glucose clearing in GTTs. Euglycemic-hyperinsulinemic clamps revealed that this effect is – at least in part – mediated by an improved insulin sensitivity in skeletal muscle tissue. Inhibition of GLP1R vagal afferents moderately impairs glucose tolerance in HFD-fed mice indicating that they are sufficient and necessary to regulate glucose metabolism.

The anorexigenic and glucoregulatory functions of GLP1R vagal afferent activation are widely preserved in response to 8-15 weeks of HFD feeding. As GLP1R vagal afferent inhibition significantly increased feeding behavior exclusively in HFD-fed animals, they are, however, potentially involved in the progression of obesity. The physiological mechanisms of

the orexigenic effect of GLP1R vagal afferent inhibition in HFD-fed mice remain to be determined by future studies.

GPR65 vagal afferents, on the other hand, densely innervate the duodenal mucosa, yet, they are dispensable for the regulation of feeding behavior in response to a normal chow diet (NCD). We revealed, however, that they bidirectionally regulate feeding behavior dependent on nutritional state following an obesogenic diet. Activation of GPR65 vagal afferents reduced food intake during the night cycle, while it increases daytime feeding following an overnight fast exclusively in HFD-fed mice. Furthermore, and in contrast to GLP1R vagal afferents, their inhibition reduced food intake in calorically-deprived mice, showing their sufficiency and necessity particularly in HFD feeding conditions. Future studies will determine the precise mechanism underlying the observed metabolic changes following GPR65 vagal afferent activation during HFD exposure.

In summary, our results show cell type specific metabolic phenotypes in response to chemogenetic modulation of distinct vagal afferents, that can be partly modulated by HFD-feeding. Our studies further emphasize the importance of cell-type specific interrogation of vagal gut to brain communication in metabolic control.

## Zusammenfassung

Die Kommunikation zwischen Organen des Gastrointestinaltrakts und des Gehirns ist entscheidend für die Regulation der Nahrungsaufnahme und des Glukosestoffwechsels. Der afferente Anteil des Vagusnervs nimmt dabei eine tragende Rolle ein, da er Signale von Magen und Dünndarm unmittelbar zu Gehirnarealen leitet, welche sowohl für die kurzfristige Regulation des Essverhaltens, als auch für längerfristige Adaption des Energiestoffwechsels bedeutsam sind. Dies beeinflusst somit nicht nur das Essverhalten unter physiologischen Bedingungen, sondern könnte auch für die Entstehung und den Progress von Stoffwechselerkrankungen wie Adipostas und Diabetes bedeutsam sein.

In dieser Studie nutzen wir ein dreifach transgenes Mausmodell, welche es uns erlaubt unterschiedliche vagale afferente Subtypen anhand ihrer Rezeptorausprägung zu untersuchen. Dabei konnten wir erstmals die Wirkung einer artifiziellen Modulation von zwei sich gegenseitig ausschließenden Neuronenpopulationen des afferenten Vagusnervs, welche durch die selektive Expression der GLP1 Rezeptors, oder der GPR65 charakterisiert sind, in der Regulation des Glukosestoffwechsels und des Essverhaltens aufzeigen. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass GLP1R vagale Afferenzen eine regulatorische Auswirkung auf Glukosestoffwechsel und Nahrungsaufnahme haben, während GPR65 vagale Afferenzen die Glukoneogenese in der Leber stimulieren. Dies geschieht über unterschiedliche Schaltkreise im Gehirn. Weiterhin hat eine hochkalorische, stark fetthaltige Nahrung unterschiedliche Effekte auf die Regulation der Nahrungsaufnahme durch die von uns untersuchten afferenten Subtypen und verändert deren Rolle in der Steuerung des Essverhaltens. Während GPR65 vagale Afferenzen unter physiologischen Bedingungen keine Rolle in der akuten Nahrungsaufnahme spielen, wirkt eine stark fetthaltige Nahrung modulierend auf deren Funktion, so dass diese eine stärkere Bedeutung in der Regulation der Energie- und Glukosehomöostase gewinnen. GLP1R vagale Afferenzen gewinnen unter dem Einfluss einer stark fetthaltigen Nahrung hingegen an Bedeutung für das Sättigungsverhalten. Dies deutet darauf hin, dass die Funktionen vagaler Afferenzen je nach Subtyp unterschiedlich stark durch eine hochkalorische Nahrung beeinflusst werden und somit vermutlich unterschiedliche Rollen während der Entstehung und des Verlaufs von Adipositas und Diabetes einnehmen.