

Weaning-induced alterations on neuropeptidergic populations of the rat hypothalamus

Citation for published version (APA):

Diniz, G. B. (2018). *Weaning-induced alterations on neuropeptidergic populations of the rat hypothalamus*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20181218gd>

Document status and date:

Published: 01/01/2018

DOI:

[10.26481/dis.20181218gd](https://doi.org/10.26481/dis.20181218gd)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 13 Aug. 2024

Appendix A

Summary [English]

Summary [English]

Lactation, one of the defining characteristics of the *Mammalia* phylum, is an effective reproductive strategy that maximizes the survival of the litter at the expense of the mother own energy reserves. To achieve that, the dam physiology undergoes several transformations that will maximize her energy acquisition and storage. To organize those adaptations, the brain also undergoes several modifications. Once the pups transition to a solid-diet independent from the mother, weaning starts and the dam physiology must be restored to pre-gestational levels to allow a new reproductive cycle to start. Little is understood about how the brain copes with those changes and the return to normal physiology, with potential negative effects resulting from an incomplete process. In light of those facts, we proposed with this work to investigate the influence of the suckling stimulus on the lateral hypothalamus during weaning, with special attention to the melanin-concentrating hormone (MCH) and orexin (ORX) populations, two neuropeptidergic populations that have been implicated in several essential physiological and behavioral processes.

In **Chapter 1**, a more extensive introduction about the parental brain and the importance of the MCH and ORX populations is presented to the reader. In **Chapter 2**, we review the major morphological aspects of the MCH system, including all peptides synthesized from the MCH precursor, and its receptors. The neuroanatomy of the system is evaluated in depth, including detailed descriptions of the immunoreactive cell bodies, fibers and receptors in the mammalian brain, and the need for studies in new animal models is highlighted. In **Chapter 3** we review the major functions associated to MCH and the underlying connectivity. We propose in this review that most MCH functions can be understood as a single process: the maintenance of the homeostatic baseline by MCH, which works as a dampener to prevent possibly deleterious fluctuations in metabolic parameters.

In **Chapter 4**, we investigate the effect of litter size on the MPOA population of MCH neurons. To that end, mothers were separated in two groups according to the size of their naturally-occurring litter and the number of MCH-immunoreactive neurons was evaluated at mid-lactation, early weaning and late weaning. Our results show that the number of immunoreactive neurons in the MPOA was directly correlated to the size of the litter at all time points studied. Considering the available literature, our results seem to suggest that MCH synthesis in the MPOA works as a counterweight to the maternal-inducing stimulus of the pups. Artificial culling of the litter after birth revealed that this effect has both a pre- and a post-partum component.

In **Chapter 5**, we investigate the acute effects of the suckling stimulus on the activation of MCH neurons in the whole hypothalamus of weaning rat dams. To suppress the suckling stimulus, a group of pups had their vibrissae pads anesthetized and were allowed to return to the home cage. The brain of the dams was then examined for the presence of the Fos protein in addition to MCH immunoreactivity. Although widespread Fos immunoreactivity was found in the hypothalamus of the weaning dams, there was no colocalization between that marker and MCH, indicating that the acute suckling stimulus cannot alone recruit the MCH peptidergic system. Furthermore, we found no alteration in the number of MCH neurons in the MPOA linked to the short-term pup stimulus.

In **Chapter 6**, we investigate if the Fos immunoreactivity found in the tuberal hypothalamus of weaning dams was indicative of the recruitment of the orexin neuronal population present in this area. Three-dimensional reconstructions were employed to answer that question. We found a small but well-

defined population of ORX-immunoreactive neurons in the dorsomedial tuberal hypothalamus of the weaning dam that was activated by the suckling stimulus. In addition to this dorsomedial population, we discovered that the weaning period resulted in a reduction in the number of ORX-immunoreactive neurons in the anterior sector of the tuberal hypothalamus, and that reduction was perturbed by the loss of suckling stimulus. Considering the role of the medial ORX neurons to environmental awareness and attention, our results suggest that the weaning period is necessary to normalize the action of ORX neurons, and the lack of sensorial stimulation from the pups can potentially have deleterious effects. Altogether, our results show a remarkable heterogeneity among ORX-immunoreactive neurons of the tuberal hypothalamus. In **Chapter 7**, we discuss the main results found in the aforementioned works, with a focus on the perspectives in the field.

In summary, our results demonstrate the intense activity that the brain undergoes during the weaning period. In the medial preoptic area, the number of MCH neurons that appear in the last two thirds of the lactation period is influenced by the number of pups. In the tuberal hypothalamus, a subset of ORX neurons is stimulated by the tactile stimulus of the pups, at the same time that part of the ORX population recedes. All those changes take place in neuropeptidergic populations widely implicated in essential physiological and behavioral processes, further strengthening the notion that further attention should be paid to the brain alterations that occur in the weaning brain and the repercussions those alterations may have to the mother's health.

Appendix B

Summary [Dutch]

Summary [Dutch]

Melkafscheiding, een van de bepalende kenmerken van het fylum Mammalia, is een effectieve reproductiestrategie die het voortbestaan van het nest maximaliseert ten koste van de eigen energiereserves van de moeder. Om dit te bereiken, ondergaat de fysiologie van de moeder verschillende transformaties die haar energie-acquisitie en opslag maximaliseren. Om die aanpassingen te organiseren, ondergaat het brein ook verschillende aanpassingen. Zodra de jongen overgaan op een vast dieet onafhankelijk van de moeder, begint het spenen en moet de moederfysiologie worden hersteld tot het niveau van vóór de zwangerschap om een nieuwe voortplantingscyclus te starten. Er is weinig bekend over hoe het brein omgaat met die veranderingen en de terugkeer naar de normale fysiologie, met mogelijke negatieve effecten als gevolg van een onvolledig proces. In het licht van deze feiten, hebben we met dit onderzoek voorgesteld om de invloed van de zuigstimulus op de laterale hypothalamus tijdens het spenen te onderzoeken, met speciale aandacht voor de melanine-concentrerende hormoon (MCH) en orexin (ORX) populaties, twee neuropeptidergische populaties die betrokken geweest bij verschillende essentiële fysiologische en gedragsprocessen.

In **Hoofdstuk 1** wordt een uitgebreidere inleiding over het ouderlijk brein en het belang van de MCH- en ORX-populaties aan de lezer gepresenteerd. In **Hoofdstuk 2** bespreken we de belangrijkste morfologische aspecten van het MCH-systeem, inclusief alle peptiden gesynthetiseerd uit de MCH-precursor en zijn receptoren. De neuroanatomie van het systeem wordt diepgaand geëvalueerd, inclusief gedetailleerde beschrijvingen van de immunoreactieve cellichamen, vezels en receptoren in de hersenen van zoogdieren, en de behoefte aan studies in nieuwe diermodellen wordt benadrukt. In **Hoofdstuk 3** bespreken we de belangrijkste functies die horen bij MCH en de onderliggende connectiviteit. We stellen in deze recensie voor dat de meeste MCH-functies kunnen worden begrepen als één enkel proces: het onderhouden van de homeostatische basislijn door MCH, dat werkt als een demper om mogelijke schadelijke fluctuaties in metabole parameters te voorkomen.

In **Hoofdstuk 4** onderzoeken we het effect van worpgrootte op de MPOA-populatie van MCH-neuronen. Daartoe werden moeders in twee groepen gescheiden op basis van de grootte van hun in de natuur voorkomende nest en het aantal MCH-immunoreactieve neuronen werd geëvalueerd halverwege de lactatie, vroeg spenen en laat spenen. Onze resultaten laten zien dat het aantal immunoreactieve neuronen in de MPOA op alle onderzochte tijdstippen direct verband hield met de grootte van het nest. Gezien de beschikbare literatuur lijken onze resultaten erop te wijzen dat de MCH-synthese in de MPOA werkt als een tegengewicht voor de moederinducerende stimulus van de jongen. Het kunstmatig ruimen van het nest na de geboorte onthulde dat dit effect zowel een pre- als een post-partumcomponent heeft.

In **Hoofdstuk 5** onderzoeken we de acuut effecten van de zuigstimulus op de activatie van MCH-neuronen in de hele hypothalamus van speendammen. Om de zuigstimulus te onderdrukken, liet een groep jongen hun snoet verdoven en mochten ze terugkeren naar de kooi. De hersenen van de moederdieren werden vervolgens onderzocht op de aanwezigheid van het Fos-eiwit naast de immunoreactiviteit van MCH. Hoewel wijdverspreide immunoseactiviteit van Fos werd gevonden in de hypothalamus van de speendammen, was er geen colocalisatie tussen die marker en MCH, wat aangeeft dat de acute zuigstimulus niet alleen het MCH peptidergische systeem kan aanwerven. Verder vonden

we geen verandering in het aantal MCH-neuronen in de MPOA gekoppeld aan de korte-termijn-pupenstimulus.

In **Hoofdstuk 6** onderzoeken we of de immunoreactiviteit van Fos gevonden in de tuberale hypothalamus van speendammen indicatief was voor de rekrutering van de orexine neuronale populatie die aanwezig is in dit gebied. Driedimensionale reconstructies werden gebruikt om die vraag te beantwoorden. We vonden een kleine maar goed gedefinieerde populatie van ORX-immunoreactieve neuronen in de dorsomediale tuberale hypothalamus van de speendam die werd geactiveerd door de zuigstimulus. Naast deze dorsomediale populatie, ontdekten we dat de speenperiode resulteerde in een vermindering van het aantal ORX-immunoreactieve neuronen in de anterieure sector van de tuberale hypothalamus, en die vermindering werd verstoord door het verlies van zuigstimulus. Gezien de rol van de mediale ORX-neuronen voor het milieubewustzijn en de aandacht suggereren onze resultaten dat de speenperiode nodig is om de werking van ORX-neuronen te normaliseren, en het gebrek aan sensorische stimulatie van de pups kan mogelijk schadelijke effecten hebben. Al met al laten onze resultaten een opmerkelijke heterogeniteit zien tussen ORX-immunoreactieve neuronen van de tuberale hypothalamus. In **Hoofdstuk 7** bespreken we de belangrijkste resultaten in de bovengenoemde werken, met een focus op de perspectieven in het veld.

Samengevat tonen onze resultaten de intense activiteit aan die de hersenen ondergaan tijdens de speenperiode. In het mediale preoptische gebied wordt het aantal MCH-neuronen dat in de laatste twee derde van de lactatieperiode voorkomt, beïnvloed door het aantal jongen. In de tuberale hypothalamus wordt een subset van ORX-neuronen gestimuleerd door de tactiele stimulus van de jongen, op hetzelfde moment dat een deel van de ORX-populatie terugvalt. Al deze veranderingen vinden plaats in neuropeptidergroepen die op grote schaal betrokken zijn bij essentiële fysiologische en gedragsprocessen, wat het idee versterkt dat er verdere aandacht moet worden besteed aan de hersenveranderingen die optreden in het speenbrein en de gevolgen die deze veranderingen kunnen hebben voor de gezondheid van de moeder.