

# Melanocortin System Neuromodulation of Olfactory Circuits and Behaviour

## Abstract

Sensory inputs from the environment dynamically guide animal behaviour towards adaptive actions. Foraging is a crucial behaviour for survival, guided strongly by olfactory inputs. Internal energy state influence on olfactory sensitivity gives an energy state-dependent advantage that enhances chances of locating food. Melanocortin system, a key upstream neuromodulatory mechanism of energy homeostasis, was never directly linked with olfactory systems in literature until this work. This project focused on elucidating the top-down link between melanocortin and olfactory systems using the zebrafish model. We have shown that these systems are neuroanatomically linked on multiple olfactory-processing levels (Dp, and OBs), already established in juvenile stage, developmentally strengthening into adulthood. *Ex vivo* calcium imaging in juvenile Dp showed that the fasting baseline state already recruits more food-associated odour-inhibited neurons, and that antagonism of mc4r in the fed-state recruits larger neuronal population of Dp which decrease food-associated odour-responses. Agonism of mc4r in the fasted-state was unable to reverse food-associated odour-response effects of the baseline fasting state. Mc4r antagonism in the fed-state *in vivo* reproduced the higher food-associated odour-preference observed in fasted juveniles. Pharmacological manipulation of CNS mc4r in adults could not induce or reverse the higher food-associated odour-preference observed in fasted adult zebrafish. Together, these findings suggest a state-dependent and neurodevelopmentally plastic control of the melanocortin system over olfactory circuits and behaviour. In juveniles, fed-state effects can be pharmacologically tuned towards the fasted-state; while the fasted-state cannot be reversed, suggesting a ceiling effect of melanocortin neuromodulation favouring inhibitory gain. In adults, neither fasted- nor fed-state effects can be shifted with CNS pharmacological manipulations. This argues against the food-associated odour-processing involvement of the consolidated neuroarchitecture, and perhaps hints at a shifted neuromodulatory role in odour-processing of other ethologically- and age-relevant olfactory cues.

## Zusammenfassung

Sensorische Informationen aus der Umwelt steuern tierisches Verhalten fortlaufend und richten es auf adaptive Handlungen aus. Für das Überleben ist Nahrungssuche zentral, und sie wird maßgeblich durch olfaktorische Signale geleitet. Der innere Energiezustand beeinflusst die Empfindlichkeit des Geruchssystems und verschafft damit einen zustandsabhängigen Vorteil bei der Nahrungssuche. Das melanocortinerge System, ein wesentliches neuromodulatorisches Steuersystem der Energiehomöostase, war bislang jedoch nicht direkt mit olfaktorischen Prozessen verknüpft. Diese Arbeit untersucht diesen bislang fehlenden top-down-Zusammenhang anhand des Zebrafischmodells.

Wir zeigen, dass beide Systeme auf mehreren Ebenen der olfaktorischen Verarbeitung – im Dp und in den Riechkolben – neuroanatomisch miteinander verbunden sind. Diese Verbindung ist bereits im Juvenilstadium ausgeprägt und verstärkt sich während der Entwicklung bis ins Erwachsenenalter. *Ex-vivo* Calcium Imaging des juvenilen Dp zeigen, dass bereits während der Grundaktivität im Fastenzustand mehr durch Nahrungsgeruch gehemmte Neurone rekrutiert werden. Zudem führt ein Antagonist von mc4r im gesättigten Zustand zu einer größeren Population von Dp-Neuronen, die abgeschwächt auf Nahrungsgeruch reagieren. Aktivierung von mc4r durch Agonisten im gefasteten Zustand konnte die geruchsspezifischen Effekte des Ausgangszustands hingegen nicht umkehren.

In vivo ließ sich das erhöhte Nahrungsgeruch-Präferenzverhalten juveniler gefasteter Tiere durch Antagonisten von mc4r im gesättigten Zustand nachbilden. In adulten Zebrafischen konnten pharmakologische Eingriffe in mc4r-Signale im ZNS jedoch die stärkeren Geruchspräferenz, die in gefasteten Fischen beobachtet wurde, weder induzieren noch reversieren. Zusammengenommen deuten die Befunde auf eine zustandsabhängige und entwicklungssensible Kontrolle des melanocortinergen Systems über olfaktorische Schaltkreise und das damit verbundene Verhalten hin.

Bei Jungtieren können die Effekte des gefütterten Zustands pharmakologisch in Richtung des Fastenzustands verschoben werden. Der Fastenzustand kann jedoch nicht umgekehrt werden, was auf einen Deckeneffekt der Melanocortin-Neuromodulation hindeutet, der eine inhibitorische Verstärkung begünstigt. Bei Erwachsenen können weder die Auswirkungen des gefasteten Zustands noch die des

gefütterten Zustands durch pharmakologische Manipulationen des Zentralnervensystems verschoben werden. Dies spricht gegen eine Beteiligung der konsolidierten Neuroarchitektur an der Verarbeitung von Gerüchen im Zusammenhang mit Nahrung und weist möglicherweise auf eine verschobene neuromodulatorische Rolle bei der Geruchsverarbeitung anderer ethologisch und altersrelevanter Geruchsreize hin.