

<b>Zuwendungsempfänger:</b>	Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Prof. Dr. Wolfgang Kelsch
<b>Förderkennzeichen:</b>	<b>01GQ1708</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b>	Computationale und experimentelle Untersuchungen zustandsabhängiger Kodierung im olfaktorischen System
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b>	01.03.2018 - 28.02.2021, Laufzeitverlängerung bis 31.3.2024

## Schlussbericht Nr. I

### Kurze Darstellung zu

#### 1. Aufgabenstellung,

Beim beantragten Projekt handelte es sich um Grundlagenforschung. Wissenschaftliches Arbeitsziel war es aufzuklären, durch welche Mechanismen kortikale Top-down Kontrolle in einer neuronalen Feedbackschleife wirkt, um effiziente Informationsextraktion und sensorische Wiedererkennung generell und insbesondere sozialer Interaktionspartner zu ermöglichen:

Das hier beschriebene Arbeitsprogramm konzentriert sich im Wesentlichen auf den experimentellen Teil, der im deutschen Partnerlabor durchgeführt wird, verknüpft diese aber mit der tatsächlich stattfindenden streng interaktiven Zusammenarbeit mit der Modellbildung durch Prof. Linster. Die detaillierte Interaktion ist im ursprünglichen Antrag ausführlich beschrieben. Die Arbeitsziele ergaben sich aus drei spezifischen Hypothesen, die experimentell getestet und iterativ modelliert werden:

*Teil #1* testete die Hypothese, dass Oxytocin die zustandsabhängige Kodierung des Riechkolbens beeinflusst, um das Signal-zu-Rauschen-Verhalten zu optimieren und dadurch zu einer Stärkung der Geruchswiedererkennung durch Plastizitätsinduktion führt. Hierzu wurden wir Ableitungen in wachen Mäusen durchführen, die einerseits neuronale Oszillationen als auch das Feuerverhalten der Nervenzellpopulationen im Riechkolben und den anhängigen Kortices untersucht. Auswirkungen auf die Plastizität im Netzwerk, die der sozialen Wiedererkennung dienen könnte, wurden durch Manipulationen untersucht.

*Teil #2:* Hier war geplant eine Reihe zellulärer Mechanismen zu testen, die der Zunahme des Signal-zu-Rauschens durch Oxytozin zugrunde liegen könnten.

*Teil #3:* Hier wurde die Hypothese untersucht, dass die Feedbackschleife zwischen Riechkolben und olfaktorischen Kortex die neuronale Netzwerkaktivität beider Areale wechselseitig beeinflusst und eine wichtige Komponente in der Kodierung und Abruf von Geruchsmustern nach Oxytozin induzierter Plastizität ist. Diese Untersuchungen erfolgen mittels Ableitungen in beiden Hirnarealen, die klären sollen, ob das kortikale Netzwerk, anstatt nur die Aktivität im Riechkolben zu bestimmen, integraler Bestandteil eines größeren sich wechselseitig beeinflussenden Netzwerkes im Zusammenhang sozialer Wiedererkennung ist.

#### 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Vorhaben wurde als binationales BMBF-NSF Projektes im Rahmen des CRCNS Programmes mit den Projektpartnern Prof. Christiane Linster von der Cornell University, Ithaka, NY, USA, die sich für den

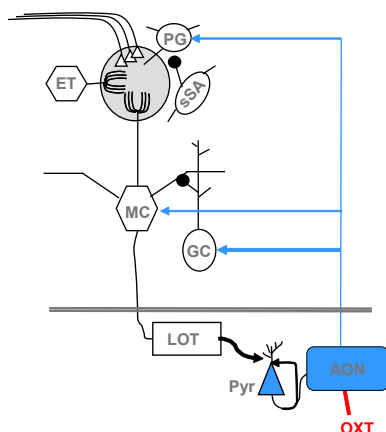
computationalen Teil verantwortlich zeichnete und Prof. Wolfgang Kelsch vom Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Universität Heidelberg, Mannheim als experimenteller Partner durchgeführt.

### 3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Vorhaben war in binationaler Zusammenarbeit mit dem computationalen USA Partner Prof. Linster geplant, der basierend auf unseren experimentellen Ergebnissen Modellierungen und damit verbundenen Hypothesen generierend umgesetzt wurde. Diese Hypothesen wurden in die laufenden Arbeitspakete eingearbeitet. Es erfolgten wie geplant regelmäßige Arbeitstreffen, Ausrichtung zweier Symposien auf internationalen Konferenzen, Teilnahme und Vortrag auf dem CRCNS Meeting, die Publikation von aus dem Vorhaben hervorgegangener Originalpublikationen und schließlich auf deutscher Seite die Entwicklung eines computationalen Schwerpunktes

### 4. wissenschaftlichem und technischem Stand, an den angeknüpft wurde

Zustandsänderungen in Hirnnetzwerken, die durch bestimmte Situationen ausgelöst werden, führen zur Modulation neuronaler Prozesse über viele Hirnareale hinweg. Die meisten Neuromodulatoren wie Serotonin, Acetylcholin oder Noradrenalin werden jedoch in vielen Situationen ausgeschüttet und die Abgrenzung zu einzelnen Verhalten ist häufig nicht möglich. Demgegenüber ist das Neurohormon Oxytozin klar mit bestimmten Situationen wie sozialer Interaktion assoziiert, hat gleichzeitig aber analoge Effekte zu anderen Neuromodulatoren. Wie im Projektantrag dargestellt werden wir Oxytozin als Beispielsubstanz für neuronale Zustandsänderungen und deren Computationen nutzen, was experimentelle Vorteile in der Deduktion generalisierbarer Prinzipien hat: (1) Oxytozin wird in spezifischen Verhaltenssituationen ausgeschüttet, (2) deren sensorische (olfaktorische) Stimuli bekannt sind. Im auditorischen Kortex beispielsweise bewirkt Oxytozin eine Änderung der Balance zwischen Erregung und Hemmung und Synchronisation im neuronalen Feuern, was möglicherweise die Verarbeitung der Rufe Neugeborener bei der Mutter beeinflusst.



**Abbildung 1. Oxytozin (OXT) erhöht die Erregbarkeit kortikaler Neurone (AON) und verstärkt hierdurch die Top-down Erregung auf den Riechkolben. Diese Top-down Eingänge modulieren die Signalprozessierung im Riechkolben, die dann wiederum die kortikale Aktivität im Sinne einer Feedbackschleife ändert.** Vorwärtsprojektionen (MC) aus dem Riechkolben innervieren kortikale Pyramidenzellen, deren Feedbackprojektionen dann wiederum im Riechkolben Körnerzellneurone (GC) als auch andere Interneurone in oberflächlichen Schichten (z.B. PG, ET, sSA) innervieren.

Sensorische Signalverarbeitung wird durch das Wechselspiel zweier Prinzipien im Informationsfluss bewirkt. Bottom-up und Top-down Informationsfluss. Bottom-up bedeutet der Fluss von Information von periphereren zu höheren Hirnarealen, wobei auf jeder Studie Eigenschaften der Stimuli extrahiert werden. Diese Bottom-up Prozesse werden durch extensive Feedbackschleifen („Top-down“) von höheren in frühere Hirnareale moduliert. Im olfaktorischen System modulieren ebensolche Top-down Mechanismen die olfaktorische Prozessierung und deren Läsionierung beeinträchtigt Lernvorgänge. Limitierte Einsichten bestehen jedoch zu den neuronalen Mechanismen, die diesen olfaktorischen

Feedbackschleifen zugrunde liegen. Wir haben in einer 2016 erschienenen Studie erstmals zeigen können, dass diese Feedbackschleife vom Kortex zum Riechkolben für die Ausbildung einer spezifischen olfaktorischen Erinnerung erforderlich ist. Diese Verbindung zwischen Feedbackschleife sensorischer Signalextraktion und Erinnerung bildet die Grundlage für den hier verfolgten neuartigen Ansatz.

#### **5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen.**

Über die geplante Zusammenarbeit mit Prof. Linster hinaus ergaben sich im Projektverlauf Kooperationen für zusätzliche Fragestellungen, die aus den Befunden hervorgingen mit Prof. Gudrun Rappold (U. Heidelberg), Prof. Valery Grinevich und Dr. Weber-Fahr (ZI Mannheim), die in projektrelevante Publikationen einfließen (Eltokhi et al., 2021, Winkelmeier et al., 2022, Wolf et al., 2024).

Mannheim, den 13. August 2024

Prof. Dr. Wolfgang Kelsch

<b>Zuwendungsempfänger:</b>	Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Prof. Dr. Wolfgang Kelsch
<b>Förderkennzeichen:</b>	01GQ1708
<b>Vorhabensbezeichnung:</b>	Computationale und experimentelle Untersuchungen zustandsabhängiger Kodierung im olfaktorischen System
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b>	01.03.2018 - 28.02.2021, Laufzeitverlängerung bis 31.3.2024

## Schlussbericht Nr. II

### II. Eingehende Darstellung

#### 1. der Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Für **Teil 1** des Arbeitsplanes wurden die Arbeitspakete erfüllt. Diese ergaben aber zusätzliche Fragen und machten klar, dass die Untersuchung der endogenen Oxytozinausschüttung kritisch ist. Diese Experimente sind durchgeführt und analysiert (Wolf et al., 2024a). Dem vorausgegangen waren eine Reihe weiterer Analysen zur Identitätskodierung in den erlernten Populationsantworten im Kortex sowie einige weiterführende Analysen für das Manuskript. Die Modellierung der Daten durch unsere Projektpartnerin Prof. Linster an der Cornell U. zeigt sich als recht komplex bezüglich der auch experimentell beobachteten Dissoziation zwischen lokalen und interregionalen Spike-LFP-Kopplung während des Lernens. Wesentliches Ergebnis ist, dass das auch ursprünglich als Habituation angenommene Lernen (cf. Diskussion auch in der hypothesengenerierenden Modellierung in Linster und Kelsch (2019) sowie im Übersichtsartikel Oettl und Kelsch (2018) sich nun in den experimentellen Daten als potenzierendes oder, anders formuliert, als Verstärkungslernen in einem verzweigten Netzwerk aus AON, posterior piriformen Kortex und VTA zeigt (Wolf et al. 2024a). Eine abschließende Klärung des Phänomens mit erneuter, zum Projektabschluss noch laufender, Modellierung durch Prof. Linster wird den Output des Projektes zusätzlich stärken.

In **Teil 2** bestätigten Experimente die zuvor in Ratten gestellten Befunde. Hier zeigten sich keine wesentlichen neuen Einsichten ggü. unseren Vorbefunden (Oettl et al., 2016 Neuron), so dass wir diesen Teil 2020 nach vollständiger Analyse abschlossen und uns auf die vielversprechenden Teile 1 und 3 des Antrages fokussierten.

In **Teil 3** haben wir eine Reihe relevanter neuer Befunde, die nicht nur für die akuten Effekte, sondern auch für Plastizität relevant sind. Es erfolgte eine Reihe weiterer Experimente mittels selektivem Labeling der Top-down Projektionen aus AON und anteriorem piriformen Cortex (aPC). Die Axonterminalien aus dem AON im Bulbus reflektierten (GCamp7/Fiberphotometrie) wie erwartet das soziale Erinnern (stärkere Antwort auf das bekannte Tier). Überraschend war jedoch, dass die aPC Projektionen in der Antwort inhibiert werden. Dies zeigt sich auch, wenn die jeweiligen AON->aPC oder aPC->AON Projektionen untersucht werden. Dieses inverse Muster generalisiert auf nicht-soziale Düfte. Dies ist überraschend und wird gerade zusammen mit einer Reihe aus dem Projekt hervorgegangener Daten zur Publikation vorbereitet. Hier wurden im Begutachtungsprozess weitere Experimente im Laufe des Jahres 2023 durchgeführt (Wolf et al., 2024b). Weiterhin erfolgten Studien, die dazu beitragen, besser die Mechanismen der bulbären Inhibition und deren Modulation durch Top-down-Einflüsse zu verstehen. Einerseits konnte wir in transgenen Mäusen, in denen die Stärke glutamaterger Transmission bidirektional im OB-AON Loop verändert war und entweder mit einem

Autismusphänotyp bzw. hypersozialem Verhalten einherging, dass diese prädierte bidirektionale Signal-zu-Rauschen Veränderungen (Eltokhi et al., 2021) wie in Oettl et al. (2016) für die Oxytocin-Modulation beschrieben. Davon ausgehend untersuchten wir eine weitere Mutante, in der in Mitralzellen die Reifung der Hemmung beeinträchtigt war. Dies führte dazu, dass im MOB-AON loop chemical similarity coding auf der Ebene des Mitralzellnetzwerkes gestört war, was im AON zum Verlust der generellen Diskriminationsfähigkeit führte (Wolf et al., 2024c). Diese Arbeiten fließen in aktuell im Abschluss befindliche Modellierungen in einem iterativen Prozess mit Prof. Linster ein.

## 2. der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

### Personalmittel Übersicht:

Pos.	Bewilligung	Zum Projektabschluss
812	141.510,07 €	131.312,71 €
817	99.237,79 €	99.237,79 €
822	38.786,84 €	28.453,11 €

**Ad Pos. 812:** 2019-2021 wurden zur Bearbeitung der einzelnen Arbeitspakete projektspezifisch wissenschaftliche Mitarbeiter, die am besten für die jeweilige Aufgabe eingesetzt (Scheller, Filosa, Winkelmeier, Hartig, Filosa, Bram), so dass die Ziele erreicht werden konnten (s. oben). Dies wurde in entsprechenden beantragten Umwidmungen in den Einzeljahren genehmigt und hat die Bearbeitung der Arbeitsziele in diesem Zeitraum ermöglicht bei Nutzung der jeweiligen Expertise.

**Ad Pos. 817:** Als kritisch für den Projekterfolg war die Umwidmung und vollzeitige Mitarbeit einer TA (Löb geb. Huber), die die Ableiteimplantate baute, was aufgrund der anatomischen Konfiguration erforderlich war, um die, wie sich zeigte, erforderlichen Anzahlen an Neuronen zu erhalten. Ferner war bis 2021 keine zuverlässige vollautomatisierte Software verfügbar, die die Extraktion der Feuerzeiterien für Einzelzellen extrahierte aus in vivo Ableitungen. Für diese Vorverarbeitung der 2018-2020 massiv anfallenden Ableitedaten wurde die TA eingesetzt.

**Ad Pos. 822:** Zusätzlich und kritisch für die Bearbeitung war die Mitarbeit von wissenschaftlichen Hilfskräften über den Projektzeitraum, die anfallende Arbeiten wie Ableitungen und später auch Analysen durchführten (Wolf, Winkelmeier, Articus).

### Verbrauchsmittel (Pos. 838 sowie 840,841):

Die Verbrauchsmittel inkl. Tier- und Publikationskosten wurden über den Projektzeitraum für Kleinteile für Elektrophysiologie, Optogenetik und Zucht und Beschaffung der Versuchstiere projektspezifisch verwendet. Durch die beantragten kostenneutralen Laufzeitverlängerungen waren die Durchführungen der Revisionsarbeiten im Rahmen des jeweiligen Reviewprozesses möglich (v.a. Wolf et al., 2024a,b).

## 3. der Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die Zuwendung wurden vollumfänglich projektspezifisch eingesetzt und waren für die Durchführung des komplexen Projektes erforderlich. Die unten aufgeführten bereits erschienen und noch in Revision

und Vorbereitungen befindlichen Publikationen entsprechen den ursprünglichen Zielen. Wie angestrebt konnten unsere eigenen Ziele erfüllt oder übertroffen werden in den Projektteilen 1 und 3. Projektteil 2 wurde in einem agilen Projektmanagement wie in den Zwischenberichten und oben dargestellt zugunsten der anderen Arbeitspakete und nach initialen Experimenten sich zeigender geringer Innovationskraft nicht weiterverfolgt, um die Ressourcen angemessen einzusetzen.

#### **4. des voraussichtlichen Nutzens, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans,**

Das Projekt Oxystate ist Grundlagenforschung mit dem Ziel neuronale Mechanismen perspektivisch besser zu verstehen. Die Ergebnisse informieren die weiterlaufende Modellbildung in Zusammenarbeit mit Frau Linster, die auch auch Projektende fortgeführt wird. Ferner ergaben sich im Projektverlauf interessante Hinweise, dass die hier untersuchten Mechanismen in genetischen Autismusmodellen relevant sind (Wolf et al., 2024c; Eltokhi et al., 2021) und durch Interventionen im Oxytozinsystem, dass therapeutische Implikationen hat, korrigiert werden könnten. Wir und andere Arbeitsgruppen verfolgen diese Fragestellung im Hinblick auf Mechanismus-basierte Therapieansätze nach Projektende weiter.

#### **5. des während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen,**

Es gab im Feld eine Reihe von Fortschritten, die unsere Befunde entweder replizierten oder ergänzten, jedoch keine Befunde, die diese infrage stellten oder zu einer wesentlichen Strategieänderung benötigten.

#### **6. der erfolgten oder geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr. 6.**

##### Under review Originalarbeiten aus Oxystate Project:

David Wolf<sup>1,2</sup>, Lennart L. Oettl<sup>1,3</sup>, Luis Sanchez-Guardado<sup>4,5</sup>, Christiane Linster<sup>6</sup>, Carlos Lois<sup>4</sup>, Wolfgang Kelsch<sup>1,2,#</sup> (2024b) NPAS4 in mitral cells is required to form a balanced excitation-inhibition necessary for downstream cortical decoding of chemically similar odor molecules. Submitted

David Wolf<sup>1,2</sup>, Lars-Lennart Oettl<sup>1,3</sup>, Laurens Winkelmeier<sup>1</sup>, Christiane Linster<sup>4</sup>, Wolfgang Kelsch<sup>1,2,#</sup> (2024c). Anterior olfactory cortices differentially transform bottom-up odor signals to produce inverse top-down outputs. The Journal of Neuroscience. In revision.

##### Peer-reviewed Originalarbeiten:

1. David Wolf<sup>1,2</sup>, Renée Hartig<sup>2</sup>, Yi Zhuo<sup>2</sup>, Max F. Scheller<sup>2</sup>, Mirko Articus<sup>1</sup>, Marcel Moor<sup>2</sup>, Valery Grinevich<sup>3</sup>, Christiane Linster<sup>4</sup>, Eleonora Russo<sup>2,5</sup>, Wolfgang Weber-Fahr<sup>6</sup>, Jonathan R. Reinwald<sup>1,2,6</sup>, **Wolfgang Kelsch**<sup>1,2,\*</sup> (2024a) Oxytocin induces the formation of distinctive cortical representations and cognitions biased toward familiar mice. **Nature Communications**. 15:6274. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50113-6>
2. Winkelmeier L, Filosa C, Hartig R, Scheller M, Sack M, Reinwald JR, Becker R, Wolf D, Gerchen MF, Sartorius A, Meyer-Lindenberg A, Weber-Fahr W, Clemm C, Russo E, **Kelsch W** (2022)

- Striatal hub of dynamic and stabilized prediction coding in forebrain networks for olfactory reinforcement learning. **Nature Communications**. 13:3305. doi: 10.1038/s41467-022-30978-1.
3. Eltokhi A, Gonzalez-Lozano MA, Oettl LL, Rozov A, Pitzer C, Röth R, Berkel S, Hüser M, Harten A, **Kelsch W**, Smit AB, Rappold GA, Sprengel R (2021) Imbalanced post- and extrasynaptic SHANK2A functions during development affect social behavior in SHANK2-mediated neuropsychiatric disorders. **Mol Psychiatry**. 26:6482-6504. doi: 10.1038/s41380-021-01140-y.
  4. Oettl LL, Scheller M, Filosa C, Wieland S, Haag F, Loeb C, Durstewitz D, Shusterman R, Russo E, **Kelsch W** (2020) Phasic dopamine reinforces distinct striatal stimulus encoding in the olfactory tubercle driving dopaminergic reward prediction. **Nature Communications**. 11:3460. doi: 10.1038/s41467-020-17257-7.
  5. Linster C, **Kelsch W** (2019) A Computational Model of Oxytocin Modulation of Olfactory Recognition Memory. **eNeuro**. 6:ENEURO.0201-19.2019. doi: 10.1523/ENEURO.0201-19.2019.

#### Peer-reviewed Review:

1. Hartig R, Wolf D, Schmeisser MJ, **Kelsch W** (2021) Genetic influences of autism candidate genes on circuit wiring and olfactory decoding. **Cell Tissue Res**. doi: 10.1007/s00441-020-03390-8.
2. Oettl LL, **Kelsch W** (2018) Oxytocin and Olfaction. **Curr Top Behav Neurosci**. 35:55-75. doi: 10.1007/7854\_2017\_8.

#### Eingeladene Vorträge zum Thema des Projektes während der Laufzeit:

1. Keynote, Opening Center for Social Neural Networks, Japan 2018
2. Oxytocin Meeting, Erice, Italien 2018
3. AChemS, USA 2018
4. FENS Oxytocin Symposium, Online 2020
5. ECRO Meeting, Online 2020
6. DFG Loops, Online 2021
7. SensingLoops, Berlin 2022
8. AGNP, Berlin, 2022
9. Fraunhofer Institute, Erlangen/Garching 2023
10. AChemS, USA 2023
11. CSHL Meeting Neuronal Circuits, USA 2024
12. ISOT2024, Island 2024

Mannheim, den 13. August 2024

Prof. Dr. Wolfgang Kelsch