

COMPTE-RENDU DU 6^E COLLOQUE AROMAGRI DU MARDI 9 OCTOBRE 2007
"NEUROPHYSIOLOGICAL PROCESSING OF THE CHEMO-SENSORY MESSAGE
IN VERTEBRATES AND INVERTEBRATES"

*Organisers : AROMAGRI¹, NOPA, INRA, CRJ, IFR 144 NeuroSud Paris,
Neuropôle Francilien*

Mustafa Bensafi² (Lyon) : Integration of olfactory and trigeminal stimuli in the human brain

Les terminaisons sensibles trigéminales dans le nez et dans la bouche sont réputées être stimulées par des signaux physiques d'une part (toucher, température) et, d'autre part, par un certain nombre de produits chimiques, dont certains odorants. Cependant, on peut distinguer des composés "purement" olfactifs comme la vanilline et des composés "purement trigéminaux" comme le CO₂. [cf. Doty RL et coll (1978) *Physiol Behav* 20, n°2, p175-185].

L'interaction entre les deux systèmes est moins bien connue mais on pourrait attribuer au système trigéminal –entre autres- un rôle d'alerte puisque la stimulation trigéminal abaisse les seuils de perception olfactive [cf. Jacquot L et coll (2004) *Brain Res* 1002, p 51-54]. L'imagerie cérébrale révèle que les odorants purement olfactifs (vanilline) stimulent le cortex olfactif (amygdale, cortex piriforme), tandis qu'un odorant à forte composante trigéminal (acétone) ne les active que faiblement. Par contre, l'acétone provoque des activations de l'insula, du cortex somatosensoriel primaire et du cortex cingulaire, qui sont des régions qui répondent aux stimuli douloureux. La désactivation des aires sensorielles ne se limite pas au système olfactif mais s'étend aux cortex visuel, auditif et somatosensoriel. Il existe donc un dialogue entre ces systèmes lors de l'activation des voies trigéminales [Savic I et coll (2002) *Curr Op Neurobiol* 12, n°4, p 455-461].

L'interaction entre les perceptions olfactives et trigéminales permettrait également une latéralisation de la perception odorante, à travers l'activation de zones différentes du cerveau. Trijumeau : aires sensorielles I et II, cortex cingulaire, pont, lobe frontal, insula (+cortex olfactif ?) et olfaction : cortex piriforme, amygdale, cortex entorhinal/hippocampe, + lobe frontal et insula [Iannilli E et coll *Brain Res* (2007) 1139 p 235-244].

Le système trijumeau pourrait être impliqué dans l'activation différentielle des aires cérébrales en fonction de la concentration des odorants. Suite à une étude en IRMf, Anderson et coll [*Nature Neuroscience* (2003) 6, p 196-202] ont rapporté une relation simpliste où, à haute concentration, l'amygdale percevrait plutôt l'intensité d'un stimulus odorant tandis que l'activation du cortex orbito-frontal serait plus reliée à la valence (odeur

¹ Aromagri est un club affilié à la Société des Neurosciences

² Laboratoire de Neurosciences et Systèmes Sensoriels, UMR 5020 CNRS, Université Claude Bernard Lyon 1, 50 av Tony Garnier, 69366 Lyon Cedex 07, France, bensafi@olfac.univ-lyon1.fr

agréable ou déplaisante). Nos travaux en IRMf ont comparé la réponse cérébrale à des concentrations basses et hautes de CO₂ (trijumeau) et de H₂S (olfactif). Le CO₂ active le cortex sensoriel I, l'aire cingulaire, le cervelet et le gyrus temporal supérieur. Le H₂S provoque l'activation du gyrus insulaire, de l'hippocampe et du putamen frontal. Mais, si l'on calcule le différentiel de réponse entre haute vs basse concentration du H₂S, alors les zones différenciellement activées par la haute concentration sont le cervelet, le cortex visuel et le gyrus frontal supérieur. Dans les mêmes conditions, les hautes concentrations de CO₂ n'activent qu'une région, le gyrus cingulaire.

Une autre instance où l'interaction transmodale olfaction-trijumeau pourrait jouer est la question de la congruence des signaux. Par exemple, associer le CO₂ au jus d'orange est congruent puisqu'on les retrouve dans les sodas dans la vie de tous les jours. Par contre, l'association de CO₂ à l'odeur de rose (phényl-éthyl alcool, PEA) n'est pas habituel et peut être considéré comme incongruent. L'étude de Boyle et coll [Neuroscience (2007) 149, n°1, p 223-231] montre que cette dernière association conduit en effet à l'activation de centres d'intégration (left superior temporal and right intraparietal sulcus) et cognitifs (orbitofrontal areas : left medial and lateral orbitofrontal cortex) en plus des zones activées isolément par chacun des stimulus.

L'hippocampe pourrait participer aux phénomènes de rappel évoqués par un signal incongruent. Elle n'est qu'à 2 synapses de distance de l'épithélium olfactif (bulbe puis cortex entorhinal puis hippocampe) [par exemple, Gottfried & Dolan Neuron (2003) Human imaging...]. Les zones activées de congruent vs incongruent sont : surtout l'hippocampe droite et puis le striatum, le cervelet, le pont, le thalamus médio-dorsal. L'activation de l'hippocampe médie l'accès à la sémantique des signaux appris, tandis que le striatum et le cortex cingulaire sont plus liés à la récompense (hédonisme, "reward value", cf. Vogt et coll (2005) Nature Review Neurosciences).

Ivan Rodriguez³ (Geneva): Pheromone receptors: from genes to behaviour.

Chez la plupart des mammifères, l'organe voméronasal (VNO) est un médiateur majeur des interactions entre individus. Les neurones sensoriels du VNO expriment des chimiorécepteurs de type V1R ou V2R. Les récepteurs V1Rs permettent la reconnaissance de phéromones: Une délétion chez la souris d'une partie du répertoire V1R (facilitée par leur organisation en clusters) diminue l'activité sexuelle des mâles envers les femelles et affecte également le comportement de défense des femelles lactantes envers les intrus (DeIPunta et col. Nature 2002). En utilisant une approche génétique permettant la visualisation in vivo de neurones exprimant un récepteur donné, il a été montré qu'un récepteur V1R, V1rB2, est un

³ Dpt of zoology and animal biology and NCCR Frontiers in Genetics University of Geneva 30 quai Ernest Ansermet 1211 Geneva Switzerland Ivan.Rodriguez@zoo.unige.ch

récepteur très spécifique pour le 2-heptanone, une phéromone de souris (Boschat et col, Nature Neuroscience 2002).

Les gènes codant pour la superfamille V1R sont particulièrement nombreux chez les mammifères (150 chez la souris et plus de 250 chez l'ornithorynque par exemple), et leurs séquences sont remarquablement variées à l'intérieur d'une espèce (Rodriguez et col. Nature Neuroscience 2002) mais également entre différentes espèces. Ces récepteurs permettant potentiellement la reconnaissance ou non reconnaissance de membres d'une espèce, il est possible que l'évolution rapide de ces récepteurs puisse être à l'origine de phénomènes d'isolation chimique, résultant en spéciations.

Outre leur fonction de chimiorécepteurs, ces récepteurs semblent jouer un rôle dans d'autres processus: a) la régulation de l'expression d'autres V1Rs et b) le guidage axonal.

a) Chaque neurone voméronasal exprime un seul gène V1R, d'un seul allèle parental. La règle "un gène V1R- un neurone" est extrêmement stricte (Roppolo et col EMBO 2007). L'inactivation d'un gène V1R permet le choix d'un autre gène V1R, apparemment choisi au hasard, sur n'importe quel chromosome. Mais ce choix n'inclut pas les gènes localisés en cis par rapport au premier V1R choisi. Ceux-ci ne sont en effet jamais choisis pour coexpression, un mécanisme appelé par Roppolo et col. "verrouillage de cluster", mécanisme qui suggère fortement l'existence de régulations au niveau des clusters, et donc que l'organisation génomique particulière de ces gènes reflète plus qu'une simple proximité évolutive.

b) Chaque neurone voméronasal exprimant un gène V1R projette un axone dans le bulbe olfactif accessoire, dans lequel il converge en une dizaine de foci (ou glomérules), avec d'autres axones exprimant le même récepteur (Rodriguez et al. Cell 1999). A chaque récepteur V1R correspond donc une carte topographique particulière. L'expression forcée d'un autre récepteur V1R à la place du récepteur V1R modifie la topographie de ces glomérules. L'expression d'un récepteur V1R non fonctionnel induit une innervation du bulbe apparemment incontrôlée et au hasard. Ce phénomène est expliqué par le fait que les neurones qui perçoivent l'expression d'un récepteur non-fonctionnel en choisissent un autre, au hasard, et convergent donc vers les glomérules correspondant à ces nouveaux V1Rs choisis. De façon surprenante, l'expression d'un récepteur non voméronasal comme par exemple le récepteur à odorant M71 permet une récupération de la capacité de converger (Rodriguez et col Cell 1999). L'expérience inverse, dirigeant l'expression du gène V1rb2 à la place du récepteur à odorant M71 permet également aux axones olfactifs de converger, capacité qu'ils perdent s'ils expriment un récepteur M71 inactif (Feinstein et col. Cell 2004). Ceci naturellement suggère que le mécanisme mis en évidence dans le système voméronasal est potentiellement également utilisé par d'autres systèmes neuronaux.

Peter Brennan⁴ (Bristol) : Vomeronasal mechanisms of individual recognition in mice.

L'effet Bruce chez la souris consiste en un avortement d'une femelle déclenché par un mâle étranger. On peut le reproduire en utilisant seulement l'urine dudit mâle, ce qui prêche pour un effet chémiochimique. Cet effet signifie cependant que la femelle doit pouvoir distinguer les deux mâles, c'est-à-dire que le premier doit avoir laissé une empreinte olfactive (qui dure d'ailleurs 30-50 jours, durée nécessaire pour un succès reproductif). La lésion du VNO empêche l'effet Bruce.

L'équipe du Monnell Institute (Yamazaki, Beauchamp, 1986, PNAS 1983) a montré que des souris sont capables d'une discrimination individuelle (sur la base du MHC) basée sur l'odeur d'urine. On sait que les récepteurs du MHC I présentent des peptides de 9-11 acides aminés. La modélisation du site de liaison permet de distinguer 2 positions critiques dans ces séquences dites "résidus d'ancrage" (anchor residues). Leinders-Zufall et coll [Science 2004] ont montré par imagerie calcique du VNO que les peptides caractéristiques d'une souche de souris (C57 vs Balb) déclenchaient des réponses spécifiques de certains neurones à V2R (couche profonde du VNO) à des concentrations incroyablement basses (10^{-14} M). L'effet Bruce passerait par le blocage de la sécrétion de prolactine par l'hypophyse via : VNO → AOB → amygdale médiane → noyau arqué de l'hypothalamus → hypophyse.

A la différence du BO principal, les cellules mitrales du BO accessoire collectent l'information de plusieurs (numerous) glomérules. Les cellules périglomérulaires et granulaires reçoivent des afférences noradrénergiques du locus coeruleus.

L'activation neuronale de l'AOB est également différente du principal [Katz et coll, Science 2003] : la réponse est lente et dure longtemps (env 1 mn) et désensibilise peu. De plus, elle est souche (de souris)-spécifique, sexe-spécifique, etc. Otsuka et coll (EJN 2001) ont montré que le VNO répond aussi aux stimuli physiques. Enfin, les antagonistes adrénergiques bloquent la mémoire voméronasale. La mesure des neuromédiateurs par microdialyse de l'AOB montrent que, entre souris femelles fécondée ou non, le GABA est augmenté chez les fécondées (pas le Glu). Le c-fos [Harlem et coll EJN 2001 vol 13 p 389-399] dit que l'amygdale et l'aire pré optique médiane (MPoA) sont activées chez les non-fécondées par rapport aux fécondées. Dans le noyau arqué, le c-fos augmente en présence du mâle non-familier. Il y aurait donc un rétro-contrôle inhibiteur.

Alan Carleton⁵ (Lausanne) : Cellular mechanisms underlying and regulating odor coding. (article soumis, résumé disponible prochainement)

⁴ Department of Physiology University of Bristol Medical School Building University Walk Bristol BS8 1TD tel: +44 (0)117 331 2306 + 44 (0)117 331 2241 fax: + 44 (0) 117 928 8923 e-mail: p.brennan@bristol.ac.uk

⁵ Flavour Perception Group Brain Mind Institute Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne Station 15 CH-1015 Lausanne Switzerland Tel: 00 41 21 693 16 54 Fax: 00 41 21 693 16 50 alan.carleton@epfl.ch

Martin Giurfa⁶ (Toulouse): Olfactory Mixture Processing in the Honeybee Brain.

Avec leur "simple" système nerveux (950000 neurones), les abeilles sont capables d'apprentissages olfactifs élaborés et de mémoire à long terme. Des protocoles comportementaux contrôlés existent, tel que le conditionnement olfactif de l'extension du proboscis, qui permettent d'étudier les aspects comportementaux et cellulaires du codage et de l'apprentissage olfactif chez une abeille immobilisée dans le laboratoire. Le circuit olfactif est relativement bien caractérisé de sorte qu'un atlas est disponible pour le lobe antennaire, structure analogue au bulbe olfactif des vertébrés et donc premier relais de traitement de l'information olfactive dans le cerveau de l'insecte. Des méthodes d'imagerie calcique sont appliquées au niveau du lobe antennaire lors de stimulations in vivo d'abeilles immobilisées afin de déterminer comment sont codées des odeurs simples et complexes ; que représente ce codage et quelles modifications subit-il lors de l'apprentissage olfactif (association odeur-récompense de sucre) ?

Les odeurs sont codées sous forme de patrons spatio-temporels d'activation glomérulaire au niveau du lobe antennaire (Joerges et coll 1997, Nature). Des mélanges d'odeurs sont codés au niveau de l'entrée du lobe antennaire suivant des principes élémentaires. Ainsi, il est possible de prédire le patron d'activation glomérulaire correspondant à un mélange à partir des patrons d'activation produits par les odeurs composantes du mélange. A partir de travaux d'imagerie, on montre que le patron d'un mélange est plus semblable à celui de la composante plus forte" (plus de glomérules activés). Ce codage reflète de véritables sensations perceptuelles. En effet, Guerrieri et coll (Plos Biol 2005) ont montré qu'une corrélation extrêmement significative existe entre l'évaluation perceptuelle de la similarité entre odeurs que font les abeilles individuelles dans des tests de généralisation et le degré de superposition des patrons d'imagerie calcique obtenus pour ces mêmes odeurs. Les abeilles évaluent les odeurs à partir de dimensions telles que le groupe fonctionnel et la longueur de chaîne carbonée et les réponses neurales suivent la même stratégie.

Finalement, le rôle de l'expérience a été étudié par imagerie calcique sur le couplage des deux lobes antennaires lors d'expériences d'apprentissage olfactif complexe (apprendre à discriminer deux odeurs A et B, du côté de l'antenne gauche : A+ vs B- , du côté de l'antenne droite A- vs B+ ; avec - et + indiquant absence et présence de récompense respectivement). Sandoz et coll (Neuroscience 2003) ont montré que ce type d'apprentissage introduit des asymétries dans la représentation neurale d'une odeur qui normalement est symétrique entre les deux lobes antennaires. Du fait qu'une odeur est

⁶ Centre de Recherches sur la Cognition Animale CNRS - Université Paul Sabatier - Toulouse III - UMR 5169 118
Route de Narbonne 31062 Toulouse cedex 9 FRANCE Phone (direct): 33 (0) 561 55 67 33 Fax: 33 (0) 561
55 61 54 Mail: giurfa@cict.fr <http://cognition.ups-tlse.fr/>

associée à des conséquences différentes d'un côté et de l'autre, les patrons d'activation glomérulaire deviennent asymétriques afin de faciliter la décorrélation entre odeur A (ou B) à gauche et à droite. Ces études montrent le pouvoir d'un modèle invertébré dans le but de répondre à des questions fondamentales sur la neurobiologie de l'olfaction et l'apprentissage olfactif.

Jean-Jacques Remy⁷ (Marseille): Epigenetic adaptation through sensory imprinting.

Des modifications épigénétiques stables peuvent-elles jouer un rôle dans la transmission des comportements ?

L'empreinte permanente de l'environnement sensoriel périnatal joue un rôle essentiel pour l'adaptation des animaux. Par exemple, l'empreinte des odeurs et des saveurs du lieu de naissance permet le retour des animaux migrateurs comme le saumon, ou les pétrels antarctiques (Dittman et coll, 1997 ; Bonadonna et coll, 2003).

Le sens chimique est l'unique sens développé chez le nématode *C. elegans*. Ces nématodes, exposés à un environnement physico-chimique particulier durant la période critique de 10h juste après l'éclosion, manifestent une mémoire de ces conditions qui fait qu'ils pondent plus d'œufs et plus vite dans ces conditions que dans d'autres. Cette mémoire est transmise à la génération F1 et disparaît à la génération F2, suggérant une diffusion du message dans la lignée germinale et des mécanismes de suppression.

Des mutations affectant la production des petits ARN interférants (siARN) empêchent l'empreinte olfactive chez *C. elegans*. De plus, le canal à ARN SID-1 permet la transmission de l'empreinte à la génération F1. Sa suppression après F1 implique la RNase ER1-1 : chez les animaux mutants qui n'expriment pas ERI-1, l'expérience sensorielle d'un individu est transmise indéfiniment à sa descendance. Nous avons là un exemple de transmission "Iamarckienne"!

⁷ NICN CNRS UMR 6184 Faculté de Médecine Nord Blvd Pierre Dramard 13916 Marseille cedex 20, France Tel : 0491698776 or 33 4 91698776 jean-jacques.remy@univmed.fr