

Journée "NeuroJouy" du 26 mars 2012, sous l'égide d'AROMAGRI et de l'IFR144 NeuroSud Paris, avec le soutien des départements INRA PHASE et AlimH, dans les locaux d'AgroParisTech rue Claude Bernard à Paris.

Alexander Fleischmann (Collège de France) : Genetic analysis of olfactory processing and function.

La carte sensorielle dans le bulbe olfactif s'appuie sur l'activation d'ensembles précis de cellules mitrales et à panache.

Nous avons généré une souris exprimant le récepteur M71 (ligand : acétophénone) dans plus de 95% des neurones olfactifs de l'épithélium (Fleischmann et al (2008, Neuron vol 60, p 1066-81), ce qui réduit théoriquement l'expression des autres récepteurs d'un facteur 20. De façon surprenante, ces souris ne "sentent" pas l'acétophénone mais restent sensibles aux autres odorants purs ou en mélange avec l'acétophénone. Par contre, leurs performances d'apprentissage sont dégradées. Les glomérules montrent une réponse importante à l'acétophénone mais qui ne se traduit pas en terme de comportement. Le bulbe jouerait donc le rôle d'augmenter les signaux faibles et de diminuer les signaux forts.

A l'étage suivant (cortex piriforme, CP), ils ont exprimé la channelrhodopsine dans des cellules du CP. Ils montrent qu'il faut stimuler quelques centaines de neurones (500 à l'EC 50) pour déclencher un comportement (de fuite, dans leurs cas).

Par ailleurs, les souris rendues anosmiques développent de l'anxiété ("anxious nose"). On peut générer cette anosmie par KO de certains gènes ou par bulbectomie. C'est spécifique du système olfactif principal (KO de *trpc2*, spécifique du voméronasal, n'altère pas le comportement).

Xavier Grosmaître (CNRS, CSGA, Dijon) : Plasticité des neurones olfactifs induite par l'exposition postnatale aux odorants : conséquences anatomiques, moléculaires et physiologiques.

Pour repérer les neurones exprimant le même récepteur dans la muqueuse, utilise des souris transgéniques MOR23-GFP. Cela permet l'étude électrophysiologique (électrode dans bouton dendritique, technique hautement spécialisée) spécifique de ces neurones qui "sentent" le lyral. La surprise est que la réponse des neurones est différente (amplitude, train de potentiels d'actions, latence, recouvrement).

Mais l'exposition de ces souris au lyral diminue le nombre de neurones exprimant MOR23-GFP de 85 au mm² à 20-25. Curieusement, les ARNm de MOR23 sont multipliés par 3 et les ARNm de la cascade de transduction augmentent également (*cnga2* X 3,6 ; PDE x 12 ; cyclase III x 1,5). Le nombre de Hill (des courbes dose-réponse en électrophys) est changé de 1 à 0,6. La courbe montre une sensibilité aux plus basses concentrations mais aussi une pente de réponse moins escarpée que les contrôles. Quant aux cinétiques de réponses, elles montrent une repolarisation beaucoup plus rapide chez les souris exposées. L'idée serait d'une adaptation par un moindre nombre de neurones mais plus "répondeurs".

De plus, l'effet est durable (récup au bout de 1 à 2 mois). Par ailleurs, la réponse globale aux autres odorants (par EOG) n'est pas modifiée.

Anne Didier (Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon) : Neurogenèse adulte et mémoire olfactive.

Quelques chiffres : 50% des cellules du bulbe olfactif sont renouvelées en quelques mois, dont 90% en couche profonde. Mais 50% des cellules qui entrent dans le bulbe olfactif sont éliminées. Lors des apprentissages associatifs, nous avons regardé la latence pour trouver la cible et le nombre d'essais réussis. On mesure ainsi l'apprentissage et la mémoire. Les nouveaux neurones sont le support de la rétention. Lors d'un apprentissage, leur nombre augmente jusqu'à 30 jours, puis il chute à 90 j. On peut localiser ces nouveaux neurones et l'on s'aperçoit qu'ils ont disparu à 90 j. La carte sera différente pour un autre apprentissage odorant. Les nouveaux neurones sont aussi recrutés pour le rappel de la tâche. Si on administre des anti-apoptotiques, les animaux se souviennent encore à 90j.

Anne Duittoz (INRA, PRC, Nouzilly) : Aspects morpho-fonctionnels des relations entre neurones à GnRH et cellules gliales.

La migration des neurones à GnRH depuis la placode olfactive se fait entre 11 et 17 j (de développement embryonnaire, noté E) chez la souris (sur une gestation de 18 j), entre E56 et E60 chez le mouton (gestation 145 j) et entre les semaines 7 et 10 chez l'homme (40 semaines). La période de pulsation varie suivant les espèces : 50 mn chez la brebis, 20 mn chez la souris. La pulsatilité est liée à la synchronisation des neurones. On peut l'observer dans des cultures in vitro. La PSA-NCAM est indispensable. Les cellules gliales montrent également une fluctuation (en vagues calciques). Les jonctions communicantes (gap junctions) sont également indispensables.

Jean-Marie Bonny (INRA, St-Genès-Champagnelle) : Traitement central d'odeurs biologiquement significatives chez le rat vigile révélé par IRM améliorée par l'agent de contraste manganèse (MEMRI).

On peut obtenir un contraste relié à l'activité neuronale en injectant l'animal (rat) avec du Mn (approche dite MEMRI). Le signal étant rémanent, on peut effectuer alors les stimulations sensorielles sur l'animal vigile et révéler ensuite les activations en imagerie RMN sous anesthésie. On gagne alors en résolution spatiale. Par contre, la diffusion du Mn (à partir de la cavité nasale) et son élimination sont l'objet d'une cinétique sur plusieurs jours qui nécessite de connaître sa propagation pour obtenir un bon signal.

Le Mn ne perturbe pas le comportement général mais diminue les performances olfactives. Des doses de 0,3 μmol augmentent le contraste dans le cortex olfactif primaire et préservent la perception olfactive. A cette dose, le Mn s'épuise le long de ses voies de migration mais il reste détectable dans l'ensemble du cortex olfactif primaire.

Cette approche a été mise en œuvre pour comparer le traitement d'odeurs de nourriture et de prédateur à celui d'un stimulus contrôle fondé sur l'envoi d'air désodorisé. Les résultats montrent que le traitement par le cortex olfactif primaire de l'odeur de prédateur diffère de celui du contrôle, alors que ce n'est pas le cas de l'odeur de nourriture. Ce travail qui valide MEMRI comme méthode d'imagerie fonctionnelle ouvre la voie à une meilleure compréhension du traitement cérébral des odeurs chez l'animal conscient.

Luc Pénicaud (CSGA, Dijon) : Revue des recherches menées au CSGA sur plasticité cérébrale et comportement alimentaire.

L Pénicaud a dressé un survol rapide des recherches sur l'alimentation au CSGA.

Chez les mammifères, la régulation de l'homéostasie alimentaire et énergétique a lieu principalement dans les noyaux de l'hypothalamus.

Chez la Drosophile, le modèle peut sembler beaucoup plus simple car il n'y a que 4 neurones qui sécrètent un homologue du NPY. Ils subissent néanmoins des modifications morphologiques comme chez la souris.

Autre exemple chez la souris : la génération de ROS en présence de glucose. La dynamique mitochondriale est diminuée, l'insuline diminue ainsi que la prise alimentaire. Dans la détection du glucose, les astrocytes jouent un rôle : si on les bloque, on bloque la détection du glucose par les neurones.

Gilles Fromentin (AgroParisTech, Paris) : Protéines et contrôle de la prise alimentaire : faits et mécanismes.

Au-delà de l'apport énergétique, la qualité de la prise alimentaire joue un rôle. Un régime hyperprotéique diminue la prise alimentaire.

On peut penser qu'il y a une détection de l'équilibre en acides aminés de la ration protéique dès la bouche. Le goût "umami" est-il en cause ? En fait, il semble qu'il y ait des systèmes multiples et redondants pour régler la prise alimentaire. Et très souvent les protéines ne sont pas "palatables". Au niveau du noyau du tractus solitaire, les noyaux-relais de l'info gustative entérique sont séparés entre sensibles aux glucides et sensibles aux protéines.

Brigitte Paulignan (Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon) : Modulation du réseau olfactif par les peptides régulant la prise alimentaire.

Les hormones (insuline, leptine, orexines) ont non seulement un rôle aigu mais aussi un rôle morphogène. L'insuline augmente le nombre de neurones olfactifs, la leptine et l'insuline augmentent leurs décharges spontanées en absence d'odorant mais diminuent leur activité en présence d'odorant. Ce changement diminue le rapport signal/bruit et en définitive diminue la sensibilité olfactive, aussi bien en EOG qu'en patch

Dans les cellules mitrales, ces hormones ont un effet dual : activent et inhibent.

En comportement, les hormones anorexigènes diminuent la sensibilité olfactive tandis que les orexigènes l'augmentent.

Christine Baly (INRA, NOeMI, Jouy-en-Josas) : Influence du statut nutritionnel et métabolique sur la modulation de la réponse olfactive.

C Baly a présenté plusieurs résultats sur les relations olfaction-nutrition, surtout au niveau de la muqueuse olfactive. C'est un senseur qui intègre les info physiologiques et sensorielles. L'amplitude

de l'EOG est diminuée par la leptine et l'insuline. Mais la manipulation de l'état nutritionnel conduit aussi à une variation de l'expression de l'OBP, de la composition du mucus, du niveau d'expression des récepteurs olfactifs.

Dans le bulbe, on constate aussi une modulation de la réponse olfactive par les anorexigènes et les orexigènes.

Hirac Gurden (IMNC, Orsay) : Modulation par le jeûne de la représentation spatiotemporelle d'une odeur de nourriture et d'une odeur nouvelle dans le bulbe olfactif de rat.

Régulation spatio-temporelle des cartes sensorielles olfactives dans le bulbe par imagerie optique. On "voit" l'afflux de sang dans les glomérules qui "travaillent". On peut ainsi reconstituer des cartes sensorielles dynamiques reliées à la qualité et à l'intensité du stimulus olfactif. De plus, le réseau bulbaire donne des oscillations mesurables en électrophysiologie.

Les astrocytes périglomérulaires sont équipés en transporteurs du glutamate GLAST et GLT-1. Le KO de Glast perturbe la prise de glucose et les oscillations électriques.

Entre les animaux à jeun et nourris, les fréquences préférentielles d'oscillation changent : leur fréquence diminue chez les nourris.

Isabelle Denis (INRA, Nurelice, Jouy) : Influence des facteurs nutritionnels et physiologiques sur les fonctions astrocytaires : pistes pour l'étude des interactions neurone-astrocyte dans le bulbe olfactif.

La composition en acides gras omega-3 (dont le DHA) du régime, déficitaire dans l'alimentation occidentale, se répercute sur la composition membranaire des neurones et des cellules gliales. Nos résultats montrent que les oméga-3 influencent les fonctions des astrocytes impliquées dans la régulation de la synapse glutamatergique : la forte teneur en DHA des membranes des astrocytes favorise leur plasticité morphologique (émission et motilité des filopodes périphériques) et leur capacité de couplage via les jonctions gap ; le DHA libre régule la capture du glutamate et du glucose, et induit des signaux calciques dans l'astrocyte.

Nous avons également montré qu'une carence en oméga-3 aggrave le vieillissement astrocytaire (altération de la capture du glutamate et astrogliose) au niveau de la zone CA1 de l'hippocampe, impliquée dans les processus de mémorisation.

Enfin, nos résultats en cours sur l'interaction oméga-3 / stress suggèrent que l'enrichissement membranaire en DHA réduit l'impact de la corticostérone (principale hormone impliquée dans la réponse au stress) sur les fonctions astrocytaires.

Le projet actuel est de rejoindre Noemi (NeuroJouy) pour étudier le rôle des régulations astrocytaires dans le bulbe olfactif et leur implication dans les interactions olfaction-nutrition- prise alimentaire.

Discussion finale : la plasticité dans toutes ses dimensions et méthodes d'étude