

Université Victor Ségalen Bordeaux 2

U.F.R. Sciences de la Vie, Sciences de la Santé, Sciences de l'Homme

Année 2009

Thèse n°4676

**THESE**

pour le

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX**

**Mention : Sciences de la Vie et de la Santé**

**Option : Neurosciences**

Présentée et soutenue publiquement le 7 décembre 2009 par :

**Laure BELNOUE**

**Rôle de la neurogénèse bulbaire dans la mémorisation des odeurs chez la souris**

Devant la commission d'examen :

**Président**

**M. Jean-Marie CABELGUEN**    Professeur, Université Bordeaux 1, Bordeaux

**Membres du Jury**

**Mme Anne DIDIER**                    Maître de conférences, Université Lyon 1, Lyon  
*Rapporteur*

**M. Frédéric LEVY**                    Directeur de Recherche, Inra, Tours  
*Rapporteur*

**M Gilles GHEUSI**                    Maître de conférences, Université Paris 13, Paris  
*Examineur*

**Mme Djoher Nora ABROUS**        Directeur de Recherche, Inserm, Bordeaux  
*Membre invité*

**Mme Muriel KOEHL**                Chargé de Recherche, Cnrs, Bordeaux  
*Directeur de thèse*

---

## REMERCIEMENTS

---

Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés au sein de l'équipe Neurogénèse et physiopathologie du comportement du Neurocentre Magendie.

Je tiens à remercier le Docteur Pier Vincenzo Piazza pour m'avoir accueillie dans son institut qui, du fait de sa richesse technique et humaine, constitue un lieu unique de formation.

Je tiens à remercier particulièrement le Docteur Nora Abrous, qui tout au long de cette thèse a toujours répondu présente. Je la remercie pour tous les précieux conseils qu'elle m'a donnés tout au long de cette thèse et durant l'écriture de ce manuscrit.

Je tiens à remercier de tout cœur le Docteur Muriel Koehl, qui a dirigé cette thèse. Il est difficile pour moi d'exprimer en quelques mots tout ce que tu m'as apporté, d'une part scientifiquement et humainement. Tu as été présente et disponible de mon premier pas dans ce laboratoire jusqu'au point final de ce manuscrit de thèse. Tu as toujours été là pour répondre à toutes mes questions, scientifiques ou techniques. Nos discussions scientifiques m'ont énormément apporté d'un point de vue culturel (Dieu sait que tu en sais des choses !!) ainsi que d'un point de vue de la rigueur et de la réflexion scientifique. Encore merci pour tout ce que tu m'as donné.

Je remercie Monsieur le Professeur Jean-Marie Cabelguen de me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je suis très reconnaissante à Madame le Docteur Anne Didier, Messieurs les Docteurs Frédéric Lévy et Gilles Gheusi d'avoir accepté d'examiner ce travail de thèse. Qu'ils reçoivent ici l'expression de mes sincères salutations.

Je tiens à remercier chaleureusement le Docteur Marie-Françoise Montaron, pour sa relecture studieuse de ce manuscrit. Je remercie le Docteur Valérie Lemaire-Mayo de m'avoir permis de découvrir les joies de l'enseignement.

Je tiens à remercier particulièrement Noelle Grosjean pour toute l'aide technique qu'elle m'a apportée tout au long de cette thèse. Merci pour ta disponibilité et ton efficacité.

Je tiens à remercier Sylvie Rey pour ses superbes contre colorations.

Pour son enthousiasme et le dynamisme qu'elle apporte au sein de cette équipe, je tiens à remercier Vanessa Charrier.

Pour sa disponibilité ainsi que pour l'apport scientifique qu'elle m'a apporté dans le domaine obscur de la mémoire, je tiens à remercier le Docteur Sophie Tronel.

Je tiens à remercier toutes les étudiantes qui sont venues faire un stage au sein de l'équipe et plus particulièrement Myriam et Sarah, qui durant les manip de stress gestationnel m'ont donné un sérieux coup de main.

Je remercie particulièrement Cédric Dupuy d'avoir pris soin de mes animaux tout au long de ces années et pour son ingéniosité à fabriquer toute sorte de petites bricoles sans valeur mais indispensables.

Pour leur dynamisme et leur disponibilité, je remercie chaleureusement Christel Poujol et Philippe Legros de la PICIN. Christel, je te remercie tout particulièrement pour le temps que tu passé à créer une macro qui me convienne, car je sais que tu n'as pas compté tes heures.

Je remercie chaleureusement Delphine Gonzales pour son dynamisme ses coups gueules, ses éclats de rire et sa maîtrise de la mise en pages de Word qui lorsqu'on écrit une thèse n'est pas négligeable. Te voir tous les midis a été durant ces trois années un vrai plaisir.

Je tiens particulièrement à remercier Marie, qui, depuis que l'on se connaît, a toujours répondu présente. Tu as toujours été là pour écouter mes petites peines personnelles et professionnelles. Tu vas me manquer.

Je tiens particulièrement à remercier ma famille. Tout d'abord mes parents, mes sœurs Elodie et Emmanuelle pour le soutien qu'ils m'ont apporté durant ces années. Tu vois maman, cette thèse a si bien avancée qu'elle est même terminée ! Marine, je te mets à part, car tu connais les liens qui nous unissent, je te remercie juste d'être là.

Enfin, mes derniers mots vont à Eric, je te remercie pour le soutien, l'encouragement et l'amour que tu m'as apporté durant ces années.

---

## PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

---

### ***I. PUBLICATIONS***

**Belnoue L**, Grosjean N, Abrous DN\* and Koehl M\*. Olfactory discrimination learning recruits adult newborn neurons in the olfactory bulb. En preparation

**Belnoue L**, GrosjeanN, Abrous DN and Koehl M. Gestational stress prevents motherhood-induced improvement of olfactory memory – Relationship with adult neurogenesis. En preparation.

### ***II. COMMUNICATIONS***

**Belnoue L**, Grosjean N, Abrous DN and Koehl M. Olfactory discrimination learning recruits adult newborn neurons in the olfactory bulb. 6<sup>th</sup> FENS forum of European neuroscience, Geneva, Switzerland, July 12-16, 2008

**Belnoue L**, Grosjean N, Abrous DN and Koehl M. Olfactory discrimination learning recruits adult newborn neurons in the olfactory bulb. Colloque 2008 du GDR 2905 NeuroMem, Aussois, France, 15-17 décembre 2008.

**Belnoue L**, Grosjean N, Abrous DN and Koehl M. Olfactory discrimination learning recruits adult newborn neurons in the olfactory bulb. 9<sup>ème</sup> Colloque de la Société des Neurosciences, Bordeaux, France, 26-29 mai 2009.

**Belnoue L**, GrosjeanN, Abrous DN and Koehl M. Gestational stress prevents motherhood-induced improvement of olfactory memory. 41<sup>st</sup> European Brain and Behavior Society Meeting, Rhodes Island, Greece, 13-18 september 2009.

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>10</b>
<b>I. L'OLFACTION .....</b>	<b>11</b>
<b>A. Le système olfactif : description anatomique.....</b>	<b>11</b>
1. L'épithélium olfactif.....	12
a. Composition cellulaire .....	12
b. Les récepteurs olfactifs .....	13
2. Le Bulbe Olfactif.....	13
a. Organisation laminaire.....	13
b. Les différentes populations neuronales : anatomie et physiologie .....	15
α. Les cellules de projections bulbaires .....	15
β. Les interneurons bulbaires .....	16
3. Les afférences centrales.....	18
a. Les afférences bulbaires issues des structures olfactives.....	19
b. Les afférences bulbaires issues des structures non-olfactives .....	20
4. Les projections centrales .....	21
<b>B. Le traitement de l'information olfactive : réception, codage et transmission .....</b>	<b>22</b>
1. Traitement périphérique .....	22
2. Traitement bulbaire .....	22
3. Traitement cortical .....	25
<b>C. Implication de l'olfaction dans les interactions sociales.....</b>	<b>27</b>
1. Odeurs sociales / odeurs neutres.....	28
a. Définitions.....	28
b. Implication des deux systèmes olfactifs dans la détection des odeurs sociales .....	29
2. Rôle de l'olfaction dans les comportements reproducteurs .....	29
a. Choix du partenaire sexuel .....	30
b. Comportement copulatoire.....	31
c. Effet Bruce .....	31
3. Rôle de l'olfaction dans la maternité .....	32
a. Appréciation de l'odeur de petits .....	32
α. Chez les femelles vierges .....	32
β. Chez les femelles parturiantes .....	33
b. Comportement maternel et reconnaissance de la progéniture .....	34
α. Les espèces nidicoles .....	34
β. Les espèces précoces .....	36
c. Structures cérébrales impliquées dans la reconnaissance olfactive du petit .....	37
<b>II. LA NEUROGENESE ADULTE BULBAIRE .....</b>	<b>40</b>
<b>A. Description générale.....</b>	<b>40</b>
1. De la cellule souche aux néoneurons bulbaires.....	41
a. La prolifération cellulaire.....	41
α. La zone sous ventriculaire (ZSV).....	41
β. Cellules souches et niches neurogéniques .....	41
γ. Lignage cellulaire.....	43
b. La migration cellulaire.....	44
α. En route vers le BO : Migration tangentielle.....	44
β. Colonisation du BO : Migration radiaire .....	46
c. La différenciation et l'intégration des néoneurons .....	46
α. Les néoneurons granulaires .....	47
β. Les néoneurons périglomérulaires .....	51
d. Mort/Survie des néoneurons.....	52
2. Régulation de la neurogénèse bulbaire.....	52
<b>B. Expériences olfactives et plasticité bulbaire.....</b>	<b>53</b>
1. Plasticité du réseau bulbaire liée à l'expérience olfactive .....	54
a. Effet d'une anosmie .....	54
b. Effet d'une stimulation olfactive.....	54
c. Effet d'un apprentissage olfactif .....	55

2. Influence de l'expérience olfactive sur la neurogénèse bulbaire .....	56
a. Effet d'une anosmie .....	57
b. Effet d'une stimulation olfactive .....	58
c. Effet d'un apprentissage olfactif .....	59
3. Rôle des néoneurones dans l'olfaction .....	59
a. Analyse des performances olfactives .....	59
b. Variations de neurogénèse et performances olfactives .....	61
c. Apport des études causales .....	62
4. Rôle des néoneurones dans les interactions sociales .....	63
a. Néoneurones et comportement sexuel .....	63
b. Néoneurones et maternité .....	64
<b>OBJECTIFS DE LA THESE .....</b>	<b>66</b>
<b>MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>68</b>
<b>I. ANIMAUX .....</b>	<b>68</b>
<b>II. MARQUAGE DES CELLULES NEOFORMEES .....</b>	<b>68</b>
<b>III. STRESS GESTATIONNEL .....</b>	<b>68</b>
<i>A. Mise en reproduction.....</i>	<i>68</i>
<i>B. Stress de contention .....</i>	<i>69</i>
<b>IV. ETUDES COMPORTEMENTALES .....</b>	<b>69</b>
<i>A. Apprentissage dans un olfactomètre .....</i>	<i>69</i>
1. Dispositif .....	69
2. Discrimination olfactive .....	70
3. Restitution à long-terme .....	71
<i>B. Test de mémoire olfactive .....</i>	<i>72</i>
1. Dispositif .....	72
2. Procédure .....	72
<b>V. ETUDE ANATOMIQUE .....</b>	<b>73</b>
<i>A. Perfusion intra-cardiaque .....</i>	<i>73</i>
<i>B. Préparation des tissus .....</i>	<i>73</i>
<i>C. Immunohistochimie peroxydasique .....</i>	<i>73</i>
<i>D. Immunofluorescence.....</i>	<i>74</i>
<i>E. Evaluation quantitative de l'immunomarquage.....</i>	<i>75</i>
1. Quantification d'objets marqués par réaction immunoperoxydasique .....	75
2. Quantification d'objets révélés par réaction d'immunofluorescence .....	77
<b>VI. STATISTIQUES .....</b>	<b>78</b>
<b>CHAPITRE 1 .....</b>	<b>80</b>
<b>RECRUTEMENT DES NEONEURONES BULBAIRES PAR UN APPRENTISSAGE OLFACTIF DISCRIMINATIF .....</b>	<b>80</b>
<b>I. INTRODUCTION .....</b>	<b>80</b>
<b>II. DEROULEMENT DES EXPERIENCES .....</b>	<b>81</b>
<i>A. Recrutement des néoneurones bulbares lors d'un apprentissage de discrimination olfactive.....</i>	<i>81</i>
<i>B. Recrutement des néoneurones bulbares durant la restitution d'une information olfactive.....</i>	<i>82</i>
<b>III. RESULTATS .....</b>	<b>83</b>
<i>A. L'apprentissage discriminatif recrute préférentiellement les néoneurones bulbares âgés de cinq semaines.....</i>	<i>83</i>
1. Performances comportementales .....	83
2. Activation des néoneurones .....	83
3. Activation des neurones pré-existants .....	84
4. Spécificité régionale .....	85
<i>B. La restitution à long-terme d'une information ne recrute pas les néoneurones âgés de 9 semaines .....</i>	<i>86</i>
<b>IV. DISCUSSION .....</b>	<b>87</b>
<i>A. Impact de l'apprentissage sur la survie des néoneurones.....</i>	<i>88</i>
<i>B. Impact de l'apprentissage sur le recrutement des néoneurones.....</i>	<i>89</i>
<b>CHAPITRE 2 .....</b>	<b>92</b>

<b>IMPACT DE LA MATERNITE SUR LA MEMOIRE OLFACTIVE : IMPLICATION DE LA NEUROGENESE BULBAIRE .....</b>	<b>92</b>
<b>I. INTRODUCTION.....</b>	<b>92</b>
<b>II. DEROULEMENT DES EXPERIENCES.....</b>	<b>93</b>
<b>III. RESULTATS.....</b>	<b>94</b>
<i>A. Mise au point du test de reconnaissance chez des souris vierges.....</i>	<i>94</i>
<i>B. Impact de la maternité sur la mémoire olfactive .....</i>	<i>95</i>
1. Test de la mémoire olfactive des mères.....	95
2. Test de la spécificité olfactive des effets comportementaux.....	97
a. Activité exploratoire des mères.....	97
b. Reconnaissance d'odeurs des mères stressées.....	98
<i>C. Impact de la maternité sur la neurogénèse bulbaire.....</i>	<i>99</i>
1. Nombre de néoneurones.....	99
a. Néoneurones générés avant la gestation.....	100
b. Néoneurones générés durant la gestation.....	100
2. Activation des néoneurones.....	101
<b>IV. DISCUSSION .....</b>	<b>103</b>
<i>A. Maternité et mémoire olfactive .....</i>	<i>103</i>
<i>B. Maternité et neurogénèse.....</i>	<i>105</i>
<i>C. Maternité, olfaction et plasticité.....</i>	<i>106</i>
<b>DISCUSSION GENERALE.....</b>	<b>109</b>
<b>I. INFLUENCE DE LA NEUROGENESE SUR L'APPRENTISSAGE .....</b>	<b>109</b>
<b>II. INFLUENCE DE L'EXPERIENCE SENSORIELLE SUR LA NEUROGENESE .....</b>	<b>111</b>
<i>A. Apprentissage implicite et neurogénèse .....</i>	<i>112</i>
<i>B. Apprentissage conscient et neurogénèse.....</i>	<i>112</i>

---

## ABBREVIATIONS

---

- 5-HT** : Sérotonine  
**ACh** : Acétylcholine  
**AMPA** : Alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid  
**AON** : Noyau olfactif antérieur  
**AONe** : Pars externa du noyau olfactif antérieur  
**AONm** : Pars medialis du noyau olfactif antérieur  
**BO** : Bulbe Olfactif  
**BOA** : Bulbe Olfactif Accessoire  
**CAN** : Noyau amygdalien cortical  
**CB** : Calbindine  
**CCM** : Couche des cellules mitrales  
**CGL** : Couche glomérulaire  
**CCG** : Couche des cellules granulaires  
**CG** : Cellules granulaires  
**CMR** : Courant de migration rostrale  
**CMH** : Complexe Majeur d'Hiscompatibilité  
**CNO** : Couche du nerf olfactif  
**CxE** : Cortex entorhinal  
**CxP** : Cortex piriforme  
**CPE** : Couche plexiforme externe  
**CPG** : Cellules périglomérulaires  
**CPI** : Couche plexiforme interne  
**CR** : Calretinine  
**DA** : Dopamine  
**EGL** : Eminence Ganglionnaire Latérale  
**EO** : Epithélium Olfactif  
**GABA** : Gamma amino butyric acid  
**GAD** : Acide glutamique décarboxylase



**LAN** : Noyau cortical de l'amygdale  
**LOT** : Tractus olfactif lateral  
**MPOA** : Aire medial pré-optique  
**NA** : Noradrénaline  
**NLOT** : Noyau du tractus olfactif latéral  
**NMDA** : N-methyl-D-aspartate  
**NSO** : Neurone Sensoriel olfactif  
**N-ZON** : Zone sans nerfs olfactifs  
**OBP** : Odorant Binding Protein  
**OT** : Ocytocine  
**OVN** : Organe Voméronasal  
**PRL** : Prolactine  
**SOA** : Système Olfactif Accessoire  
**SOP** : Système Olfactif Principal  
**SVC** : Stimulation Vagino-Cervicale  
**VMH** : Noyau ventromédian de l'aire préoptique  
**TH** : Tyrosine hydroxylase  
**TRH**: Thyrotropin Releasing Hormone  
**TT** : Tenia tecta  
**ZSG** : Zone Sous Granulaire  
**ZSV** : Zone Sous Ventriculaire  
**ZON** : Zone des nerfs olfactifs

## INTRODUCTION GENERALE

---

*« Mais quand d'un passé ancien rien ne subsiste, après la mort des êtres, après la destruction des choses, seules, plus frêles mais plus vivaces, plus immatérielles, plus persistantes, plus fidèles l'odeur et la saveur restent encore longtemps, comme des âmes, à porter sans fléchir l'édifice imminent du souvenir. »*

*Marcel Proust. Du côté de chez Swann*

Au XXème siècle fut établi un dogme central en Neurosciences qui stipulait que seul le cerveau embryonnaire des mammifères contenait des cellules capables de se diviser et de former des lignées neuronales. Le cerveau adulte était donc considéré comme un organe dépourvu de toute capacité régénératrice et condamné à perdre inéluctablement ses éléments les plus précieux : les neurones. Jusqu'à récemment, ce dogme apparaissait comme inébranlable. Pourtant, dès les années 60, Joseph Altman observait la production de nouvelles cellules chez le rat adulte (Altman, 1962), mais ces potentialités régénératrices ne suscitèrent qu'un intérêt très limité. C'est dans les années 80 que la notion de production neurale chez l'adulte fut véritablement réhabilitée par les travaux portant sur le cerveau des canaris (Goldman and Nottebohm, 1983). Il fallut encore attendre une décennie pour que les premières preuves du renouvellement des neurones fussent enfin favorablement accueillies chez les mammifères adultes incluant les primates (Kornack and Rakic, 2001; Gould et al., 1999b) dont l'homme (Curtis et al., 2007; Eriksson et al., 1998; Sanai et al., 2004). On distingue aujourd'hui chez les mammifères deux structures principales capables de cette forme nouvelle de plasticité : il s'agit de l'hippocampe et du bulbe olfactif, premier relais central de l'information olfactive qui a fait l'objet de notre étude.

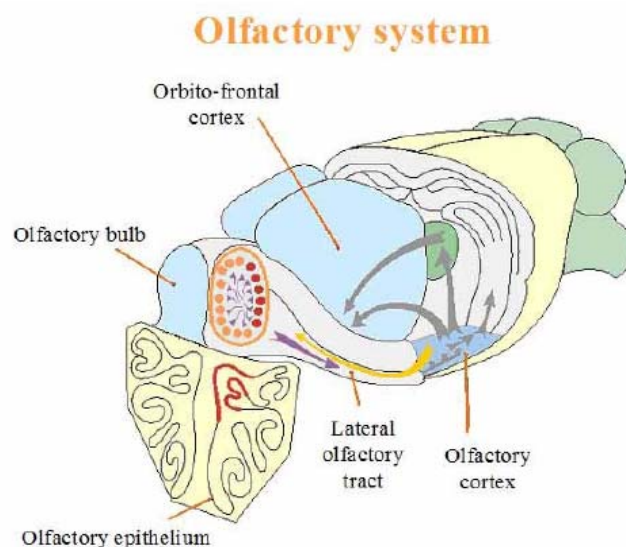
Dans l'histoire phylogénétique, le système olfactif est l'une des plus anciennes modalités sensorielles puisque la perception des odeurs est apparue il y a environ 500 millions d'années. Utilisé comme senseur chimique, le système olfactif constitue pour les mammifères le premier moyen d'explorer leur environnement et de communiquer. Le rôle prépondérant de l'olfaction dans l'appréhension de l'environnement ainsi que la conservation de la neurogenèse bulbaire au cours de l'évolution laissent à penser que la neurogenèse bulbaire détient certainement un rôle fonctionnel non négligeable.

## I. L'OLFACTION

### A. Le système olfactif : description anatomique

Le système olfactif joue un rôle primordial pour la survie de l'espèce puisqu'il est indispensable à la détection de nourriture et à la reconnaissance de congénères, et donc influence les comportements sociaux et sexuels. Ainsi, l'activation des cellules chemosensorielles nasales permet non seulement de détecter la nourriture, mais aussi d'alerter sur une potentielle toxicité de la substance à ingérer. De plus, le système olfactif détecte les informations sur le statut reproductif, le genre, et l'identité génétique des congénères (Restrepo et al., 2006). Dans tous ces cas, l'activation des cellules chemosensorielles de la cavité nasale initie des processus neuronaux qui peuvent influencer les comportements, les niveaux hormonaux et l'humeur.

Comme les autres systèmes sensoriels, le système olfactif comprend un ensemble de structures qui participent à diverses étapes du traitement de l'information olfactive, mais il reste relativement simple puisqu'il consiste seulement en deux projections synaptiques reliant l'épithélium sensoriel au cortex. Ainsi détection, transduction et codage des molécules odorantes se font au niveau des cellules sensorielles de l'appareil olfactif périphérique grâce à une palette de protéines réceptrices d'une extrême diversité. L'information est ensuite acheminée vers le cerveau et prise en charge par un premier relais central, le bulbe olfactif (BO), où elle est profondément remaniée. L'image olfactive qui en découle est ensuite transmise au cortex olfactif où sa dernière mise en forme lui confère une dimension affective et la rend mémorisable (Figure 1).



**Figure 1 : Schéma de l'organisation du système olfactif de rongeurs.** Les neurones sensoriels situés dans l'épithélium olfactif détectent les molécules odorantes et transfèrent l'information au bulbe olfactif. De là, l'information est transmise au cortex olfactif (piriforme) par le tractus olfactif latéral.

Le système olfactif des mammifères est composé de deux sous-unités : le Système Olfactif Principal (SOP) constitué de l'Épithélium Olfactif (EO) associé au Bulbe Olfactif (BO), qui a fait l'objet de ce travail et que nous décrirons donc en détail, et le Système Olfactif Accessoire formé par l'Organe Voméronasal (OVN) qui projette vers le Bulbe Olfactif Accessoire (BOA).

Dans une première partie, nous présenterons les acteurs impliqués dans le traitement de l'information olfactive, avec une emphase particulière pour le bulbe olfactif, structure intermédiaire mais cruciale pour le traitement sensoriel. Puis nous suivrons le devenir de l'information sensorielle qui est transmise entre les différentes structures du système olfactif, depuis sa détection par l'organe périphérique jusqu'à sa sortie au niveau du cortex olfactif.

## **1. L'épithélium olfactif**

Le siège de la perception des odeurs réside dans la muqueuse olfactive qui comporte un mucus et deux couches de tissus : l'épithélium olfactif (EO) et la sous muqueuse séparés par une lame basale. Le mucus est un milieu aqueux à 2 phases : une phase très liquide superficielle et une phase plus visqueuse qui constitue la couche inférieure. Plusieurs glandes (dont les glandes de Bowman) contribuent à la sécrétion du mucus. Elles sont situées dans la sous-muqueuse et émettent des canaux sécrétoires traversant l'épithélium olfactif pour s'ouvrir à la surface. Le mucus joue un rôle dans la défense immunitaire (présence d'Immunoglobulines) et dans la détoxification (cytochrome P450), et contient des Odorant Binding Protein (OBP), protéines capables de transporter les molécules odorantes lipophiles constituant les odeurs.

### ***a. Composition cellulaire***

Chez les mammifères, la première structure sensorielle olfactive est l'EO qui borde les parties postérieures de la cavité nasale (pour revue voir (Gaillard et al., 2004)). L'EO est constitué de 3 types cellulaires : les neurones sensoriels olfactifs (NSO), ou cellules réceptrices, les cellules basales et les cellules sustentaculaires.

Les NSOs sont des neurones bipolaires, dont la dendrite apicale projette dans la cavité nasale. A ce niveau, cette dendrite apicale se dilate pour former un « bouton olfactif », i.e. une excroissance qui va émettre des cils baignant dans le mucus. L'axone des NSOs n'est pas myélinisé et va pénétrer la lame basale de l'EO où il fait synapse avec les cellules de projection du BO. Les NSOs qui ont une courte durée de vie (~70 jours) sont remplacés régulièrement. De plus, ils ont la possibilité de proliférer en réponse à des dommages aigus tels que l'exposition à

des agents toxiques ou infectieux. Cette propriété est due à la présence des cellules basales, qui sont des progéniteurs multipotents capables de générer aussi bien des cellules non neuronales que des neurones. Enfin les cellules sustentaculaires sont des cellules de support non neuronales semblables à de la glie ; elles sécrètent des enzymes détoxifiantes dans le mucus et isolent électriquement les NSOs.

### ***b. Les récepteurs olfactifs***

Les récepteurs olfactifs qui sont situés au niveau des cils des NSOs sont directement en contact avec les odeurs inhalées. Chez les rongeurs, les NSOs expriment plus de 1000 types de récepteurs olfactifs différents (Buck and Axel, 1991). Chaque neurone olfactif n'exprime qu'un seul type de récepteur, activable par plusieurs types de molécules odorantes, et chaque molécule odorante peut activer plusieurs types de récepteurs. Cette combinatoire permet de coder des milliers d'odeurs (Buck and Axel, 1991; Firestein, 2004; Malnic et al., 1999).

Les récepteurs olfactifs sont des récepteurs à 7 domaines transmembranaires associés aux protéines G, ils sont classés en quatre groupes, en fonction de leur profil d'expression dans l'EO, permettant la division de l'EO en quatre zones (Zone I à IV). Il a été montré que les récepteurs olfactifs possédant une séquence d'acides aminés fortement homologues ont tendance à être localisés dans la même zone de l'EO (pour revue (Imai and Sakano, 2007; Malnic et al., 1999; Mori et al., 1999)). Ces quatre zones de l'épithélium olfactif projettent leurs axones vers quatre zones correspondantes du BO, suggérant une régionalisation odeur-dépendante de l'activité du BO.

## **2. Le Bulbe Olfactif**

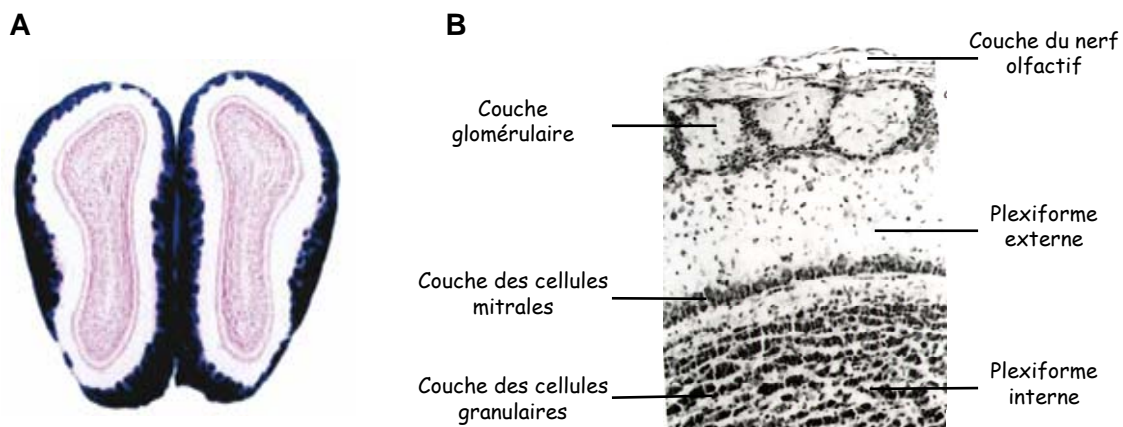
### ***a. Organisation laminaire***

Le bulbe olfactif est un allocortex caractérisé par une organisation laminaire. Les différentes couches cellulaires qui le constituent sont décrites dans les paragraphes suivants de la plus superficielle à la plus profonde (Shipley and Ennis, 1996) (Figure 2).

**La couche du nerf olfactif (CNO) :** il s'agit de la couche la plus superficielle du BO qui contient les axones des neurones sensoriels olfactifs et des cellules gliales. Les axones des neurones sensoriels qui projettent dans la couche glomérulaire sont fins et non myélinisés.

**La couche glomérulaire (CGL) :** Elle se trouve immédiatement sous la couche du nerf olfactif, et est composée de cellules glomérulaires, de cellules à axones courts et de glomérules. Les glomérules sont composés de structures sphériques riches en neuropiles, entourées par une

carapace de petits neurones et de cellules gliales. Chaque glomérule, qui représente une unité fonctionnelle discrète, a un diamètre qui peut varier de 80 à 160 $\mu\text{m}$ . Chez la souris, on estime qu'un bulbe olfactif contient environ 2 000 à 3 000 glomérules, et qu'au sein d'un glomérule, les dendrites apicales d'environ 25 cellules mitrales sont présentes. A l'intérieur d'un glomérule sont présentes les dendrites des cellules mitrales/à panache et les axones des NSOs.



**Figure 2 : Organisation laminaire du BO.** (A) Coupe coronale de BO, contre-colorée à l'hématoxyline. (B) Les différentes couches du BO.

**La couche plexiforme externe (CPE) :** Cette couche présente une densité cellulaire faible mais une très forte densité de neuropiles. Les éléments prédominants sont les dendrites des cellules mitrales/à panache et des cellules granulaires. Les neurones principaux de cette couche sont les cellules à panache externe, et les cellules de Van Gehuchten. Ces cellules sont caractérisées par au moins deux fines dendrites primaires qui restent dans la CPE. Les axones de ces cellules se terminent autour des cellules mitrales/à panache.

**La couche des cellules mitrales (CCM) :** Cette couche qui se situe sous la CPE est une monocouche cellulaire qui contient les somas des cellules mitrales (25-35  $\mu\text{m}$  de diamètre) ainsi que quelques cellules granulaires.

**La couche plexiforme interne (CPI) :** Cette fine couche qui est de faible densité cellulaire, contient de nombreux axones et dendrites. En effet la CPI contient les axones des cellules mitrales/à panache, les dendrites des cellules granulaires et les axones issus des noyaux raphé, du locus coeruleus et du noyau de la bande diagonale.

**La couche des cellules granulaires (CCG) :** Cette couche qui est la plus profonde du BO, contient des petits neurones granulaires (8 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre). Ces cellules granulaires sont agrégées en petits paquets de 3 à 4 cellules. La couche granulaire contient aussi des cellules

non granulaires comme les cellules de Blanes (cellules à axone court). Ces cellules qui sont reliées par des jonctions GAP, présentent une activité fonctionnelle synchronisée.

**Le courant de migration rostrale (CMR):** Chez l'animal adulte, le centre du BO est également qualifié de courant de migration rostral du BO (CMR<sub>BO</sub>) ou extension rostrale du courant de migration rostral ou encore zone épendymale. Il contient des neuroblastes immatures en migration vers leur destination finale, où ils se différencieront soit en cellules granulaires dans la CCG, soit en cellules périglomérulaires dans la CGL.

## ***b. Les différentes populations neuronales : anatomie et physiologie***

### *α. Les cellules de projections bulbaires*

On distingue deux types de cellules de projection dans le BO : les cellules mitrales et les cellules à panache (Nagayama et al., 2004). Ces cellules de projection possèdent d'une part une dendrite apicale qui projette dans la couche glomérulaire, et d'autre part de nombreuses dendrites basales qui projettent dans la CPE. (Egger and Urban, 2006). Il s'agit de neurones glutamatergiques qui vont transmettre l'information olfactive au cortex olfactif. Dans le BO, le nombre de cellules mitrales et à panache est équivalent. Ces cellules, qui sont souvent assimilées, diffèrent cependant sur de nombreux aspects anatomiques tels que la localisation de leurs corps cellulaires, la localisation de leurs arborisations dendritiques, le type ou le sous-type d'interneurones auxquels elles se connectent, et les aires corticales qu'elles innervent.

***Les cellules mitrales*** (25 à 35 µm de diamètre) dont les corps cellulaires se situent dans la couche mitrale, ont une dendrite apicale qui pénètre dans un unique glomérule et qui connecte les axones des neurones sensoriels. Les dendrites secondaires des cellules mitrales s'étendent tangentiellement dans la CPE, où elles forment des synapses dendro-dendritiques avec les cellules granulaires.

***Les cellules à panache*** (10 à 15 µm de diamètre), qui ont une morphologie semblable aux cellules mitrales, ont longtemps été considérées comme des cellules mitrales délocalisées dans la CPE (Shipley and Ennis, 1996). En fonction de leur localisation dans cette couche, on en distingue 3 types: les cellules à panache internes, moyennes et externes. Plus on descend en profondeur dans la CPE, plus leur taille augmente. Tout comme les cellules mitrales, les cellules à panache internes ont des dendrites latérales plus fines, qui projettent dans la CPE, et vont ainsi former des synapses réciproques avec les dendrites apicales des cellules granulaires. Cependant à la différence des cellules mitrales, les cellules à panache peuvent présenter 2 à 3 dendrites

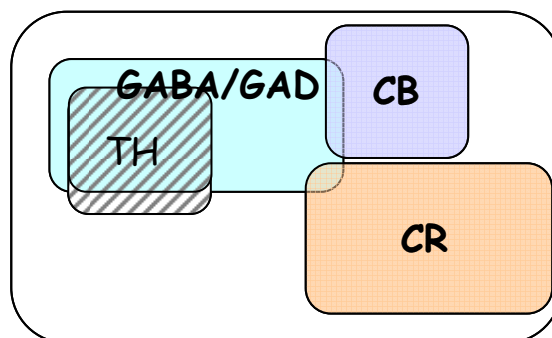
apicales qui se ramifient dans différents glomérules. Les cellules à panache internes vont projeter leurs axones dans la totalité du cortex olfactif. En revanche les cellules à panache moyennes qui possèdent de courtes dendrites qui s'étendent au niveau de la CPE profonde, vont projeter leurs axones seulement dans la région rostromédiane du cortex olfactif (correspondant au noyau olfactif antérieur, à la partie rostroventrale du cortex piriforme antérieur et au tubercule olfactif). Enfin, à la différence des deux types cellulaires décrits précédemment, les cellules à panache externes se situent au niveau de la couche glomérulaire et émettent de courtes dendrites dans la CPE.

### *β. Les interneurones bulbaires*

Deux types cellulaires constituent les interneurones bulbaires: les cellules périglomérulaires (CPG) et les cellules granulaires (CG).

**Les cellules périglomérulaires** (Kosaka and Kosaka, 2005;Toida, 2008) (5 à 8 μm de diamètre) appartiennent à la classe des cellules juxtglomérulaires ; en général les dendrites des CPG connectent un seul glomérule même si elles ont la capacité d'en connecter plusieurs. Ces dendrites se ramifient dans le glomérule. Les CPG expriment un grand nombre de marqueurs: le GABA, et l'acide glutamique décarboxylase (GAD), la tyrosine hydroxylase (TH) qui synthétise la dopamine (DA), l'enképhaline ; la Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) et les protéines liant le calcium telles que la calretinine (CR), la calbindine (CB) et la neurocalcine.

Sur la base de leur phénotype, on peut classer en 3 catégories la moitié des cellules glomérulaires : les neurones GABA-immunoreactifs (IR), CB-IR et CR-IR, les neurones TH-IR, TRH-IR et enképhalines-IR étant considérés comme des sous-populations (Figure 3).



**Figure 3 : Schéma de la composition cellulaire de la couche glomérulaire du rat (Kosaka and Kosaka, 2005).**

Chez le rat, les cellules GABA-IR ou GAD-IR représentent 20%, tandis que les cellules CR-IR et CB-IR représentent respectivement 20% et 10%, de la population cellulaire de la couche glomérulaire. Chez le rat comme chez la souris, environ 80% des neurones DAergiques



expriment le GABA ou la GAD ; en retour ces neurones représentent 50% des neurones GABA. Ainsi les CPG DAergiques peuvent être considérées comme une sous-population des CPG GABAergiques. Chez le rat, la plupart des cellules périglomérulaires CB-IR et CR-IR ne sont pas GABAergiques ; en revanche chez la souris la majorité des cellules CB-IR sont GABAergiques (Kosaka and Kosaka, 2005).

Une autre classification des cellules périglomérulaires peut être réalisée en fonction de la localisation de leurs dendrites au niveau du glomérule, et deux types de cellules peuvent être distingués. En effet, le glomérule peut être divisé en deux zones : la zone des nerfs olfactifs (ZON) et la zone sans nerf olfactif (N-ZON). Les cellules glomérulaires de type 1 envoient leurs dendrites au niveau des deux zones du glomérule, tandis que les cellules glomérulaires de type 2 projettent leurs dendrites seulement au niveau de la N-ZON. Les cellules périglomérulaires TH-IR et GABA-IR appartiennent au type 1, tandis que les cellules glomérulaires CR-IR et CB-IR appartiennent au type 2. Les NSO et les cellules mitrales/à panache connectent les cellules de type 1 par des synapses asymétriques glutamatergiques. En retour ces neurones connectent les cellules mitrales/à panache par une synapse symétrique gabaergique. De façon surprenante les cellules de type 1 ne forment pas de synapses réciproques avec la dendrite de la cellule mitrale/à panache qui les connecte, et jusqu'à récemment cette synapse réciproque était considérée comme la seule formée entre les cellules périglomérulaires et les cellules mitrales/à panache (Toida, 2008). En revanche les cellules de type 2 forment des synapses symétriques avec les cellules mitrales/à panache et reçoivent en retour une synapse asymétrique des cellules mitrales/à panache formant ainsi la synapse réciproque classiquement décrite.

**Les cellules granulaires** qui sont les cellules majoritaires du BO, sont des petits neurones (10µm de diamètre) dépourvus d'axones. Ces cellules possèdent des dendrites secondaires qui s'étendent et se ramifient dans la CCG et une longue et fine dendrite primaire qui entre et se ramifie dans la CPE. La morphologie des cellules granulaires, ainsi que le type de cellules de projection qu'elles connectent, permet de diviser les cellules granulaires en trois groupes (Egger and Urban, 2006;Shepherd et al., 2007) :

- Les cellules granulaires profondes dont les corps cellulaires se situent dans la partie profonde de la CCG, émettent une dendrite apicale qui se ramifie abondamment dans la partie profonde de la CPE où elles font préférentiellement synapse avec les dendrites secondaires des cellules mitrales.

- Les cellules granulaires intermédiaires, qui étendent leur arborisation dendritique à travers toute l'épaisseur de la CPE, établissent des contacts synaptiques avec les deux types de

cellules de projection.

- Les cellules granulaires superficielles, dont les corps cellulaires se situent à la surface de la CCG, étendent leur arborisation dans la CPE superficielle, où elles font synapse avec les dendrites des cellules à panache.

Ces trois groupes peuvent aussi se différencier par les neuropeptides que ces cellules, qui sont toutes GABAergiques (Ribak et al., 1977), co-expriment. Ainsi il a été mis en évidence que l'expression d'enképhaline est spécifique des cellules granulaires profondes, alors que celle du facteur de transcription Er81 est spécifique des cellules granulaires superficielles (Stenman et al., 2003a). De plus, ces différents types cellulaires présentent certaines différences électrophysiologiques (Carleton et al., 2003). Ces résultats plaident donc en faveur d'une hétérogénéité phénotypique et fonctionnelle des cellules granulaires qui suggère l'existence de sous-circuits bulbaires distincts, mais dont la participation au codage de l'information olfactive reste indéterminée.

***Les cellules à axone court*** (8 à 12  $\mu\text{m}$ ) possèdent des dendrites qui se confinent autour d'un glomérule. Les axones de ces cellules courent le long de la périphérie de 2 à 4 glomérules. Ces cellules qui appartiennent à la classe des cellules juxtaglomérulaires, sont des cellules GABAergiques ou glutamatergiques (Brill et al., 2009). Leur présence a été mise en évidence dans la CPE ainsi que dans les couches profondes de la CPI et la CCG. En fonction de l'orientation de leur arborisation dendritique et de la présence ou non d'épines dendritiques, quatre types de cellules à axones courts ont été décrits : les cellules de Blanes, les cellules de Golgi, les cellules verticales de Cajal et les cellules horizontales (Ramon y Cajal, 1911; Schneider and Macrides, 1978). De plus ces cellules semblent avoir des propriétés électrophysiologiques différentes (Eyre et al., 2008), et il a été proposé qu'elles pourraient contrôler l'activité des interneurons GABAergiques (Eyre et al., 2008; Pressler and Stowbridge, 2006).

### **3. Les afférences centrales**

Le BO reçoit un nombre important d'afférences provenant de différentes régions du cerveau, indiquant que son activité est largement contrôlée par le reste du cerveau. En fonction de leur région d'origine, on distingue deux groupes de fibres afférentes : d'une part les afférences issues des structures olfactives, i.e. les régions qui reçoivent des efférences du BO, et d'autre part les afférences provenant des structures non olfactives, qui correspondent donc aux régions du cerveau ne recevant pas d'efférences du BO (Pour revue voir (Matsutani and Yamamoto, 2008)).

### a. Les afférences bulbaires issues des structures olfactives

Ces afférences sont issues des différentes régions du cortex olfactif, telles que le noyau olfactif antérieur (AON), le tenia tecta (TT), le cortex piriforme (CxP), le noyau cortical de l'amygdale (LAN), le cortex entorhinal (CxE) latéral, et le noyau du tractus olfactif latéral (NLOT). Si l'ensemble des neurotransmetteurs libérés par ces afférences n'est pas encore bien déterminé, il semble cependant que leur principale cible soient les épines des dendrites proximales des cellules granulaires, au niveau desquelles les fibres afférentes forment des synapses glutamatergiques. Ces projections centrales sont souvent référencées comme « projection retour », car il existe une connexion réciproque entre le BO et les aires corticales (Figure 4). Cependant l'activité des neurones corticaux et bulbaires ne semble pas symétrique : un ensemble de neurones bulbaires qui projette vers un ensemble de neurones corticaux ne sera pas forcément contrôlé en retour par ce même ensemble cortical.

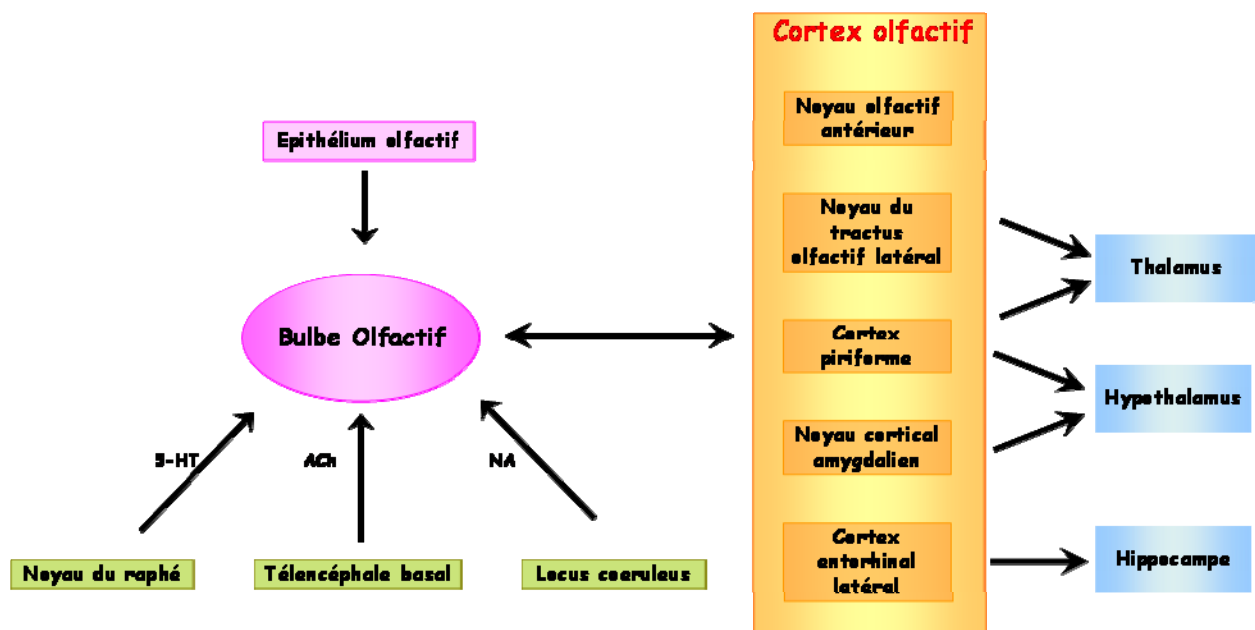


Figure 4 : Organisation des principales connexions anatomiques afférentes au bulbe olfactif.

L'AON est l'unique région du cortex olfactif qui projette à la fois dans le BO ipsilatéral et le BO controlatéral : la pars externa de l'AON (AONe) projette exclusivement vers le BO contralatéral, tandis que la pars medialis (AONm) projette sur le BO ipsilatéral.

Toutes ces afférences centrales projettent dans la CCG et quelques unes dans les couches plus superficielles comme la CPE et la CGL. Le profil de distribution des projections centrales diffère selon leur site d'origine. En effet, les afférences issues de l'AONm, du TT, du CxP, du

LAN et NLOT projettent dans la CCG profonde. On sait que les cellules granulaires profondes connectent seulement les cellules mitrales, alors que les cellules granulaires superficielles connectent les cellules mitrales et les cellules à panache. Il semblerait donc que certaines afférences de la CCG profonde seraient plus impliquées dans la modification d'activité des cellules mitrales.

***b. Les afférences bulbaires issues des structures non-olfactives***

Ces afférences issues de noyaux principaux libèrent principalement la noradrénaline (NA), la sérotonine (5-HT) et l'acétylcholine (ACh).

**Les fibres noradrénergiques :** Le BO reçoit, comme les autres structures du télencéphale, des afférences noradrénergiques du locus coeruleus. La distribution de ces afférences dépend de la couche du BO considérée. En effet, il existe un gradient de distribution croissant des fibres noradrénergiques de la CGL à la CCG, gradient établi de façon précoce puisqu'il est déjà présent au 1<sup>er</sup> jour post-natal (McLean and Shipley, 1991). Les cellules mitrales expriment les 3 types de récepteurs noradrénergiques ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta$ ), tandis que les cellules granulaires expriment uniquement les récepteurs  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$ .

Au niveau fonctionnel, il a été montré que les afférences noradrénergiques permettaient une détection plus sensible des odeurs, en excitant directement les cellules mitrales (Hayar et al., 2001) ou en désinhibant les cellules mitrales à travers l'inhibition des cellules granulaires via leurs récepteurs  $\alpha$  (Jahr and Nicoll, 1982).

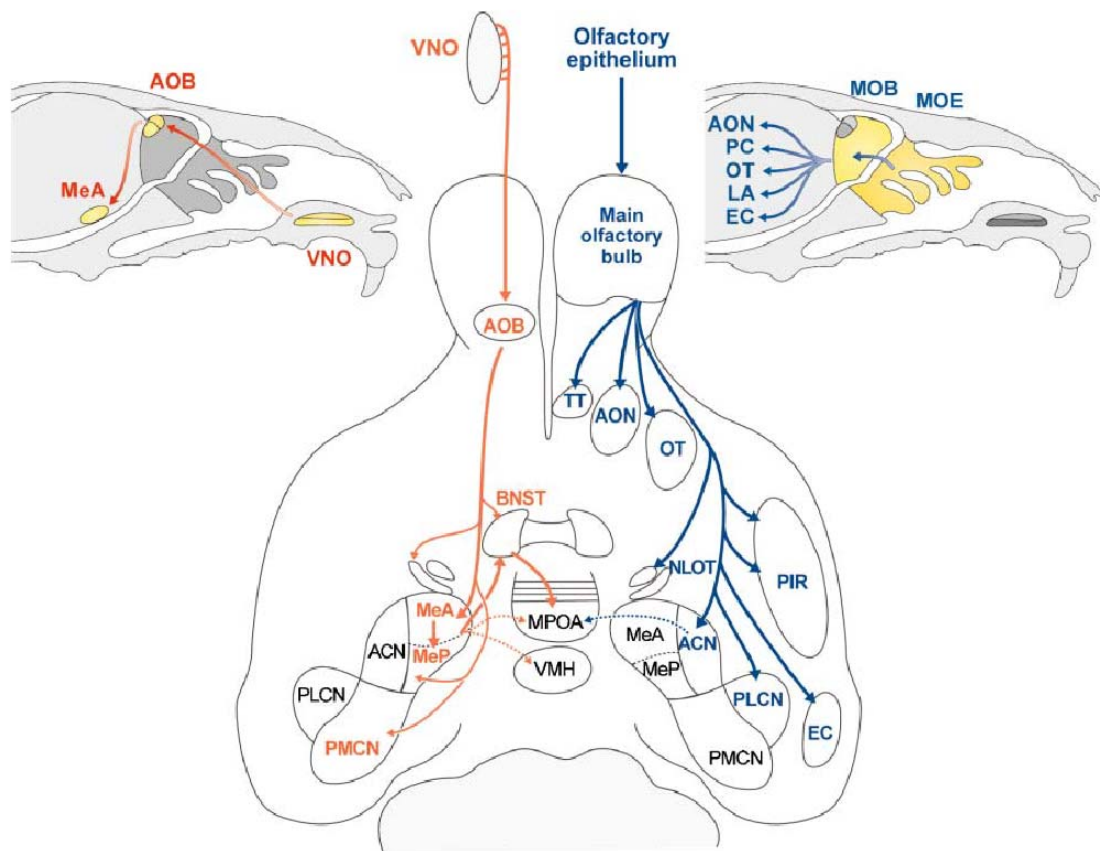
**Les fibres sérotoninergiques :** Le BO reçoit des afférences sérotoninergiques (5-HT) du noyau raphé dorso-médian. Ces fibres sont présentes dans toutes les couches du BO, cependant leur nombre serait plus important dans la CCG. Quelques études fonctionnelles ont montré que la réduction du nombre de fibres 5-HT diminue chez le rat adulte la capacité à discriminer deux odeurs (Moriizumi et al., 1994). De plus, la lésion des fibres 5-HT bulbaires entraîne une atrophie de la couche des nerfs olfactifs ainsi que de la CGL du BO, induisant une anosmie. Il semblerait donc que la 5-HT agisse comme un facteur trophique qui permet le maintien des projections des neurones olfactifs (McLean and Shipley, 1991).

**Les fibres cholinergiques :** Le BO reçoit des afférences cholinergiques du noyau de la branche horizontale de la bande diagonale de Broca. Cette structure connecte également le BO par des afférences GABAergiques. Les fibres cholinergiques innervent toutes les couches du BO, établissant des contacts synaptiques avec les interneurons granulaires, et glomérulaires, ainsi qu'avec les cellules mitrales. L'activation des récepteurs nicotiques des interneurons granulaires par les afférences cholinergiques entraîne la mort de ces cellules, suggérant une

action à long terme de l'acétylcholine, qui pourrait moduler le réseau bulbaire (Mechawar et al., 2004).

#### 4. Les projections centrales

Les axones des cellules de projection qui se regroupent au niveau du tractus olfactif latéral (LOT) connectent le cortex primaire olfactif ipsilatéral, qui lui-même va relier diverses structures corticales (Figure 5).



**Figure 5 : Schéma des projections centrales du bulbe olfactif et du bulbe olfactif accessoire. La cavité nasale des mammifères contient deux catégories de neurones sensoriels anatomiquement et moléculairement différents et qui ne projettent pas sur les mêmes structures cérébrales. Le système olfactif accessoire est composé du bulbe olfactif accessoire (AOB) qui reçoit les afférences sensorielles de l'organe voméronasal (VNO) et qui va projeter vers le noyau cortical de l'amygdale médiane (MeA/MeP) et postéro-médiane (PMCN) ainsi que vers le noyau lit postérieur de la strie terminale (BNSTp). Le système olfactif principal est constitué du bulbe olfactif (MOB), qui reçoit les afférences de l'épithélium olfactif (MOE) et projette vers le noyau cortical antérieur (AON), le noyau cortical de l'amygdale postérolatérale (PLCN), le noyau olfactif antérieur (AON), le tubercule olfactif (OT), le tenia tecta (TT), le cortex piriforme (Pir) et le cortex entorhinal (EC). (Dulac and Wagner, 2006).**

Ces structures sont abondamment interconnectées, et renvoient toutes des efférences centrifuges vers le BO, à l'exception du tubercule olfactif qui reçoit des projections sans en envoyer en retour (Shiple et al., 1985). A leur tour, ces aires primaires sont reliées à d'autres

aires corticales ou sous-corticales non olfactives, comme par exemple, l'hippocampe, l'hypothalamus, le thalamus et le cortex orbito-frontal (Neville and Haberly, 2003; Shipley and Ennis, 1996).

## B. Le traitement de l'information olfactive : réception, codage et transmission

Les signaux olfactifs présents dans l'environnement sont captés au niveau de l'épithélium olfactif, et l'information véhiculée par ces signaux est transmise au BO. Le bulbe constitue ainsi la première étape de traitement durant laquelle l'information olfactive est « affinée ». Enfin cette information est transmise aux aires corticales où elle sera de nouveau traitée et intégrée.

### 1. Traitement périphérique

La liaison d'une molécule odorante à un récepteur olfactif active une protéine G olfactive, Golf, qui stimule une adénylate cyclase de type III, provoquant la synthèse d'un second messenger, l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). L'AMP<sub>c</sub> permet l'ouverture de canaux membranaires CNG (Cyclic nucleotide gated) déclenchant ainsi un influx de cations dépolarisants. Lui même provoque l'ouverture d'un canal chlorique, entraînant une sortie de chlore, à l'origine d'un ou de plusieurs potentiels d'action dans le segment initial de l'axone des neurones sensoriels (Ma, 2007) (Figure 6). Cette information olfactive est transmise par les axones des neurones sensoriels aux cellules de projection du BO.

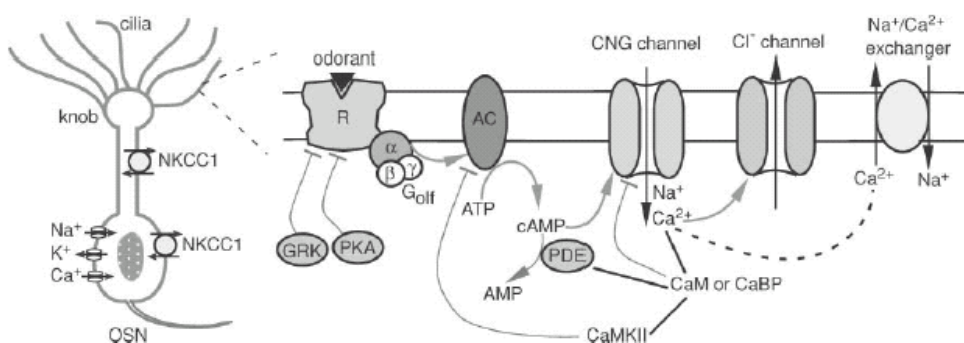


Figure 6 : Voie de transduction du signal olfactif dans les neurones sensoriels olfactifs (Ma, 2007)

### 2. Traitement bulbaire

Au niveau du BO, l'information olfactive provenant des neurones sensoriels est encodée

et affinée avant d'être transmise au cortex olfactif. L'organisation topographique du circuit bulbaire permet de distinguer deux sites de traitement de l'information (Figure 7) (Pour revue voir (Doetsch and Hen, 2005;Saghateljan et al., 2003;Wilson and Mainen, 2006)).

Le premier site de traitement se situe au niveau des glomérules où deux étapes majeures se mettent en place : d'une part, les NSOs transfèrent l'information olfactive aux cellules mitrales et à panache ; d'autre part cette information est modulée par des interneurons inhibiteurs, i.e. les cellules périglomérulaires. Chez la souris, chaque glomérule reçoit les axones de plusieurs milliers de neurones sensoriels (5000 neurones sensoriels/glomérule), et les neurones sensoriels exprimant le même récepteur olfactif vont converger vers un même glomérule, qui va être innervé par les dendrites primaires d'environ 20 cellules mitrales (Mori et al., 1999). Cette convergence représente d'une part une étape de grande amplification du signal et d'autre part elle permet d'augmenter le ratio signal/bruit pour l'information olfactive transmise. En effet, ce dispositif permet à un neurone post-synaptique de collecter les informations de plusieurs afférences situées à différentes localisations de l'EO. De plus au niveau d'un glomérule une cellule mitrale/à panache peut exciter une autre cellule mitrale/à panache via la libération de glutamate. Enfin les cellules mitrales/à panache d'un même glomérule peuvent être couplées électriquement.

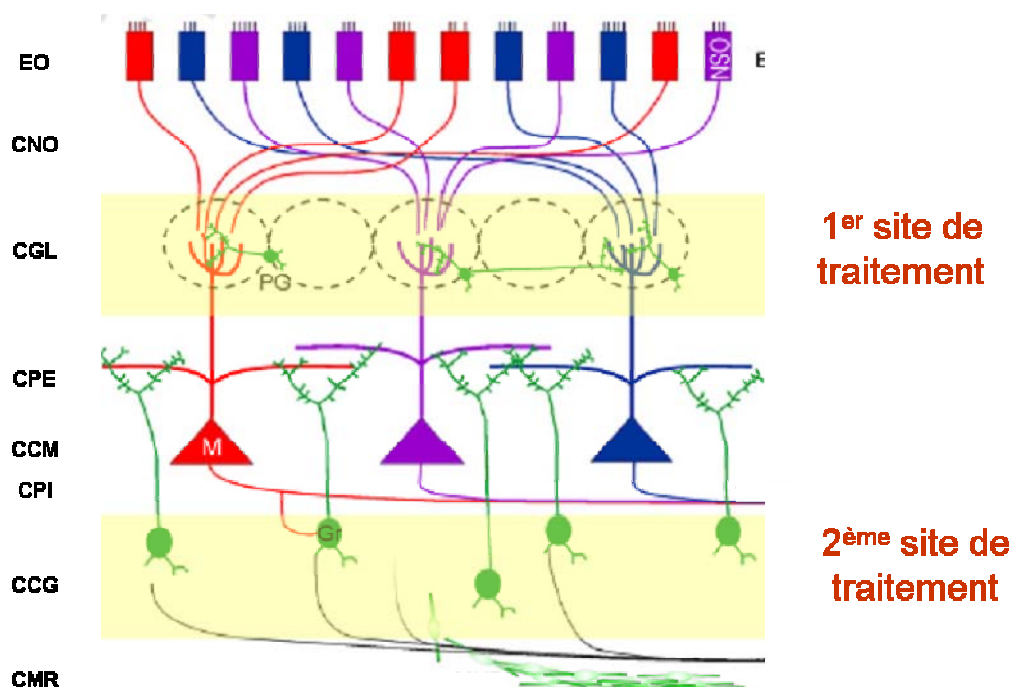


Figure 7 : Schématisation des deux sites de traitement de l'information olfactive dans le BO. (Whitman and Greer, 2009)

Les cellules périglomérulaires qui sont localisées dans la couche glomérulaire peuvent intervenir au sein d'un unique glomérule ou interconnecter différents glomérules. Ces cellules régulent l'information olfactive à deux niveaux : premièrement elles forment une synapse dendro-dendritique réciproque avec les dendrites des cellules mitrales/à panache, et ces dernières, en sécrétant du glutamate, vont activer les cellules périglomérulaires qui en retour vont sécréter du GABA et induire l'inhibition des cellules mitrales/à panache via leurs récepteurs GABA<sub>A</sub>. Deuxièmement, les NSOs forment des synapses excitatrices directes avec les dendrites des cellules périglomérulaires ; ainsi, les cellules périglomérulaires, excitées par les NSOs, vont en retour décharger du GABA et de la dopamine. L'activité des neurones sensoriels, qui possèdent à leur surface des récepteurs GABA<sub>B</sub> et D<sub>2</sub>, peut alors être régulée par les cellules glomérulaires. Une modulation présynaptique de la transmission NSO-cellules de projection est donc fortement concevable. En effet il a été mis en évidence que l'activation présynaptique des récepteurs GABA<sub>B</sub> et D<sub>2</sub> localisés au niveau terminal de l'axone des neurones sensoriels diminue de façon importante la transmission synaptique entre les NSOs et les cellules de projection (Aroniadou-Anderjaska et al., 2000; Ennis et al., 2001; Hsia et al., 1999; Mori et al., 1999).

Le deuxième site de traitement du signal dans le BO se trouve dans la couche plexiforme externe (CPE) où les dendrites de la 2<sup>ème</sup> classe d'interneurones inhibiteurs, les cellules granulaires, forment des synapses dendro-dendritiques avec les dendrites latérales des cellules mitrales/à panache. Au niveau de cette synapse dendro-dendritique, les potentiels d'action des cellules mitrales/à panache se propagent du corps cellulaire vers les dendrites secondaires, provoquant l'ouverture de canaux calciques voltage-dépendant, déclenchant la libération de glutamate. Le glutamate, en se fixant sur ses récepteurs AMPA et NMDA entraîne la dépolarisation des cellules granulaires, provoquant l'activation d'un canal calcique voltage-dépendant, et la libération de GABA.

Ces synapses dendro-dendritiques sont la source d'une inhibition latérale récurrente des cellules de projection. Les cellules mitrales/à panache issues de différents glomérules, qui sont activées en réponse à un grand nombre d'odeurs, reçoivent aussi des afférences inhibitrices des glomérules voisins via les connections dendro-dendritiques inhibitrices. Autrement dit, une faible réponse d'un glomérule à une odeur donnée peut être supprimée par une forte réponse d'une autre unité. Donc en affinant l'information reçue par une cellule mitrale et en affaiblissant l'activité des cellules mitrales voisines, l'inhibition latérale contrôle la qualité et la quantité d'informations transférées du BO vers les aires corticales. (Saghatelian et al., 2003). Enfin, dans le BO, le rapport entre les interneurones GABAergiques et les neurones excitateurs est de 100 pour 1, ce qui est très important comparé à d'autres régions du cerveau tel que le néocortex où il



est de 1 pour 5 (Markram et al., 2004). La balance entre excitation et inhibition dans le BO est relativement conservée chez toutes les espèces de mammifères, suggérant que les neurones inhibiteurs jouent un rôle essentiel dans le traitement de l'information olfactive, en modulant par un contraste spatial et un codage temporel, les informations entrantes et sortantes au niveau du BO.

### **3. Traitement cortical**

Le système olfactif des mammifères diffère des autres systèmes sensoriels par l'absence de relais thalamique entre le bulbe olfactif et le cortex olfactif. En effet la chaîne neuronale qu'empruntent les messages olfactifs pour atteindre le cortex est courte, car les neurones du BO projettent directement vers le cortex primaire. Les différentes structures qui constituent le cortex olfactif primaire sont la couche plexiforme superficielle de l'AON, le CxP (plus grande aire), le cortex périamygdalien, le CxE latéral, le TT, la continuation de l'hippocampe antérieur, l'indusium griseum et le LOT. (Shipley and Ennis, 1996). Ces différentes structures connectent à leur tour des régions de l'hypothalamus, du système limbique et du néocortex, impliquées dans les réponses émotionnelles et cognitives (Figure 8).

Les cellules mitrales émettent des efférences vers l'ensemble du cortex olfactif, tandis que les cellules à panache projettent surtout vers les aires antéro-médianes (cortex olfactif antérieur, tubercule olfactif, partie rostro-ventrale du cortex antérieur) et n'atteignent ni la partie postérieure du CxP, ni les cortex amygdalien et entorhinal (Haberly and Price, 1977; Macrides and Schneider, 1982; Schoenfeld and Macrides, 1984; Scott et al., 1980). Le CxP qui est considéré comme le cortex olfactif primaire est constitué de 3 couches (Wilson, 2001). Le tractus latéral olfactif (LOT) regroupe les axones des cellules mitrales qui se branchent et se terminent dans la couche superficielle du cortex (couche Ia), où ils font synapse avec les dendrites apicales des neurones pyramidaux superficiels (couche Ia) et profonds (couche III). Les corps cellulaires des neurones pyramidaux sont localisés dans les couches II et III. La 3<sup>ème</sup> classe de neurones, les neurones semilunaires, dont les corps cellulaires sont localisés dans la couche II du cortex, ne présentent pas de dendrites basales, mais possèdent de nombreuses dendrites apicales qui s'étendent dans la couche Ia du cortex. Enfin, on trouve de nombreux interneurons dans les couches I et III. Les parties antérieure et postérieure du cortex piriforme diffèrent morphologiquement et semblent être fonctionnellement distinctes ; en effet les terminaisons synaptiques des axones du LOT sont très concentrées dans la partie antérieure du CxP, alors qu'elles sont distribuées de façon plus éparse dans sa partie postérieure (Haberly, 2001).

On sait que les neurones de projections qui reçoivent les entrées sensorielles d'un seul

glomérule ne projettent que dans les régions du cortex olfactif qui leur est spécifique (Zou et al., 2001), ce qui suggère que dans le cortex olfactif se produit un codage spatial de l'information, capable d'amplifier les informations transmises par le BO. Cependant, l'ensemble des études électrophysiologiques réalisées dans le cortex olfactif tend à montrer que la réponse à une odeur est spatialement moins organisée que dans le BO (Zou et al., 2001). Ainsi le message provenant d'un NOS peut être envoyé à de multiples aires corticales aussi bien qu'à différents sites d'une même région corticale. Puisque les différentes aires corticales transmettent l'information à différentes régions du cerveau, une information provenant d'un même récepteur olfactif peut alors atteindre différentes régions du cerveau, soutenant différentes fonctions.

La complexité de ces réseaux contribue donc à la représentation consciente ou inconsciente d'une odeur, à son apprentissage, à sa mémorisation et à son contenu émotionnel (Rolls, 2004; Slotnick, 2001; Sullivan and Wilson, 2003; Wilson and Stevenson, 2003). Ainsi le circuit qui relie le cortex piriforme au thalamus et au cortex orbito-frontal semble impliqué dans le mécanisme conscient de la perception de l'odeur, le cortex piriforme est crucial pour les tâches de discrimination complexe, de mémorisation olfactive, et de consolidation de cette mémoire (Staubli et al., 1987; Thanos and Slotnick, 1997; Wilson et al., 2004), et enfin l'amygdale et l'aire entorhinale sont des composants du système limbique qui sont impliqués dans la dimension affective de l'odeur (Figure 8).

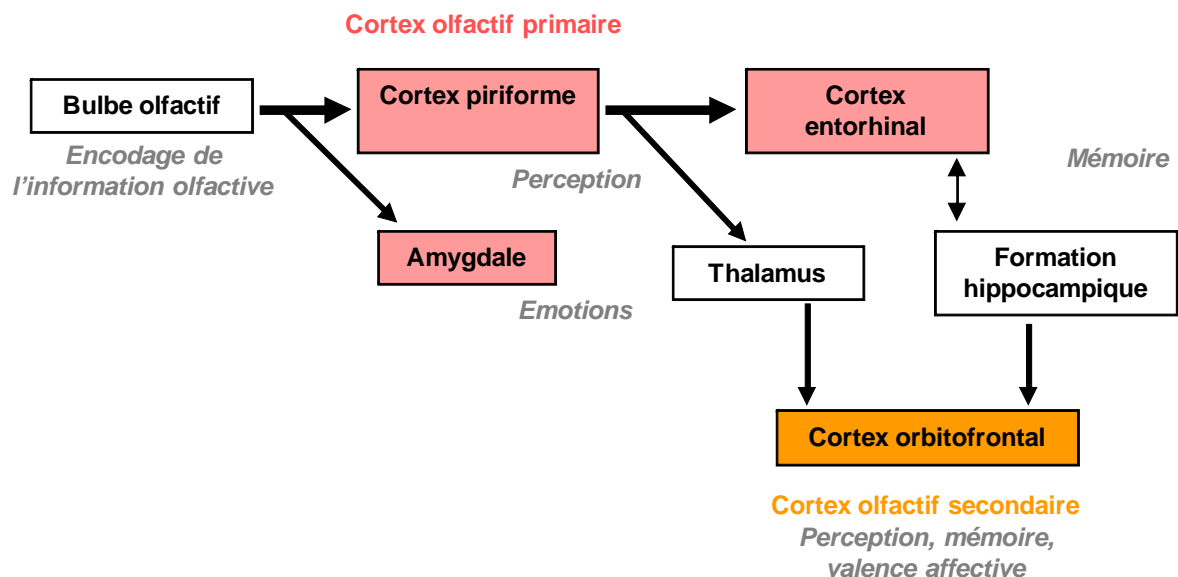


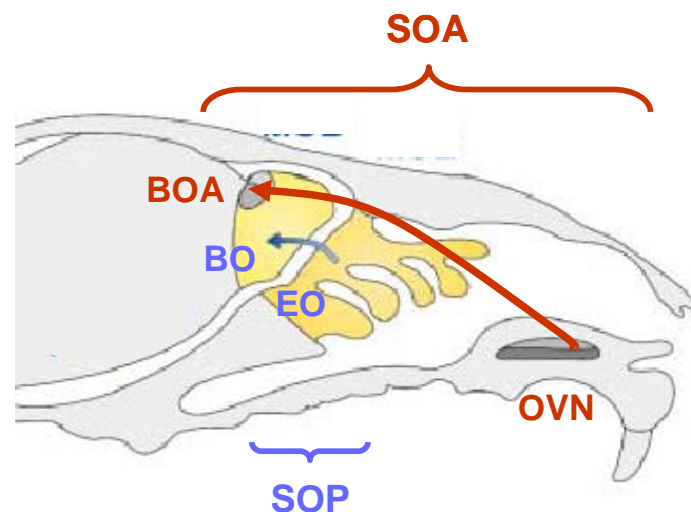
Figure 8 : Les différentes structures de projection du BO et leurs implications fonctionnelles

### C. Implication de l'olfaction dans les interactions sociales

Les interactions sociales sont d'une importance considérable aussi bien pour l'Homme que pour l'animal. Il n'est donc pas surprenant que le cerveau ait développé des fonctions spécifiques pour le contrôle du comportement social, la reconnaissance ou l'attraction pour un tiers. Il a même été proposé que ce soit la complexité de l'environnement social qui ait conduit à l'évolution du cerveau et des fonctions cognitives (Dunbar RIM, 1998).

Parmi toutes les stratégies de communication développées par les mammifères, l'odorat est la plus répandue et la plus conservée (Swaney and Keverne, 2009). En effet l'olfaction joue un rôle dans la mise en place de comportements divers et variés, allant du comportement de fuite face aux prédateurs à la recherche d'une nourriture viable, en passant par la recherche du meilleur partenaire sexuel, et à la mise en place d'un comportement maternel adéquat. (Hebb et al., 2004; Lin et al., 2005; Nyby et al., 1985).

Le système olfactif des mammifères est capable de reconnaître des odeurs volatiles conventionnelles et des phéromones sensorielles. Il est divisé en deux sous-unités, le système olfactif principal (SOP), que nous avons détaillé précédemment, et le système olfactif accessoire (SOA) constitué de l'organe voméronasal (OVN) associé au bulbe olfactif accessoire (BOA) (Figure 9).



**Figure 9** Schéma des deux systèmes olfactifs d'un cerveau adulte de rongeurs. SOA : Système olfactif accessoire, OVN : Organe voméronasal, BOA : Bulbe olfactif accessoire, SOP : Système olfactif principal, EO : Epithélium olfactif, BO : Bulbe olfactif.

## 1. Odeurs sociales / odeurs neutres

### a. Définitions

Dans le champ de la communication chemosensorielle, Karlson et Lüscher ont introduit, en 1959, le concept de « phéromones », les définissant comme « des substances qui sont sécrétées par un individu et reçues par un second individu de la même espèce, dans lequel les phéromones vont provoquer une réaction telle qu'un comportement spécifique ou qu'un processus réactionnel » (KARLSON and LUSCHER, 1959).

Les différents critères que doit posséder une substance pour être considérée comme une phéromone sont : 1) Simplicité chimique du signal, 2) Clarté, stabilité morphologique et évidence fonctionnelle de la réponse du receveur, 3) Grande sélectivité du couplage stimulus-réponse, 4) Réponse spécifique de l'espèce, 5) Couplage stimulus-réponse non conditionné, et 6) Emission de la substance spécifique de l'espèce (Schaal et al., 2003). Cependant, toutes les substances chimiques provoquant des réponses physiologiques ou comportementales chez l'individu qui les reçoit, ne remplissent pas l'ensemble de ces critères. Par conséquent il existe un grand nombre de controverses à propos de l'utilisation et de la définition du terme « phéromones ». De ce fait, dans cette thèse le terme d'« odeurs sociales » sera préféré à celui de phéromones, et par opposition nous considérerons comme « odeurs neutres », toutes les odeurs de l'environnement qui ne sont pas émises par les congénères.

On peut distinguer différentes classes d'odeurs sociales (phéromones urinaires, peptides sécrétés par les glandes exocrines, peptides ligands du complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH), parmi lesquelles une attention particulière peut être apportée au CMH qui joue un rôle majeur dans la mise en place du comportement reproducteur et maternel. Le CMH correspond à un ensemble de gènes qui codent pour des protéines membranaires de surface exprimées par toutes les cellules, à l'exception des neurones et des hématies. Le CMH permet donc au système immunitaire de différencier les cellules du « soi » de celles du « non-soi ». Chaque individu, à l'exception des vrais jumeaux, possède un CMH dissemblable. Le mécanisme par lequel les odeurs sont spécifiques du CMH n'est pas totalement établi. Cependant, il semblerait que chaque CMH lierait préférentiellement différentes séquences peptidiques de telle sorte que pour chaque individu, un unique lot de protéines se lie au CMH. Lors du renouvellement cellulaire, le complexe CMH-protéine est répandu dans le milieu extracellulaire, et les fragments de ces protéines sont ensuite excrétés dans les fluides corporels. Ces protéines semblent devenir volatiles par l'action de la microflore commensale, donnant ainsi naissance à une odeur unique pour chaque individu (Boehm and Zufall, 2006).

### ***b. Implication des deux systèmes olfactifs dans la détection des odeurs sociales***

Durant de nombreuses années, on a attribué la détection des odeurs neutres au SOP et celle des odeurs sociales au SOA. En effet, la disposition des deux réceptacles sensoriels que sont l'EO et l'OVN mène à l'idée que la détection des molécules odorantes neutres est réalisée par l'EO alors que celle des odeurs sociales l'est par l'OVN. Ainsi, l'EO borde les niches postérieures de la cavité nasale, ayant ainsi un accès favorisé aux stimuli volatils de l'air inspiré, alors que l'OVN est un tube en cul de sac, localisé à la base de la cloison nasale, qui s'ouvre via un petit conduit, soit vers la cavité nasale soit vers la bouche (selon les espèces).

Cependant des études récentes montrent que cette séparation anatomique n'est pas obligatoirement associée à une séparation fonctionnelle et que les deux systèmes peuvent être impliqués dans la détection des odeurs sociales (Baxi et al., 2006). Ainsi, des études ont mis en évidence que le BOA pouvait être activé par des odeurs neutres présentes dans l'air inspiré (Trinh and Storm, 2003; Xu et al., 2005) et, réciproquement, que le SOP pouvait détecter des odeurs sociales (Dorries et al., 1997; Lin et al., 2005). De plus, chez l'Homme, bien qu'un OVN ait été détecté, sa fonctionnalité n'a jamais été mise en évidence (Smith et al., 1998; Doty, 2001) et pourtant l'exposition à des extraits axillaires provenant de femmes en phase folliculaire entraîne la réduction de la durée du cycle menstruel (Stern and McClintock, 1998) et l'exposition à des extraits axillaires d'hommes modifie la sécrétion pulsative de l'Hormone Lutéinique (LH) ainsi que l'humeur (Preti et al., 2003).

Le mécanisme sous-jacent de la détection d'un même signal odorant par les neurones sensoriels de l'OVN et de l'OE dépend de mécanismes de transduction différents. En effet, au niveau des neurones sensoriels de l'EO, la fixation des molécules odorantes sur leurs récepteurs provoque l'ouverture du canal cationique CNG (composé de 3 sous-unités CNGA2, CNGA4 et CNGB1b), alors que leur fixation sur les récepteurs olfactifs de neurones sensoriels de l'OVN, provoque l'ouverture du canal cationique TRPC2. Enfin, il est important de noter que même si un même signal olfactif peut être détecté par les deux systèmes, l'activation de ces systèmes mènera à des sorties comportementales différentes, sans redondance de l'information (Spehr et al., 2006).

## ***2. Rôle de l'olfaction dans les comportements reproducteurs***

Le comportement de reproduction, dont la finalité réside dans la pérennité de l'espèce, peut être divisé en plusieurs phases, la première étant le choix du partenaire sexuel, et la seconde le comportement sexuel ou copulatoire *per se*. Nous aborderons tout d'abord ici la phase de

sélection du partenaire qui diffère entre le mâle et la femelle puisque si le mâle parade, la femelle choisit. Plusieurs questions ont retenu notre attention. Quel est le rôle joué par les odeurs sociales dans le choix du partenaire ? Quel est le système olfactif impliqué dans la mise en place de cette préférence? Puis nous aborderons l'implication du système olfactif dans le comportement sexuel, ainsi que dans le déclenchement de l'effet Bruce. Puisque des différences inter-espèces ont été mises en évidence, les données relatives à la souris, qui a constitué le sujet de nos études, seront préférentiellement présentées ici.

### ***a. Choix du partenaire sexuel***

Il existe chez la souris un mécanisme de sélection du partenaire sexuel (Boehm and Zufall, 2006; Yamazaki et al., 1976) puisque les femelles s'accouplent préférentiellement avec des mâles possédant un CMH très éloigné du leur. La femelle évalue les CMH des mâles grâce aux odeurs qu'ils émettent. Ainsi, l'olfaction devient un composant central dans l'évolution des espèces, puisque l'accouplement de deux êtres ayant des CMH différents donne naissance à une progéniture ayant une importante variété d'allèles codant pour le CMH. Cette progéniture présentera donc normalement un système immunitaire plus performant que celui de ses parents et par conséquent une meilleure chance de survie.

Puisque, comme nous l'avons vu, les deux systèmes olfactifs sont capables de détecter les odeurs sociales, la question du rôle de chacun d'entre eux dans la sélection du partenaire se pose. Il a été montré que la lésion de l'EO abolit, pour chaque sexe, la préférence pour l'odeur du sexe opposé, alors que la lésion de l'OVN n'a pas d'impact sur cette discrimination olfactive (Keller et al., 2006a; Keller et al., 2006c), indiquant que seul le SOP serait impliqué. L'utilisation de modèles transgéniques qui permettent d'inactiver l'un ou l'autre des deux systèmes sans altérer leur intégrité a confirmé mais aussi infirmé ces résultats. Ainsi, des souris mâles mutées pour la sous-unité A2 du canal CNG, spécifique du SOP, sont incapables de discriminer l'odeur d'une femelle de celle d'un mâle, confirmant ainsi le rôle du SOP (Mandiyan et al., 2005). Cependant, deux études utilisant des souris mâles KO pour le canal TRP2 (*Trp2<sup>-/-</sup>*) ont mis en évidence une diminution des réponses électrophysiologiques des neurones sensoriels de l'OVN lors de l'exposition à des odeurs d'urine (Leypold et al., 2002; Stowers et al., 2002). De plus, au niveau comportemental, les mâles *Trp2<sup>-/-</sup>* présentent un comportement reproducteur atypique, puisqu'ils montent autant les mâles que les femelles. Ces études suggèrent donc que l'OVN est nécessaire à la discrimination des deux sexes, et donc au choix du partenaire sexuel, infirmant par là les résultats obtenus dans les études lésionnelles. Cependant, l'implication du SOA dans la discrimination des deux sexes reste une question débattue puisque les études utilisant les souris *Trp2<sup>-/-</sup>* n'ont pas testé directement la capacité des souris à

discriminer les odeurs de mâles de celles de femelles.

### ***b. Comportement copulatoire***

Chez la souris mâle, la lésion de l'OVN n'a pas d'incidence sur le comportement reproducteur (Pankevich et al., 2004), alors que la lésion de l'EO rend les mâles lésés chimiquement incapables de copuler (Keller et al., 2006b; Yoon et al., 2005) suggérant que seul le SOP est impliqué. En revanche, chez les souris femelles la destruction de l'EO entraîne une anomalie du comportement de lordose (Edwards and Burge, 1973; Thompson and Edwards, 1972), mais celle-ci est bien moindre que celle provoquée par l'ablation de l'OVN (Keller et al., 2006a), indiquant que les deux systèmes seraient impliqués.

L'utilisation de modèles transgéniques a permis de confirmer l'implication de l'OVN dans la mise en place d'un comportement reproducteur spécifique de chaque sexe. Ainsi, le comportement atypique des mâles *Trp2<sup>-/-</sup>* qui montrent autant les mâles que les femelles indique que l'OVN est nécessaire à la mise en place d'un comportement copulatoire approprié (Leypold et al., 2002; Stowers et al., 2002). Dans la même veine, il a été montré que les souris femelles *Trp2<sup>-/-</sup>* présentent un comportement reproducteur masculin spécifique (Kimchi et al., 2007). Quant au SOP il semble également impliqué puisque les souris mâles mutées pour le canal CNGA2 sont incapables d'avoir un comportement copulatoire normal (Mandiyan et al., 2005).

Pour conclure, les études lésionnelles et de transgénèse mettent en évidence que le SOA est impliqué dans la mise en place d'un comportement sexuel spécifique de chaque sexe, et que le SOP est impliqué dans la mise en place du comportement copulatoire. En revanche il n'y a pas de consensus sur l'implication de l'un ou l'autre des deux systèmes olfactifs dans la discrimination des odeurs des congénères.

### ***c. Effet Bruce***

L'effet Bruce a été découvert en 1959 par Hilda M Bruce (BRUCE, 1959). Dans son étude, Bruce met en évidence que l'exposition de souris femelles récemment gestantes aux odeurs d'un mâle qui n'est pas le géniteur entraîne un avortement spontané. Cet avortement est provoqué par une baisse de progestérone, résultant de l'inhibition de la production de prolactine (PRL). Cependant, du 4<sup>ème</sup> au 6<sup>ème</sup> jour de gestation, c'est à dire durant la phase critique précédant l'implantation des embryons, les femelles deviennent résistantes à l'effet Bruce (Chung et al., 1997). Les mécanismes de cette résistance, et donc de protection de la gestation, sont peu connus, mais il semblerait que les femelles, lors de cette période, ne détectent pas les phéromones contenues dans l'urine des mâles. En effet, elles sont alors incapables de distinguer

l'urine d'un mâle de celle d'une femelle en œstrus.

Les deux systèmes olfactifs ont été incriminés respectivement dans la mise en place et la résistance à l'effet Bruce. Ainsi, l'OVN serait impliqué dans la mise en place de l'effet Bruce, tandis que la résistance à l'effet Bruce impliquerait le SOP (Bellringer et al., 1980; Lloyd-Thomas and Keverne, 1982). En effet l'incapacité à discriminer les odeurs de mâles et de femelles qui caractérise la période de résistance à l'effet Bruce serait due à une augmentation de dopamine dans le bulbe olfactif principal et à l'activation des récepteurs dopaminergiques D<sub>2</sub>. Ainsi, un traitement avec un antagoniste au récepteur D<sub>2</sub>, six jours après l'accouplement, restaure la perception des odeurs « sociales » et provoque un blocage de la gestation par inhibition de la sécrétion de prolactine, lorsque les femelles sont exposées à l'urine de mâle étranger (Serguera et al., 2008). D'autre part, l'augmentation de dopamine aurait également pour conséquence de bloquer les informations provenant du SOA, suggérant que les voies du SOP moduleraient les entrées sensorielles du BOA provenant de l'OVN. L'effet Bruce constitue donc un nouvel exemple de l'implication conjointe des deux systèmes olfactifs dans la mise en place d'un comportement.

### **3. Rôle de l'olfaction dans la maternité**

Si l'olfaction joue un rôle prédominant dans la mise en place du comportement reproducteur, son rôle s'étend bien au-delà puisqu'elle est également impliquée dans la mise en place du comportement maternel qui nécessite une reconnaissance de l'odeur des petits (pour revue (Levy et al., 2004)).

#### ***a. Appréciation de l'odeur de petits***

##### *α. Chez les femelles vierges*

Quelle que soit l'espèce (excepté la souris), les femelles vierges présentent systématiquement un comportement de fuite ou d'agression face à des nouveau-nés, lequel est lié à une aversion pour l'odeur émise par le nouveau-né (odeurs du placenta, du liquide amniotique) (Kristal and Graber, 1976). En revanche, si on supprime le sens olfactif chez ces femelles vierges, soit en inactivant le SOP (bulbectomie, application de sulfate de zinc sur l'épithélium olfactif), soit en inactivant le SOA (lésion des efférences de l'OVN, blocage pharmacologique de la transmission GABAergique dans le BOA), elles développent un comportement maternel (Carretero et al., 2003; Fleming et al., 1979; Fleming and Rosenblatt, 1974). Ces données suggèrent donc que les deux systèmes olfactifs sont impliqués dans l'inhibition du comportement maternel chez les femelles vierges.



Les mécanismes neurobiologiques sous-tendant l'action inhibitrice des indices olfactifs sur le comportement maternel ont été particulièrement étudiés chez le rat. Ainsi, il a été mis en évidence que cette inhibition est exercée par les régions cérébrales recevant des projections chemosensorielles, comme les noyaux cortical et médian de l'amygdale et le noyau ventromédian de l'aire préoptique (VMH). Ces sites projettent vers l'aire préoptique médiane (MPOA), qui joue un rôle essentiel dans la régulation du comportement maternel (Numan, 2006). L'amygdale reçoit les efférences des deux systèmes olfactifs et du VMH et projette directement vers le MPOA. L'activation du système olfactif va entraîner une augmentation de l'activité neuronale dans les circuits de l'amygdale médiane, qui va à son tour inhiber l'activité dans le MPOA et conduire à une diminution du comportement maternel (Gardner and Phillips, 1977; Morgan et al., 1999) (Figure 10).

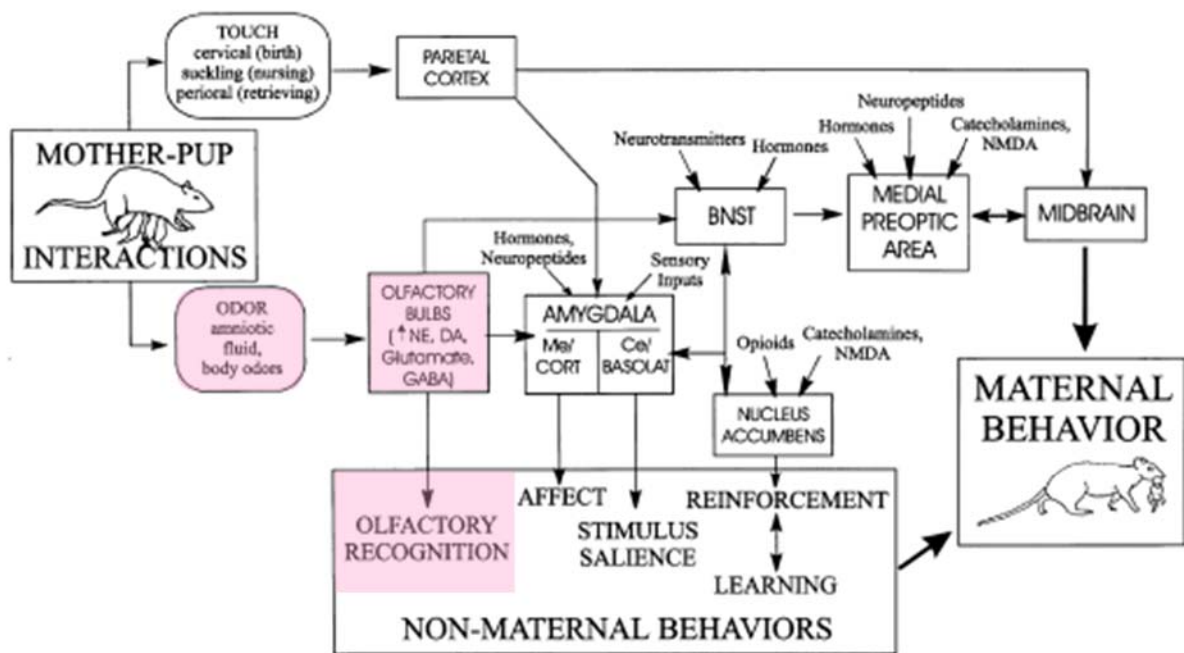


Figure 10 : Schéma des différents mécanismes cérébraux induisant le comportement maternel (Fleming et al., 1999).

### *β. Chez les femelles parturiantes*

Contrairement à ce que l'on peut observer chez les femelles vierges, au moment de la parturition, les mères présentent une réponse favorable aux odeurs des petits, laquelle est déterminante dans le déclenchement du comportement maternel. Une étude effectuée chez la brebis a montré que les femelles présentent une aversion pour l'odeur du liquide amniotique durant le cycle œstrien et la gestation tandis qu'elles sont attirées par cette odeur dans les heures

qui suivent la parturition (Levy et al., 1983). De plus, une étude chez l'Homme a montré que les jeunes mamans montrent une préférence plus importante pour les odeurs de bébés que les femmes sans enfants (Fleming et al., 1993).

Dans l'ensemble, ces données indiquent qu'il s'établit, lors de la parturition, un profond changement dans l'appréciation de l'odeur des petits. Ce changement est provoqué par des modifications physiologiques qui se produisent lors de la parturition, notamment la stimulation vagino-cervicale (SVC) liée au travail, qui semble indispensable à la mise en place du comportement maternel. Ainsi, une étude a montré qu'une anesthésie péridurale durant la parturition altérait l'attrance des femelles pour le liquide amniotique (Levy et al., 1992). De plus, la SVC entraîne une libération d'ocytocine (OT) dans le cerveau, laquelle provoque une attirance pour le liquide amniotique (Kendrick et al., 1986; Kendrick et al., 1992a; Levy et al., 1992). Puisque la présence de nombreux récepteurs à l'OT a été mise en évidence dans les régions olfactives du cerveau (Broad et al., 1999), il a été proposé que l'ocytocine puisse agir, en particulier au niveau du BO, dans l'induction du changement d'appréciation de l'odeur des petits.

En résumé, ces études montrent que la parturition et les changements hormonaux qui lui sont associés modifient le comportement des mères à l'égard de l'odeur du nouveau-né. Cependant, plusieurs questions restent posées : l'olfaction est-elle nécessaire au déclenchement du comportement maternel ? Si oui, quel est le système olfactif impliqué dans ce déclenchement ? Enfin, une fois le comportement maternel déclenché, quel est le système olfactif impliqué dans la reconnaissance du petit ?

### ***b. Comportement maternel et reconnaissance de la progéniture***

Les résultats concernant la mise en place du comportement maternel et la reconnaissance des petits diffèrent selon les espèces. Ainsi, chez les mammifères, on distingue deux types d'espèces : les espèces «nidicoles» et les espèces « précoces ».

#### *α. Les espèces nidicoles*

Les espèces nidicoles (rongeurs, canins, félins, marsupiaux) sont des espèces qui donnent naissance à plusieurs petits. Durant les dix premiers jours post-partum, les petits restent au nid et par conséquent, il n'est pas nécessaire pour la mère de reconnaître individuellement ses petits. En fonction de l'espèce considérée, l'olfaction est plus ou moins impliquée dans le déclenchement du comportement maternel, et nous évoquerons ici les deux espèces les plus couramment utilisées en laboratoire : le rat et la souris.

**Déclenchement du comportement maternel :** Chez le rat, aucun des deux systèmes olfactifs ne semble impliqué dans le déclenchement du comportement maternel. En effet, ce comportement n'est pas altéré par une lésion de l'EO ou une bulbectomie effectuée sur des femelles en pre-partum (Jirik-Babb et al., 1984; Kolunie and Stern, 1995). De même, l'ablation de l'OVN, ainsi que la section des afférences sensorielles du BOA, n'ont aucun effet sur sa mise en place (Fleming et al., 1992; Kolunie and Stern, 1995). Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ces résultats : 1) il existe une redondance dans l'implication des deux systèmes dans le déclenchement du comportement maternel, i.e. que les deux systèmes ont la même fonction, et que lorsque l'un est inactif, l'autre prend le relai, ou 2) l'olfaction n'est pas nécessaire à la mise en place du comportement maternel.

La souris, à l'inverse du rat, est un modèle animal pour lequel l'olfaction joue un rôle primordial dans la mise en place du comportement maternel. En effet, les mères dont le SOP a été altéré (bulbectomie, lésion de l'EO et section des afférences noradrénergiques du BO) (Dickinson and Keverne, 1988; Seegal and Denenberg, 1974; Vandenberg, 1973) ne construisent pas de nid pour accueillir leurs petits et présentent un comportement cannibale (Vandenberg, 1973). En revanche, l'ablation de l'OVN n'altère pas le comportement maternel (Lepri et al., 1985). Si le SOP est primordial dans la mise en place du comportement maternel chez les femelles primipares, en revanche chez les femelles multipares, l'absence du SOP n'altère pas le comportement maternel (Seegal and Denenberg, 1974), suggérant donc que l'expérience maternelle compense l'inactivation du SOP. Pour conclure, chez les espèces nidicoles, l'implication de l'olfaction dans le déclenchement du comportement maternel diffère en fonction des espèces étudiées ainsi qu'en fonction de l'expérience maternelle.

**Discrimination sexuelle des petits :** Chez ces deux espèces, l'OVN semble impliqué dans la discrimination sexuelle des petits. En effet, la mère est capable de différencier les mâles des femelles grâce aux odeurs sociales qu'ils émettent (Brouette-Lahlou et al., 1999). En effet, les petits sécrètent au niveau anogénital une odeur très attractive pour la mère: le propionate de dodecyle (Brouette-Lahlou et al., 1991a; Brouette-Lahlou et al., 1991b), dont la concentration locale est plus importante chez les mâles que chez les femelles, ce qui explique pourquoi les mères les lèchent plus. Ce léchage préférentiel est indispensable à la sexualisation du cerveau (Birke and Sadler, 1985).

**Reconnaissance des petits :** Dans le contexte de reconnaissance olfactive du petit, les odeurs issues du CMH jouent un rôle important. Il a été mis en évidence la présence d'odeurs issues du CMH chez des souriceaux âgés d'un jour (Yamazaki et al., 1992). De plus, une étude réalisée chez la souris a montré que les mères ramenaient préférentiellement au nid les petits qui

leur sont génétiquement proches (Yamazaki et al., 2000) et il semblerait que le SOP soit impliqué dans cette reconnaissance. En effet, si une souris ramène au nid préférentiellement ses petits, cette préférence est abolie après bulbectomie.

### *β. Les espèces précoces*

Les espèces précoces (équidés, bovidés...) sont des espèces qui ne donnent souvent naissance qu'à un seul petit, capable de se déplacer quelques heures après sa naissance. Ces espèces sont nomades et vivent en groupe. Il est donc indispensable pour la mère de reconnaître son propre petit, afin de le nourrir et de ne pas donner son lait à un petit qui n'est pas le sien. Dans ces conditions, il apparaît crucial pour la mère de mettre en place une reconnaissance olfactive. En effet, la reconnaissance physique du petit pouvant prendre plusieurs semaines (Kendrick, 1994), les femelles utilisent l'olfaction, qui est un sens plus efficace que la vision pour reconnaître leur petit. Pour cela, les mères vont se servir des différents signaux olfactifs émis par le pelage et la peau. La brebis est l'espèce précoce la plus étudiée dans le domaine du comportement maternel et de la reconnaissance olfactive.

***Déclenchement du comportement maternel :*** Les indices olfactifs provenant du petit et qui déclenchent le comportement maternel sont les odeurs du liquide amniotique. Ainsi, la présentation d'un agneau lavé à une mère entraîne une réduction de la durée de léchage et une augmentation du comportement d'agressivité vis-à-vis du petit (Levy F. and Poindron.P, 1984). Comme pour la souris, le système impliqué dans le déclenchement du comportement maternel semble être le SOP. En effet, des brebis anosmiques passent moins de temps à lécher leurs petits que des brebis témoins, alors que celles dont l'OVN a été lésé ne montrent qu'une petite perturbation du comportement maternel (Levy et al., 1995b). Cependant, comme pour la souris, chez les brebis multipares, l'inactivation du SOP n'altère pas le déclenchement du comportement maternel.

***Reconnaissance du petit :*** La brebis est capable de former une mémoire de reconnaissance du petit 2 à 4 heures après la parturition et rejettera un agneau étranger après ce laps de temps. (Kendrick et al., 1992b). La période d'apprentissage de l'odeur du petit et le comportement d'acceptation maternelle sont dépendants de l'environnement hormonal de la fin de gestation et sont déclenchés par la stimulation vagino-cervicale qui se produit lors de la parturition. En effet, trois jours après la parturition il est possible de faire adopter à une brebis un agneau étranger en reproduisant une SVC de façon mécanique (Kendrick et al., 1991). Au fur et à mesure de leurs gestations, les brebis apparaissent de plus en plus efficaces dans la reconnaissance de leur petit, cette amélioration étant liée à des changements durables dans le

BO, impliquant une régulation des récepteurs des neurones olfactifs et une augmentation de la sensibilité à la stimulation vagino-cervicale (Levy et al., 1993).

Les différentes études qui se sont intéressées à la discrimination olfactive du petit ne s'accordent pas sur le système olfactif impliqué. D'une part il a été montré que l'inactivation du SOP (bulbectomie, section des afférences sensorielles, lésion de l'EO) abolit la préférence des mères pour leur propre petit (Baldwin and Shillito, 1974;Levy et al., 1995b;Romeyer et al., 1994), et que l'inactivation du SOA n'a pas d'impact sur la discrimination olfactive maternelle (Levy et al., 1995b), suggérant que la reconnaissance olfactive du petit repose sur le SOP. Cependant une étude de Booth et collaborateurs implique quant à elle le SOA (Booth and Katz, 2000). L'implication respective des deux systèmes olfactifs reste donc à affiner.

### ***c. Structures cérébrales impliquées dans la reconnaissance olfactive du petit***

L'étude de l'expression des ARNm ou des protéines des gènes à expression précoce, tels que *cfos* ou *zif 268*, a permis de mettre en évidence les substrats neuroanatomiques impliqués dans la reconnaissance olfactive du petit. Les brebis post-partum exposées à leur agneau durant 30 minutes présentent, comparées aux animaux témoins, une augmentation de l'expression d'ARNm de *cfos* et de *zif 268* dans le BO, le cortex piriforme, le cortex entorhinal et le cortex orbito-frontal (Da Costa et al., 1997). Chez la souris, une courte période d'exposition aux petits entraîne une augmentation de l'expression de Fos dans les cellules granulaires et mitrales du BO, ainsi que dans le cortex piriforme (Richter et al., 2005), ce qui souligne l'analogie des voies anatomiques entre les deux espèces.

Bien que ces structures soient activées lors de l'exposition aux petits, leur rôle respectif dans la formation de la mémoire de reconnaissance et dans le rappel des mémoires à court et long terme n'est pas équivalent.

**Le bulbe olfactif :** Le BO semble essentiel à la fois à la formation et au rappel de la mémoire de reconnaissance du petit. En effet, chez la brebis, son inactivation, qu'elle soit permanente ou réversible, et qu'elle soit associée à une anosmie ou non, altère la formation de la mémoire et son rappel à court et à long-terme (Keller et al., 2004;Popik et al., 1991;Kendrick et al., 1997a). Parmi les mécanismes sous-tendant la formation de cette mémoire, la neurotransmission noradrénergique (NAergique) semble jouer un rôle primordial. Ainsi, la lésion des afférences noradrénergiques du BO, ou l'application d'un antagoniste des récepteurs beta, altère de façon significative la formation de la mémoire chez la brebis (Levy et al., 1990;Levy, 2002;Pissonnier et al., 1985) ; ces observations sont valables chez les rongeurs également mais

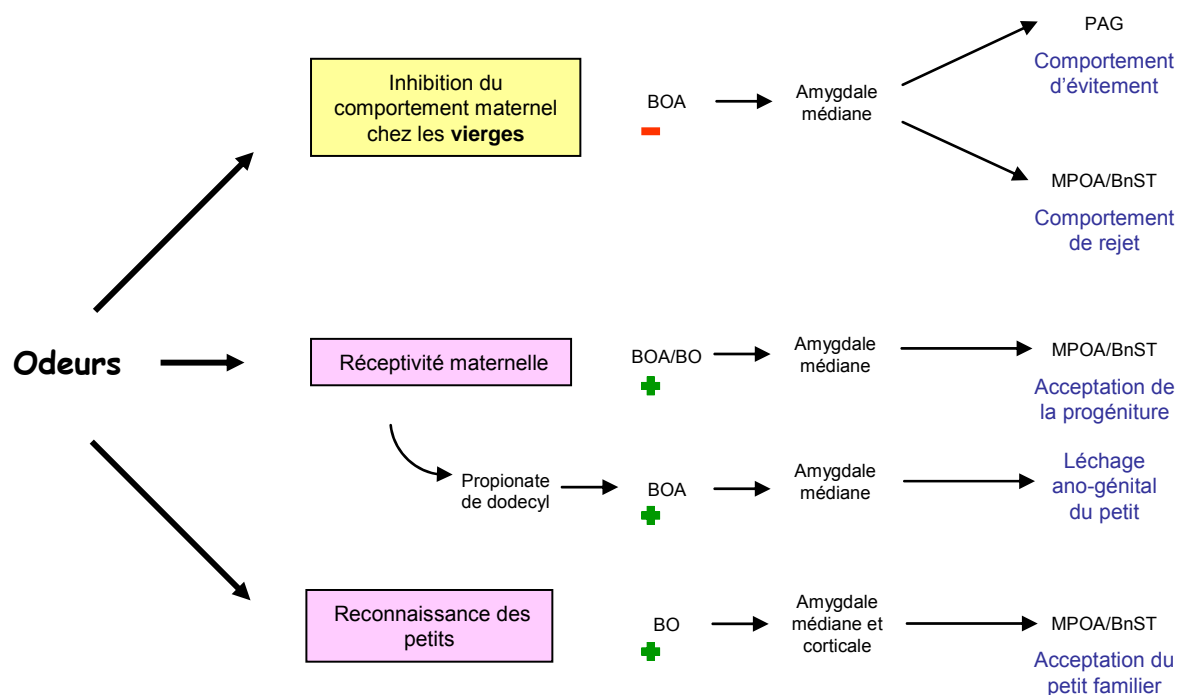
dans ce cas, les récepteurs alpha seraient impliqués (Dluzen et al., 2000). Au niveau du BO, il a été mis en évidence que la libération de NA par les afférences centrales réduit la libération de GABA des cellules granulaires, provoquant ainsi une désinhibition des cellules mitrales (Kendrick et al., 1992b). Ainsi la libération de NA lors de la parturition provoquerait la désinhibition des cellules mitrales soit directement (Yuan et al., 2003) soit indirectement via les cellules granulaires (Trombley and Shepherd, 1992). Cette désinhibition permettrait l'activation des récepteurs NMDA et/ou AMPA, entraînant une libération de NO (Oxyde Nitrique), lequel potentialise la libération du glutamate, provoquant des changements dans les connections entre les cellules mitrales et les cellules granulaires. A l'appui de cette hypothèse, il a été montré que le blocage de la libération ou de la synthèse de NO bloquerait la formation de la mémoire de reconnaissance (Kendrick et al., 1997b). En amont de cette activation du système NA, l'ocytocine pourrait être un facteur crucial pour la mise en place de cette chaîne d'activation ; en effet, l'infusion bulbaire d'OT, qui est libérée localement chez les rates comme chez les brebis en réponse à une SVC, augmente les concentrations de NA (Levy et al., 1995a). De plus, chez ces deux espèces, la SVC facilite la reconnaissance inter-individuelle, laquelle est perturbée par l'infusion d'antagoniste à l'OT au niveau du BO (Larrazolo-Lopez et al., 2008).

**Les structures de projection du BO :** Chez la brebis, différentes études d'inactivation de structures, effectuées en post-partum, ont montré que le cortex frontal médian n'est pas impliqué dans la formation de la mémoire de reconnaissance. En revanche, le noyau cortical et le noyau médian de l'amygdale qui reçoivent les afférences du BO semblent impliqués dans l'apprentissage de l'odeur du nouveau-né (Keller et al., 2004). Bien que le rôle de l'amygdale médiane n'ait pas été évalué chez le rongeur, cette structure constitue une des clés de la reconnaissance sociale dans cette espèce (Ferguson et al., 2001), suggérant que son rôle pourrait s'étendre à l'odeur des nouveau-nés. Les rappels de la mémoire à court et à long-terme impliqueraient le cortex piriforme qui est activé durant ces deux tâches (Keller et al., 2005). En revanche, l'inactivation du cortex entorhinal altère la mémoire à court-terme, mais pas la mémoire à long-terme chez la brebis (Sanchez-Andrade and Kendrick, 2009) comme chez le rongeur (Kaut and Bunsey, 2001; Staubli et al., 1984). Il semblerait donc que la formation de la mémoire à court-terme soit régulée via les projections du cortex entorhinal vers l'hippocampe, lequel est aussi activé durant la formation de la mémoire et le rappel à court-terme de l'odeur du petit (Broad et al., 2002; Staubli et al., 1984).

Pour résumer, la formation de la mémoire de reconnaissance et son rappel à court-terme semblent impliquer un réseau neuronal important, constitué par le BO, le CxP, l'amygdale médiane, le CxE et l'hippocampe, tandis que le stockage de la mémoire de reconnaissance à

long-terme résiderait essentiellement dans le BO et le CxP.

En conclusion, les odeurs de petits peuvent activer chez la femelle des processus cérébraux différents qui vont entraîner des sorties comportementales bien définies. Ces processus cérébraux et les sorties comportementales qui leur sont associées peuvent différer en fonction des espèces (nidicole et précoce). Tout d'abord, chez les femelles vierges des deux espèces, les odeurs de petits vont en activant le SOA, inhiber le MPOA et provoquer ainsi le comportement de rejet du petit. A l'inverse chez les mères, l'activation des deux systèmes olfactifs stimule le MPOA et déclenche le comportement maternel. Chez le rat, le propionate de dodecyle émis par les petits active la voie SOA-amygdale médiane, et provoque le comportement de léchage ano-génital. Enfin chez la brebis, les odeurs de petits en activant le SOP et l'amygdale médiane et corticale vont permettre une reconnaissance rapide de la progéniture (Figure 11).



**Figure 11 : Schéma récapitulatif des trois fonctions principales de l'olfaction dans le contrôle du comportement maternel et des systèmes olfactifs impliqués. Modifié d'après (Levy and Keller, 2009).**

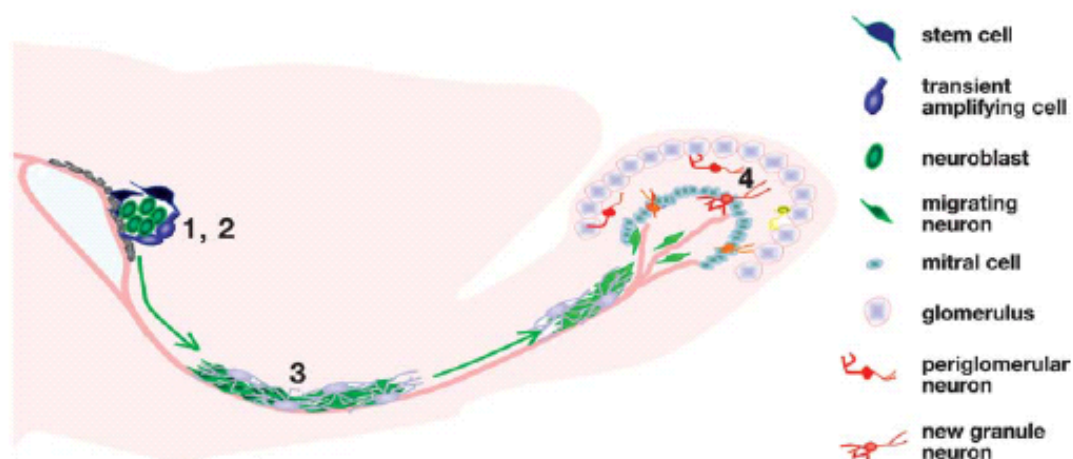
## II. LA NEUROGENESE ADULTE BULBAIRE

La reconnaissance et l'acceptation, dans les années 80, de l'existence d'une neurogénèse dans le cerveau adulte des mammifères a suscité un grand intérêt dans la communauté scientifique. En effet, la question du rôle fonctionnel de ces nouveaux neurones ainsi que l'espoir suscité par cette découverte dans la guérison de maladies neurodégénératives ont mis en émoi des générations de scientifiques. La conservation de la neurogénèse adulte durant l'évolution nous indique qu'elle détient certainement un rôle fonctionnel non négligeable.

Dans ce chapitre, nous décrivons les différentes étapes de la neurogénèse bulbaire : la prolifération, la migration tangentielle et radiaire, la différenciation et l'intégration et enfin la mort/survie des cellules néoformées.

### A. Description générale

Les cellules souches neurales localisées au niveau de la zone sous ventriculaire (ZSV) qui longe les ventricules latéraux vont donner naissance à des neuroblastes qui migrent tangentiellement au travers du courant de migration rostrale (CMR) vers le BO (Figure 12).



**Figure 12 : Schéma récapitulatif des étapes de la neurogénèse bulbaire dans le cerveau adulte de rongeur.**

Quatre étapes peuvent être individualisées : (1, 2) prolifération des cellules souches et entrée dans la voie de différenciation neuronale, (3) migration tangentielle le long du courant de migration rostrale, (4) migration radiaire dans le bulbe olfactif et différenciation en interneurones granulaires ou périglomérulaires. (Ming and Song, 2005)

On estime que 30 000 cellules sont créées par jour (Lois and Alvarez-Buylla, 1994). Une fois arrivées au niveau du BO, ces cellules vont amorcer leur migration vers les couches granulaires et glomérulaires du BO. Parallèlement à cette migration, elles vont se différencier en



interneurones granulaires GABAergiques pour 97% d'entre elles, ou en interneurones périglomérulaires GABAergiques/DAergiques pour 3% d'entre elles (Alvarez-Buylla and Garcia-Verdugo, 2002;Lois and Alvarez-Buylla, 1994;Luskin, 1993). Durant cette étape, la moitié des interneurones va mourir (Magavi et al., 2005;Mandairon et al., 2006b;Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002;Winner et al., 2002;Yamaguchi and Mori, 2005). Ceux qui survivent intègrent le réseau bulbaire (Belluzzi et al., 2003;Carleton et al., 2003;Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002) durablement (Winner et al., 2002), suggérant ainsi leur rôle potentiel dans les fonctions olfactives.

## **1. De la cellule souche aux néoneurones bulbaires**

### ***a. La prolifération cellulaire***

#### *α. La zone sous ventriculaire (ZSV)*

Plusieurs études suggèrent que la ZSV adulte dérive de l'éminence ganglionnaire latérale (EGL) du telencéphale embryonnaire. En effet, la greffe de progéniteurs issus d'une EGL sur une autre EGL ou sur la ZSV adulte entraîne la production de neuroblastes qui migrent vers le BO. Ces progéniteurs se différencient en interneurones semblables à ceux produits chez l'adulte (Wichterle et al., 2001) ou à ceux produits lorsque les cellules d'une ZSV adulte sont greffées au niveau d'une autre ZSV adulte (Lois and Alvarez-Buylla, 1994). De plus des preuves génétiques permettent de relier l'EGL embryonnaire à la ZSV adulte. En effet, cette structure exprime différents marqueurs de transcription tels que *Dlx1/2*, *ER81* (Stenman et al., 2003b), *Mash1* (Parras et al., 2004), *Pax 6* (Hack et al., 2005;Kohwi et al., 2005) et le *Sp8* (Waclaw et al., 2006), qui sont aussi exprimés au niveau de l'EGL dorsale durant le développement embryonnaire. La ZSV adulte dérive donc largement de l'EGL.

#### *β. Cellules souches et niches neurogéniques*

Durant le développement du cerveau, la plupart des cellules souches et leurs niches sont spatialement éphémères et temporellement transitoires. Cependant, des cellules souches neurales et leurs niches sont conservées dans le cerveau adulte dans des régions restreintes qui possèdent leur propre processus développemental. Il est maintenant clair que les pièces du puzzle utilisées lors du développement embryonnaire sont conservées lors de la neurogénèse adulte. En effet, les signaux classiques du développement et les morphogènes comme Notch, les BMPs, les ephrins, Noggin et le Shh semblent jouer un rôle important dans le maintien des niches neurogéniques.

Les cellules souches de la ZSV, qui possèdent certaines des caractéristiques structurelles

et moléculaires des astrocytes (GFAP<sup>+</sup>, que l'on appellera astrocyte-like), sont aussi appelées cellules de type B (Doetsch et al., 1999a). Le comportement neurogénique des progéniteurs de la ZSV semble déterminé par les signaux de leurs niches. En effet, des cellules de ZSV transplantées dans une autre ZSV vont donner naissance à un nombre important de néoneurones dans le BO de l'animal transplanté, alors que la greffe de cellules de ZSV dans une zone non-neurogénique entraînera une neurogénèse adulte très limitée (Gage, 2000; Lim et al., 2000). Des résultats semblables ont été observés avec la greffe de cellules de la zone proliférative du gyrus dentelé, la zone sous granulaire (ZSG). Il est intéressant de noter que des progéniteurs de la ZSG greffés au niveau du CMR vont donner naissance à des interneurones dopaminergiques, suggérant que le microenvironnement de la cellule souche est informatif et pas seulement permissif (Gage, 2000).

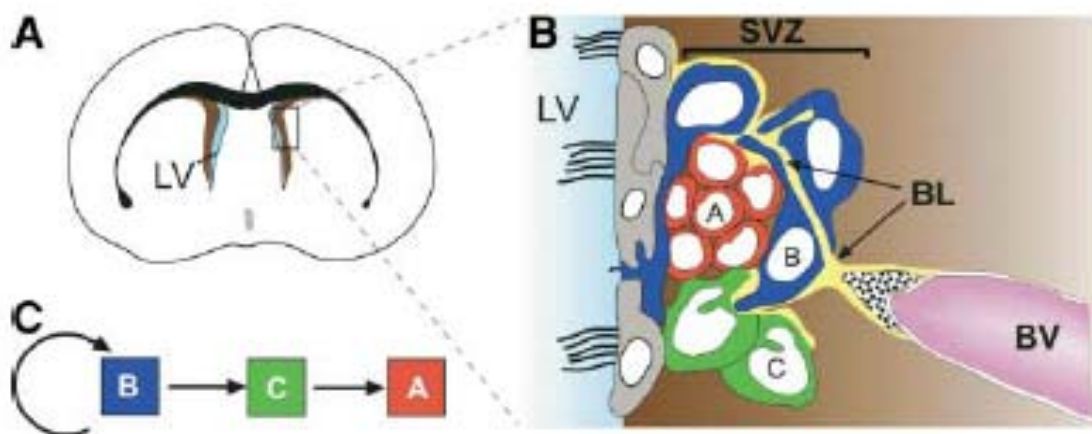
Des études récentes ont mis en évidence que les cellules souches de la ZSV sont hétérogènes et produisent différents types d'interneurones. En effet jusqu'à récemment, on pensait que la zone proliférative de la ZSV chez l'adulte était restreinte au mur du ventricule latéral faisant face au striatum. Cependant le CMR et les parties latérales du ventricule faisant face au septum (mur médian) ou au corps calleux (mur dorsal) contiennent aussi des cellules en prolifération qui se comportent comme des cellules souches *in vitro* (Doetsch et al., 1999a; Gritti et al., 2002) et *in vivo* (Merkle et al., 2007; Ventura and Goldman, 2007; Alonso et al., 2008). Les cellules de ces régions sont semblables aux cellules de type B car elles possèdent une longue durée de vie, expriment la GFAP et produisent des interneurones bulbaires (Merkle et al., 2007).

La grande aire proliférative ainsi créée peut être divisée en différentes régions « fonctionnelles ». Des études basées sur le ciblage des cellules souches, la greffe de cellules ou l'expression de facteurs de transcription (Kelsch et al., 2007; Young et al., 2007; Kohwi et al., 2007) ont mis en évidence que les cellules souches issues de régions prolifératives différentes donnent naissance à des interneurones différents. Dans les études de ciblage, une souris transgénique LacZ/GFP, dont le gène LacZ est floxé, (Novak et al., 2000) a été injectée en période postnatale avec un adénovirus exprimant la Cre afin d'infecter les différentes régions prolifératives et de suivre le devenir des populations cellulaires générées (Merkle et al., 2007; Ventura and Goldman, 2007). Ces études montrent que le cortex et la ZSV dorsale donnent naissance à des cellules granulaires superficielles et des cellules périgomérulaires dopaminergiques, tandis que la ZSV ventrale produit en majorité des cellules granulaires profondes et des cellules périglomérulaires calbindine-IR. Enfin, le CMR et le septum produisent en majorité des cellules calrétinine-IR. De plus le site d'origine de la ZSV ne détermine pas seulement les marqueurs spécifiques et la position finale des interneurones bulbaires générés en période postnatale, mais aussi le patron

spécifique de branchement de leurs dendrites (Kelsch et al., 2007). L'ensemble de ces études suggère donc que les cellules souches issues de différentes régions de la ZSV sont hétérogènes, expriment une unique combinaison de facteurs de transcription, et génèrent différents types d'interneurones bulbares. De plus, différentes études ont montré que les progéniteurs primaires de différentes régions de la ZSV sont préprogrammés à la naissance pour générer différents types d'interneurones bulbares (De Marchis et al., 2007; Kohwi et al., 2007; Merkle et al., 2007).

### *γ. Lignage cellulaire*

La ZSV contient au moins 4 types cellulaires définis en fonction de leur morphologie, de leur ultrastructure et de leur signature moléculaire (Doetsch et al., 1997). Les jeunes neuroblastes en migration (cellules de type A) forment des chaînes qui sont entourées par des cellules astrocyte-like (cellules de type B). Des précurseurs plus sphériques et fortement prolifératifs (cellules de type C) forment des amas à côté des chaînes formées par les cellules de type A (Figure 13). La ZSV est séparée du ventricule par une couche de cellules épendymaires (cellules de type E). Les cellules de type B interagissent étroitement avec les cellules de type E et occasionnellement elles contactent la lumière du ventricule. Tandis que les cellules E possèdent de nombreux cils qui contactent le lumen du ventricule (Doetsch et al., 1999a), les cellules B ne possèdent qu'un cil court, tout comme les progéniteurs neuronaux de l'embryon. Les cellules A, B et C sont capables de se diviser. Il a été montré que quelques jours après l'ablation des cellules de type A et C à l'aide d'un traitement avec un antimétabolite (AraC), on détecte de nouveau la présence de cellules de type A et C au sein de la ZSV (Doetsch et al., 1999b). Ainsi, le lignage suivant a été proposé : les cellules B donnent naissance aux cellules C qui à leur tour donnent naissance aux cellules A (Figure 13). Ces neuroblastes vont alors amorcer leur migration le long du CMR.



**Figure 13 : La zone sous ventriculaire chez l'adulte.** (A) Coupe coronale d'un cerveau adulte de rongeur. (B) Architecture cellulaire de la ZSV. (C) Lignage cellulaire (Alvarez-Buylla and Lim, 2004).

## ***b. La migration cellulaire***

### *α. En route vers le BO : Migration tangentielle*

Chez la souris adulte, la distance entre la ZSV et le BO est approximativement de 5 mm (Lois et al., 1996). Les neuroblastes migrent tangentiellement sous forme de chaînes homotypiques, cheminant accolés les uns aux autres sur une voie déterminée. Durant cette migration, ils sont entourés de cellules gliales de type astrocytaire, constituant ainsi « le tube astrocytaire ». Les neuroblastes semblent l'utiliser afin d'orienter leur migration. De plus le tube astrocytaire semble jouer un rôle dans le passage des neuroblastes de leur forme motile à une phase mitotique (Lim and Alvarez-Buylla, 1999; Jankovski and Sotelo, 1996; Lois et al., 1996). En effet, lorsque les neuroblastes établissent un contact avec le tube astrocytaire, ils peuvent s'arrêter et subir un nouveau cycle de mitose. De nombreux facteurs, dont nous ne listerons que les principaux, régulent la migration tangentielle.

***La ténascine-C (TN-C) et les protéoglycanes à chondroïtine sulfate (CSPG)*** sont sécrétées spécifiquement par les astrocytes de la ZSV et du CMR, et constituent la matrice extracellulaire (MEC) en contact avec les chaînes de neuroblastes. La ténascine-C, ligand potentiel des intégrines, est exprimée par les cellules du tube astrocytaire et semble remplir l'espace extracellulaire situé entre les neuroblastes et les astrocytes dans le CMR (de Chevigny et al., 2006; Murase and Horwitz, 2004). Bien que la Tenascine-C soit connue pour avoir des effets anti-mitotiques et limiter la dispersion des neuroblastes du RMS vers les tissus périphériques (Kiernan et al., 1996), son ablation chez une souris mutante n'entraîne pas d'altération de la migration (de Chevigny et al., 2006).

***L'intégrine B1*** est exprimée par les neuroblastes en migration et son ligand, la laminine, est localisé au niveau des chaînes cellulaires. A l'aide d'un mutant pour l'intégrine  $\beta 1$ , il a été montré que cette protéine, via sa liaison à la laminine, contrôle la formation des chaînes cellulaires dans le CMR (Belvindrah et al., 2007).

***Les protéines SLIT***, molécules chemorépulives pour la croissance et l'orientation des axones, repousseraient les neuroblastes nouvellement formés de la ZSV vers le BO (Wu et al., 1999) et de façon attendue, la migration des neuroblastes est altérée chez les souris mutantes pour SLIT1. Les protéines SLIT1 et SLIT2 sont exprimées et sécrétées par des cellules situées autour de la ZSV, c'est-à-dire au niveau du septum, du striatum et du plexus choroïde des cornes antérieures des ventricules latéraux (Marillat et al., 2002; Nguyen-Ba-Charvet et al., 2004). Les récepteurs des protéines SLIT, ROBO1, 2 et 3 sont quant à eux exprimés dans la ZSV. Étonnamment, chez les souris adultes, SLIT1 est aussi exprimée par les cellules de type A, et les

cellules de type C de la ZSV et du CMR, suggérant que le rôle joué par SLIT dans la régulation de la migration des précurseurs bulbaires est complexe, et n'est pas seulement limité à un rôle de répulsion. Enfin, les résultats de l'équipe de Sawamoto suggèrent que l'activité des cellules ciliées épendymaires, en permettant le transport de SLIT par le liquide céphalo-rachidien des ventricules, est essentielle pour la migration des neuroblastes de la ZSV (Sawamoto et al., 2006).

Le récepteur de la tyrosine kinase *EphB2* et son ligand transmembranaire *éphrine B2/3* sont exprimés par les astrocytes de la SVZ. La liaison de l'éphrine B2/3 à son récepteur semble faciliter la migration tangentielle en stabilisant les chaînes de neuroblastes (Conover et al., 2000). Une interruption de la liaison entre EphB2-éphrine B2 dans la ZSV semble augmenter la prolifération des cellules de la ZSV et retarder la migration des neuroblastes.

La *PSA-NCAM*, la forme polysialilée (PSA) de la molécule d'adhésion NCAM, est un signal essentiel pour l'organisation de la migration en chaîne des neuroblastes dans le CMR. En effet elle permet de maintenir le niveau optimal d'adhésion nécessaire pour former les chaînes de migration. Des souris transgéniques, dépourvues de toutes les isoformes de la NCAM ou présentant une rupture systématique de la liaison PSA-NCAM, présentent une migration neuronale anormale et diminuée ainsi qu'une accumulation des neuroblastes dans le CMR, provoquant un élargissement du CMR et une diminution de la taille du bulbe olfactif (Chazal et al., 2000; Cremer et al., 1994; Hu et al., 1996; Hu, 2000; Ono et al., 1994; Tomasiewicz et al., 1993). La PSA-NCAM contrôlerait ainsi la migration tangentielle en diminuant les propriétés adhésives des molécules NCAM et en favorisant la progression des neuroblastes le long du CMR (Hu et al., 1996; Hu, 2000; O'Rourke, 1996). Enfin la PSA-NCAM semble aussi promouvoir la survie des néoneurones en contrôlant l'expression du récepteur p75 dans les neurones en développement (Gascon et al., 2007).

Les neuroblastes en migration exprimant la PSA-NCAM expriment aussi le récepteur tyrosine kinase *ErbB4* et ses ligands, neureguline 1 et 2 (*NRG1* et *NRG2*). Une délétion conditionnelle de ErbB4 dans le système nerveux central provoque une désorganisation des chaînes de migration neuronale et une mauvaise orientation de la migration (Anton et al., 2004).

Les récepteurs de la reelin *ApoER2*, *VLDLR* ainsi que la protéine *Dab1*, impliquée dans la voie de signalisation de ces récepteurs, jouent un rôle dans la formation des chaînes de migration. En effet des souris mutantes soit pour ApoER2 et VLDLR soit pour la protéine Dab1 présentent un CMR très atrophié ainsi qu'une accumulation de neuroblastes dans la ZSV. La reelin n'étant exprimée ni dans la ZSV, ni au début du CMR, il semble donc que ce soit un autre ligand, le F-spondin, qui agisse sur ces récepteurs pour permettre la formation des chaînes de migration (Andrade et al., 2007).

**ADAM2** est une désintégrine ainsi qu'une métalloprotéase qui est exprimée par les neuroblastes du CMR. Le CMR des souris KO pour ADAM2 est moins volumineux, et ces souris présentent une migration neuronale altérée. La protéine ADAM2 semble donc contribuer à la migration le long du CMR grâce à une interaction cellule-cellule qui permet une migration rapide des neuroblastes vers leur destination finale (Murase et al., 2008).

S'il est donc clair que de nombreux facteurs jouent un rôle essentiel sur le comportement migratoire des neuroblastes, toutefois les nouveaux neurones du cerveau adulte possèdent la capacité intrinsèque de migrer. Ainsi, l'initiation et le maintien de la migration des neuroblastes exigent l'allongement des prolongements, le positionnement du centrosome à la tête du soma, ainsi qu'une translocation nucléaire. Les nouveaux neuroblastes polarisés étendent leurs prolongements dans la direction de la migration. Une fois que l'allongement des prolongements est terminé, le noyau est transféré vers ces prolongements. Finalement, le transfert du noyau est stoppé et les prolongements du neurone se rétractent vers la nouvelle position du soma (Solecki et al., 2006). La répétition de ces 3 étapes est une caractéristique fondamentale de la migration neuronale dans le cerveau adulte. Le facteur chemorépulsif SLIT joue un rôle essentiel dans la modulation de la polarité des neuroblastes issus de la ZSV pendant leur migration, de plus la protéine GSK3 $\beta$  et la protéine kinase C sont nécessaires à la réorientation du centrosome et aux processus de stabilisation durant cette migration.

### *$\beta$ . Colonisation du BO : Migration radiaire*

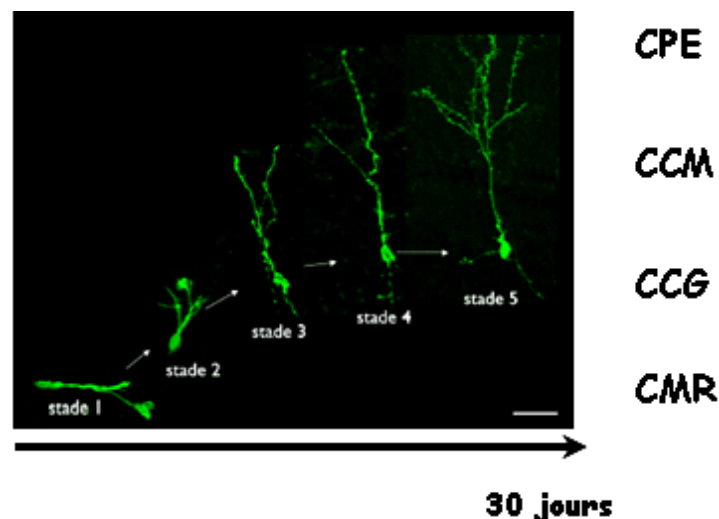
Arrivés au niveau du bulbe olfactif, les neurones en migration se détachent de leurs chaînes et migrent individuellement et radialement vers les couches granulaires et glomérulaires du bulbe olfactif. A la jonction entre la fin du CMR et le BO, l'expression du facteur de transcription **ARX** (aristaless-related homeobox gene) est nécessaire pour l'entrée des neuroblastes dans le BO (Yoshihara et al., 2005). Une fois que les neuroblastes y sont entrés, d'autres facteurs régissent leur positionnement et leur différenciation. La **Reelin**, protéine de la MEC, sécrétée par les cellules mitrales, joue un rôle important dans le positionnement neuronal du cerveau en développement, et semble être à l'origine du détachement des neuroblastes de leur chaîne (Hack et al., 2002). En effet, les neuroblastes en migration dans le CMR expriment à leur surface le récepteur ApoER2 de la Reelin. La **Tenascine-R**, sécrétée dans les couches profondes du BO, semble aussi moduler l'initiation du détachement des neuroblastes de leurs chaînes ainsi que leur migration radiaire (Saghatelyan et al., 2004).

### *c. La différenciation et l'intégration des néoneurones*

L'utilisation de rétrovirus recombinants pour la GFP permet de marquer et de visualiser à long-terme les cellules nouvellement formées dans la ZSV. Ainsi, il est possible de caractériser les propriétés morphologiques et électrophysiologiques des néoneurones bulbaires durant leur migration et leur différenciation (Belluzzi et al., 2003; Carleton et al., 2003; Peretto et al., 1997). Ces propriétés diffèrent entre les néoneurones granulaires et périglomérulaires.

#### *α. Les néoneurones granulaires*

**Croissance neuritique :** On distingue 5 types de néoneurones granulaires en fonction de leur stade de maturation morphologique (Figure 14). La première catégorie (neurones âgés de 2 à 7 jours) correspond à des neuroblastes en migration dans le CMR. La deuxième catégorie (neurones âgés de 5 à 7 jours) correspond à des neuroblastes migrant radialement dans la couche granulaire. La troisième catégorie (neurones âgés de 9 à 13 jours) correspond à des cellules granulaires (CG) ayant des prolongements dendritiques en croissance, mais qui ne se prolongent pas au delà de la couche mitrale. La quatrième catégorie (neurones âgés de 11 à 22 jours) correspond à des CG possédant une arborisation dendritique qui s'étend jusqu'à la CPE, mais qui est quasiment dépourvue d'épines. Enfin la cinquième catégorie (neurones âgés de 15 à 30 jours) correspond à des GC possédant une arborisation dendritique complexe, ainsi que de nombreuses épines.

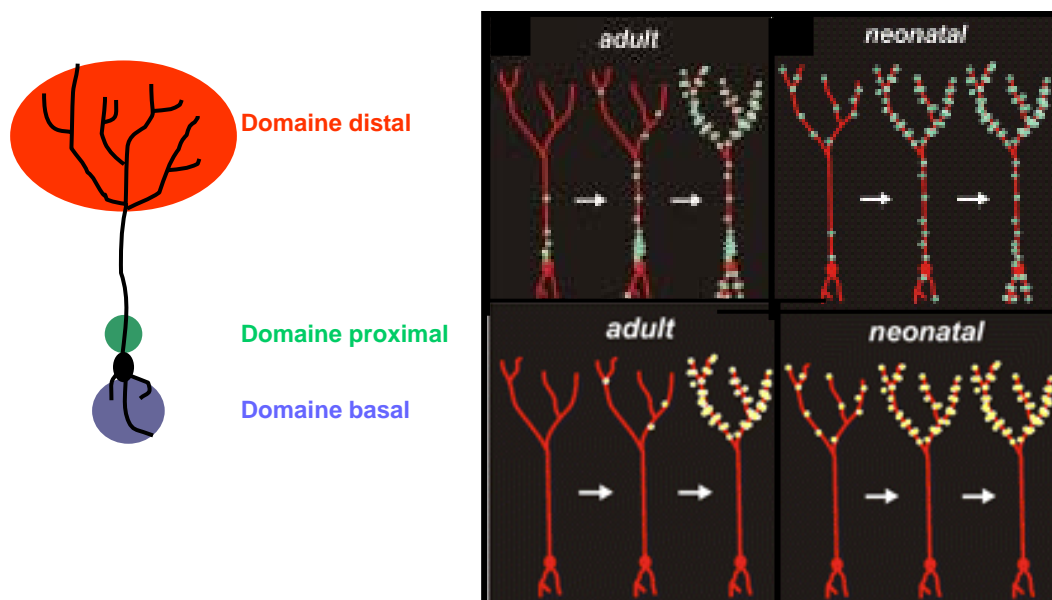


**Figure 14 : Maturation neuritique des néoneurones granulaires.** Visualisation à l'aide d'un virus GFP des différentes classes de néoneurones en maturation. (Carleton et al., 2002).

Il a été montré qu'après une phase d'accroissement du nombre d'épines, un processus d'élagage se met en place. En effet, après le 56<sup>ème</sup> jour de vie le nombre d'épines décroît (Whitman and Greer, 2007b). Ces phénomènes régressifs rappellent ce qui se passe au cours du

développement (Changeux and Danchin, 1976). Ainsi, après une phase de bourgeonnement des arborisations axonales et dendritiques, interviennent des phénomènes régressifs et des connexions disparaissent. On passe donc d'un réseau « diffus » et « redondant » à un réseau dont « l'innervation » est plus précise. Lors de l'assemblage des réseaux, des impulsions électriques y circulent et il a été proposé dans le modèle de l'« épigenèse par stabilisation sélective » (Changeux and Danchin, 1976; Changeux et al., 1973) que l'activité nerveuse orchestrerait cette « sculpture » du réseau en cours de formation. Dans le cadre de la neurogénèse adulte, l'importance de l'activité neuronale a également été mise en évidence. Ainsi, si les néoneurones granulaires intègrent un réseau bulbaire silencieux, la densité des épines dendritiques de ces néoneurones diminue de 50% par rapport au niveau du contrôle (Saghatelyan et al., 2005).

Différentes études se sont intéressées à l'intégration synaptique des néoneurones granulaires dans le réseau préexistant (Kelsch et al., 2008; Whitman and Greer, 2007b). Le néoneurone granulaire peut être fonctionnellement divisé en trois parties. Le domaine basal et le domaine proximal qui se trouvent au niveau de la CCG, et qui sont connectés d'une part par les synapses glutamatergiques des collatérales axoniques des neurones de projection, et d'autre part par les synapses glutamatergiques des afférences corticales. Enfin, le domaine distal qui se trouve dans la CPE et qui forme les synapses dendro-dendritiques avec les dendrites latérales des cellules de projection (Balu et al., 2007; Nissant et al., 2009) (Figure 15).

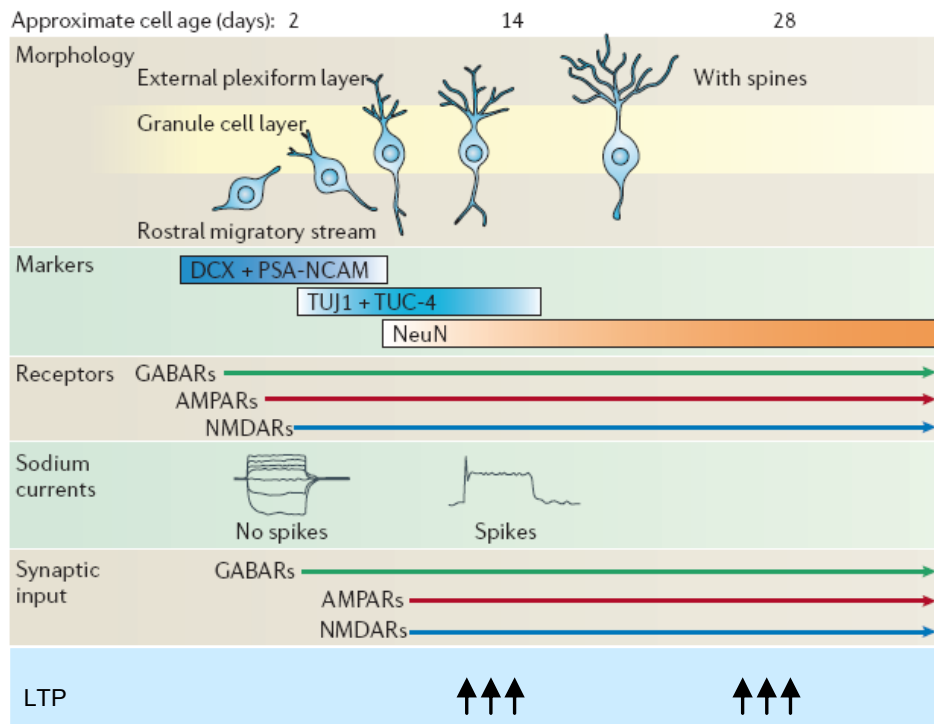


**Figure 15 : Mise en place des contacts synaptiques des néoneurones.** Mise en place des afférences glutamatergiques (panneaux du haut) et des efférences GABAergiques (panneaux du bas) chez l'adulte et le nouveau-né. Modifié d'après (Kelsch et al., 2008).



L'étude de la mise en place des contacts synaptiques montre que 10 jours après leur naissance les néoneurones reçoivent des contacts glutamatergiques seulement au niveau proximal, et qu'à 17 jours tous les contacts synaptiques au niveau proximal sont mis en place. A partir de ce moment, ils commencent à recevoir des contacts glutamatergiques aux niveaux basal et distal. La totalité de ces contacts est atteinte lorsque les neurones sont âgés de 28 jours. Pour résumer, la séquence de mise en place des contacts synaptiques glutamatergiques est la suivante : domaine proximal, puis domaine basal, et enfin domaine distal. Quant à la mise en place des synapses GABAergiques présynaptiques au niveau distal, elle s'effectue du 17<sup>ème</sup> au 28<sup>ème</sup> jour de vie du neurone. Ces différentes données montrent que les néoneurones granulaires, lors de leur intégration dans le réseau, « écoutent avant de parler ». Ce retard dans la maturation de l'excitabilité de ces cellules semble éviter la perturbation du réseau adulte préexistant lors de l'intégration des nouveaux neurones (Figure 15). Une telle cinétique d'intégration est complètement différente de celle des néoneurones du développement. En effet, lors de la période néonatale les domaines proximal et distal sont les premiers à recevoir des contacts glutamatergiques, aux environs du 10-14<sup>ème</sup> jour de vie, et le domaine basal reçoit les contacts glutamatergiques un peu plus tard. Enfin ces néoneurones présentent au niveau distal des contacts synaptiques GABAergiques dès le 14<sup>ème</sup> jour de vie. Cette cinétique d'intégration montre que durant le développement, ces neurones « parlent avant d'écouter ».

**Maturation électrophysiologique :** D'un point de vue anatomique, nous avons vu que cinq catégories de néoneurones peuvent être différenciées ; ces différents niveaux de maturation se retrouvent au niveau électrophysiologique (Carleton et al., 2003). Ainsi, les néoneurones de catégorie 1 et 2 possèdent les propriétés électrophysiologiques de neurones immatures : ils présentent une forte résistance membranaire et sont incapables de générer des potentiels d'action (PA) car ils ne possèdent pas de canaux sodiques, mais seulement des canaux potassiques. Ces néoneurones expriment à leur surface membranaire le récepteur GABA<sub>A</sub> et les néoneurones de catégorie 1 expriment quelques récepteurs AMPA, tandis que les néoneurones de catégorie 2 présentent une importante densité membranaire de récepteurs AMPA et NMDA. Il apparaît chez les néoneurones de catégorie 3 un courant sodique qui est trop faible pour déclencher des PA, mais qui s'amplifie chez les neurones de catégorie 4, lesquels sont alors capables de générer des PA (Figure 16).



**Figure 16 : Schéma récapitulatif des modifications structurales et électrophysiologiques liées à la maturation des néoneurones granulaires. Modifié d'après (Lledo et al., 2006).**

Dans ces deux classes 3 et 4, il a été mis en évidence des courants post-synaptiques excitateurs (PPSE) et inhibiteurs (PPSI) qui sont plus importants pour les néoneurones de catégorie 4 que pour ceux de catégorie 3. Enfin les néoneurones de catégorie 5 présentent des caractéristiques électrophysiologiques identiques à celles des neurones préexistants, c'est-à-dire qu'ils possèdent une faible résistance membranaire, des courants sodiques rapides, et sont capables de déclencher des PA (Carleton et al., 2003).

Comme nous l'avons souligné précédemment, les cellules granulaires bulbaires reçoivent des afférences glutamatergiques au niveau de trois localisations anatomiques : basal, proximal et distal. Ces trois afférences glutamatergiques présentent des propriétés électrophysiologiques différentes. En effet la stimulation du domaine basal entraîne une longue et stable dépression dans l'amplitude des PPSE mesurés après stimulations successives, tandis que la stimulation du domaine proximal entraîne une facilitation, et que la stimulation du domaine distal provoque seulement quelques variations d'amplitude des PPSE (Balu et al., 2007; Nissant et al., 2009). Ces cellules possèdent des propriétés de plasticité unique puisqu'elles sont capables d'induire de la LTP jusqu'à l'âge de 12 semaines, mais seulement lorsque le train de stimulation est appliqué au niveau du domaine basal ; de plus les auteurs ont mis en évidence que l'entretien de la LTP

dépend spécifiquement des changements présynaptiques des synapses qui contactent les néoneurones au niveau du domaine basal. Bien que la mise en place de cette LTP soit calcium-dépendante, les récepteurs NMDA ne semblent pas impliqués (Nissant et al., 2009).

*β. Les néoneurones périglomérulaires*

**Croissance neuritique :** Le développement dendritique et axonal des cellules périglomérulaires est plus lent que celui des cellules granulaires puisqu'elles ne seraient matures qu'à leur 4<sup>ème</sup> semaine de vie. (Belluzzi et al., 2003). Les épines des CPG se développent de ce fait plus lentement que celles des cellules granulaires. Au 14<sup>ème</sup> jour, les CPG possèdent un arbre dendritique, mais leurs prolongements, qui ressemblent à des filopodes immatures, n'apparaissent que le 28<sup>ème</sup> jour et les épines « matures » sont présentes après le 42<sup>ème</sup> jour (Whitman and Greer, 2007a). Leur maturation est dépendante de l'activité du réseau puisque la synaptogénèse des néoneurones périglomérulaires est plus rapide lorsqu'ils intègrent un réseau bulbaire stimulé par l'exposition à un environnement enrichi en odeurs (Livneh et al., 2009).

**Maturation électrophysiologique :** La maturation électrophysiologique des cellules périglomérulaires diffère également de celle des cellules granulaires. En effet, l'apparition d'un courant sodique voltage-dépendant et par conséquent la capacité à émettre des PA, semblent précéder la mise en place de contacts synaptiques (Belluzzi et al., 2003; Grubb et al., 2008). Il existe aussi des différences majeures dans la maturation des synapses glutamatergiques des CPG comparées aux CG. En effet les CPG sont directement contactées par les axones des neurones olfactifs sensoriels (NSO). Lors de la maturation des synapses NSO-CPG, le rapport du nombre de récepteurs glutamatergiques AMPA sur le nombre de récepteurs glutamatergiques NMDA augmente au niveau de ces synapses et la contribution des récepteurs NMDA contenant la sous-unité NR2B décroît (Grubb et al., 2008).

Les différences relevées dans les séquences de maturation des CPG et des CG refléteraient des différences de leurs propriétés intrinsèques (par exemple les CPG ont des axones, alors que les CG n'en n'ont pas) ou des différences dans les réseaux neuronaux dans lesquels les deux types cellulaires s'intègrent. Il est à noter que les CPG intègrent des circuits caractérisés par le remplacement continu des afférences primaires (les terminaisons des NSO sont constamment renouvelées), tandis que les néoneurones granulaires reçoivent des afférences synaptiques des dendrites des neurones de projections connues pour être stables sur de longues périodes de temps (Mizrahi and Katz, 2003).

#### ***d. Mort/Survie des néoneurones***

La phase d'intégration des néoneurones dans le réseau est accompagnée d'une période durant laquelle la moitié des néoneurones meurt. En effet, comme pendant le développement, de nombreux neurones sont créés, mais seuls ceux qui se sont intégrés correctement survivent (Oppenheim, 1991). Plusieurs études ont cherché à établir la fenêtre de temps durant laquelle ces néoneurones granulaires et périglomérulaires mouraient, mais les résultats divergent. En ce qui concerne les neurones granulaires le **début de la période de mort** semble bien établi puisque la grande majorité des études s'accorde sur le fait qu'elle débute lorsque les néoneurones sont âgés d'environ 15 jours, âge auquel ils commencent à intégrer le réseau bulbaire (Magavi et al., 2005; Mouret et al., 2008; Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002; Winner et al., 2002; Yamaguchi and Mori, 2005). Une seule étude se différencie en proposant que la période de mort cellulaire débute lorsque les néoneurones sont âgés de 60 jours (Mandairon et al., 2006b). Si dans leur majorité ces études s'accordent donc sur le début de la période de mort, en revanche il est plus difficile de déterminer quand cette période s'achève. En effet, deux études indiquent que **cette période de mort se termine** lorsque les néoneurones sont âgés de 28 à 30 jours (Mouret et al., 2008; Yamaguchi and Mori, 2005), tandis que pour d'autres cette période de mort se prolonge jusqu'à 45-50 jours (Magavi et al., 2005; Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002; Winner et al., 2002; Bovetti et al., 2009) voire 180 jours (Mandairon et al., 2006b). Cette divergence dans les résultats peut s'expliquer par le fait qu'en fonction des études, l'espèce utilisée (rat ou souris), le type de marqueur de néoneurones (BrdU ou Thymidine radioactive), et les anticorps utilisés (Leuner et al., 2009) sont différents.

Pour les cellules de la couche glomérulaire, les données de la littérature s'accordent sur le fait que leur période de mort diffère de celle des cellules granulaires. Elle débiterait ainsi entre le 15<sup>ème</sup> et le 21<sup>ème</sup> jour de vie (Mandairon et al., 2006b; Bovetti et al., 2009; Alonso et al., 2006), voire exceptionnellement le 30<sup>ème</sup> jour de vie (Winner et al., 2002) et s'achèverait 6 mois plus tard (Mandairon et al., 2006b; Winner et al., 2002).

## ***2. Régulation de la neurogénèse bulbaire***

La neurogénèse adulte est régulée par de nombreux facteurs dont l'identité et la diversité commencent à être bien documentées. Les facteurs extracellulaires qui exercent un contrôle sur elle regroupent l'ensemble des signaux produits par les tissus environnants et qui sont capables d'influencer les activités de prolifération, de migration, de différenciation et de survie cellulaires. La liste de ces facteurs s'allonge constamment et comprend des neuromédiateurs, des hormones

et des facteurs de croissance (pour revue, voir (Lledo et al., 2006)). Les résultats obtenus dans ce domaine sont présentés sous la forme d'un tableau (Table 1).

Facteurs	Prolif.	Diff.	Survie	Références
<b>Hormones</b>				
Corticostérome	↘			Lau et al., 2007
PRL	↗			Shingo et al., 2003
<b>Neuromédiateurs</b>				
Dopamine	↗			Winner et al., 2009
Sérotonine	↗			Banasr et al., 2004
Acétylcholine KO $n\beta_2$ AchR			↗	Mechawar et al., 2004
GABA	↘			Liu et al., 2005
Neurostéroïdes (Pregnenolone Sulfate)	↗			Mayo et al., 2005
<b>Morphogènes</b>				
Shh	↗			Machold et al., 2003
BMP	↘	↘		Lim et al., 2000
Noggin	↗	↗		Lim et al., 2000
<b>Facteurs de transcription</b>				
Ephrin-A2	↗			Conover et al., 2000
Rb	↘			Yoshikawa et al., 2000
Olig2		↘		Hack et al., 2005; Kohwi et al., 2005
Pax6		↗		Hack et al., 2005; Kohwi et al., 2005
<b>Facteurs de croissance/ Facteurs trophiques</b>				
BDNF	↗			Zigova et al., 1998
TGF $\alpha$	↗			Craig et al., 1996
FGF2	↗			Kuhn et al., 1997
VEGF	↗			Jin et al., 2002
EGF	↗			Kuhn et al., 1997
CNTF	↗			Emsley et al., 2003

**Table 1 : Tableau récapitulatif des facteurs extrinsèques contrôlant la neurogénèse adulte bulbaire**

## B. Expériences olfactives et plasticité bulbaire

Nous avons vu jusqu'à présent que les indices olfactifs jouent un rôle essentiel dans de nombreux comportements sociaux tels que le comportement reproducteur et le comportement maternel, ainsi que dans la recherche de nourriture et la détection de prédateur. La détection de ces différents stimuli olfactifs est donc indispensable à la survie de l'espèce. Le BO étant une région cérébrale activée par l'ensemble des indices sensoriels olfactifs de l'environnement, se pose alors la question de l'impact des expériences olfactives sur la plasticité du réseau bulbaire

(synaptogénèse, remaniements dendritiques, rythmes oscillatoires...), dont la neurogénèse bulbaire constitue une forme particulière.

De plus, nous avons vu que l'olfaction, dans ses deux modalités principales que sont la discrimination et la mémoire olfactive, est attribuée aux changements qui s'établissent au niveau des synapses réciproques dendro-dendritiques entre les cellules de projections et les interneurons. Ainsi l'apport continu d'interneurones va entraîner un codage spatio-temporel de l'information olfactive à travers l'inhibition et la synchronisation des décharges des cellules de projection. A partir de ce constat, la seconde question qui se pose est celle du rôle joué par les néoneurones bulbaire dans les performances olfactives.

## **1. Plasticité du réseau bulbaire liée à l'expérience olfactive**

### ***a. Effet d'une anosmie***

La privation sensorielle n'a pas d'impact sur l'arborisation dendritique et le nombre d'épines des neurones granulaires, mais elle provoque en revanche une réduction importante de la fréquence des courants inhibiteurs des cellules granulaires vers les cellules mitrales sans en modifier l'amplitude. En dépit de cette réduction, le courant global inhibiteur vers les cellules mitrales et la synchronisation des cellules de projection restent inchangés, ceci étant dû aux mécanismes compensatoires qui dépendent des potentiels d'action. Le mécanisme sous-jacent de cette adaptation repose sur une augmentation de l'excitabilité intrinsèque des néoneurones granulaires qui est provoquée par des changements des courants dépendants du  $\text{Na}^+$ . Cette modification pourrait compenser la diminution de fréquence des courants inhibiteurs (Saghatelian et al., 2005).

### ***b. Effet d'une stimulation olfactive***

Une simple manipulation de l'apport olfactif, telle que l'exposition à un environnement enrichi en odeur, peut modifier le réseau neuronal bulbaire et plus spécifiquement la réponse des cellules de projection. Par exemple, chez le rat adulte élevé en milieu olfactif enrichi, une courte exposition à une odeur, qu'elle soit familière ou non provoque une diminution de la réponse excitatrice des cellules mitrales (Buonviso and Chaput, 2000). Les relations de contrôle réciproque entre les cellules de projections et les cellules granulaires permettent de rapprocher ces résultats avec ceux de deux études plus récentes. En effet, il a été montré que l'élevage d'animaux dans un environnement enrichi entraîne une augmentation de l'expression des enzymes GAD67/65 ainsi que de la « paired-pulse inhibition » dans la couche granulaire du BO. Les variations de ces deux paramètres suggèrent une augmentation générale de l'inhibition à

l'intérieur du BO (Moreno et al., 2009). Ainsi, chez les animaux enrichis, la diminution de la réponse excitatrice serait due à une augmentation de la décharge inhibitrice vers les cellules mitrales. L'impact d'un apprentissage conditionné sur l'expression de Zif 268 dans les cellules granulaires des animaux stimulés avant le sacrifice avec les odeurs du test confirme ce résultat. En effet, le nombre de cellules granulaires activées (exprimant Zif 268) à la suite de la stimulation est beaucoup plus important chez les animaux témoins que chez les animaux conditionnés ou pseudo-conditionnés (Busto et al., 2009). Chez les animaux témoins l'inhibition exercée par les cellules granulaires vers les cellules mitrales est moins importante que chez les animaux conditionnés ou pseudo-conditionnés, ainsi la transmission de l'information odorante des neurones sensoriels vers les cellules mitrales va activer ces dernières qui à leur tour vont activer les cellules granulaires. En revanche, si l'activité des cellules mitrales est fortement inhibée, l'arrivée d'un message olfactif n'entraînera pas une activation des cellules granulaires. Cependant si les animaux sont élevés dans un environnement enrichi en odeurs durant 10 jours, ils présentent un nombre de cellules granulaires activées plus important que les animaux élevés dans un environnement enrichi avec une odeur différente ou élevés dans un environnement neutre (Mandairon et al., 2008). Les divergences entre ces deux études pourraient être reliées aux différences dans le temps d'exposition à l'environnement enrichi : 5 jours (Busto et al., 2009) vs 10 jours (Mandairon et al., 2008).

### *c. Effet d'un apprentissage olfactif*

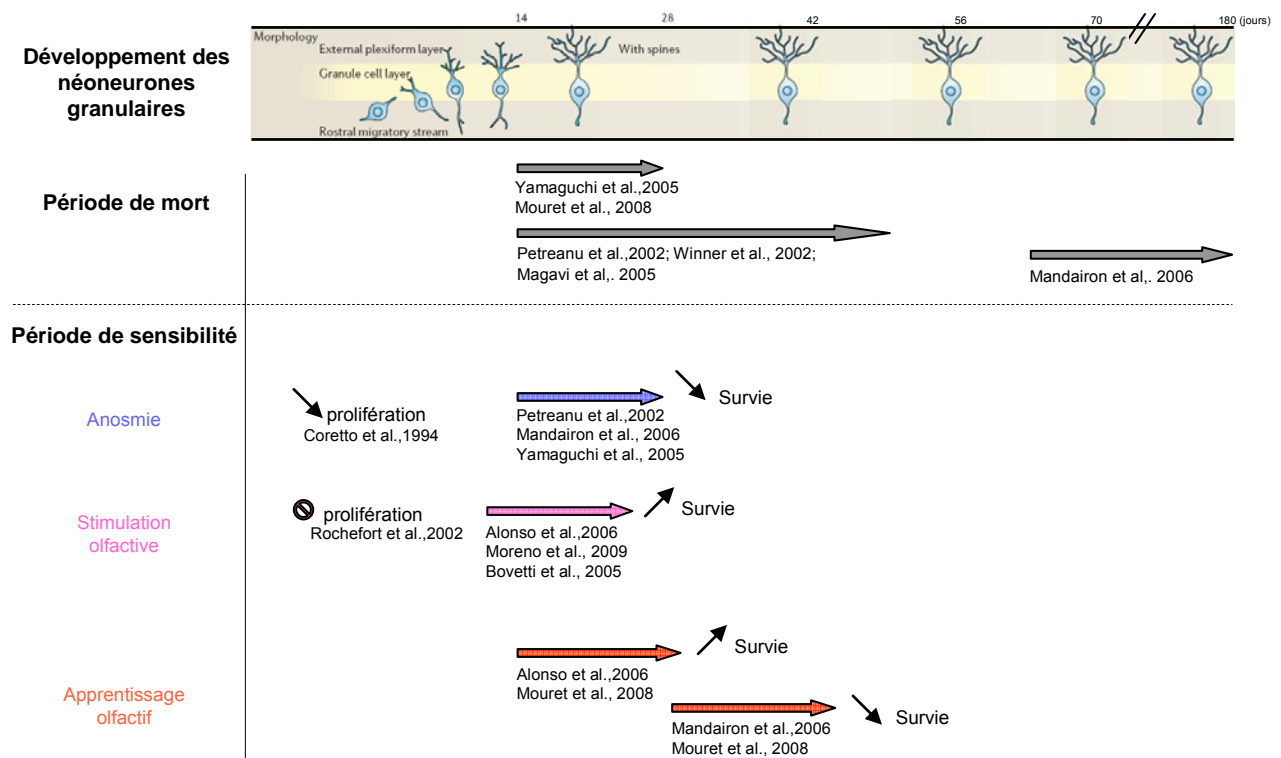
Au niveau du BO, deux types d'activités oscillatoires ont été mises en évidence, une dans la gamme de fréquence beta (15-40 Hz) et l'autre dans la gamme de fréquence gamma (60-90 Hz). Il a été proposé que la synchronisation des décharges neuronales en mode oscillant correspondait à une assemblée de neurones représentant le même stimulus (Gray, 1999). En absence de stimulation olfactive, le BO présente une activité oscillatoire de type gamma qui est représentée par des bouffées d'oscillations fusiformes régulières (Ravel et al., 2003). La présentation d'une odeur modifie l'activité oscillatoire des rythmes gamma et beta du BO, mais uniquement si l'odeur est conditionnée (Gray and Skinner, 1988; Chabaud et al., 2000; Boeijinga and Lopes da Silva, 1989). Ainsi le changement dans l'amplitude des bouffées gamma et beta reflète plus pour l'animal la valence du stimulus que sa qualité chimique. Au commencement d'un apprentissage de type Go/NoGo, une diminution de la puissance de la bande gamma, parallèlement à une augmentation de la puissance la bande de fréquence beta a été mise en évidence. En fin d'apprentissage, les animaux qui ont acquis la tâche de discrimination présentent des oscillations gamma dont l'amplitude et la durée sont diminuées alors que la

réponse oscillatoire beta est augmentée. Cette expérience met en évidence que l'apprentissage est associé à un déplacement de l'activité neuronale du BO d'un régime d'oscillations gamma vers un régime beta.

Pour conclure, l'expérience olfactive modifie le réseau bulbaire en modulant l'effet de l'inhibition latérale récurrente. Cette modulation de l'inhibition peut être mise en évidence par des changements de réponses des cellules mitrales en réponse aux odeurs (Buonviso and Chaput, 2000), par les patrons d'activation des interneurons inhibiteurs en réponse à une stimulation olfactive (Busto et al., 2009;Mandairon et al., 2008), par la modification de la survie des neurones inhibiteurs dans les couches granulaire et glomérulaire (Alonso et al., 2006;Mandairon et al., 2006a;Mouret et al., 2008) ainsi que par des modifications des dynamiques d'oscillations (Ravel et al., 1994).

## 2. Influence de l'expérience olfactive sur la neurogénèse bulbaire

L'impact de l'olfaction sur la neurogénèse bulbaire a été étudié de deux façons, soit en stoppant tout apport sensoriel par une occlusion nasale unilatérale, soit au contraire en augmentant l'apport sensoriel olfactif en utilisant des environnements enrichis en odeurs. Dans toutes ces études, les auteurs ont cherché à établir quelles étapes clés de la neurogénèse (prolifération, migration, différenciation et survie) étaient modifiées (Figure 17).





**Figure 17 : Récapitulatif de l'impact de l'environnement olfactif sur la neurogénèse bulbaire.**

***a. Effet d'une anosmie***

L'utilisation de la technique d'occlusion nasale unilatérale a permis de mettre en évidence le rôle prépondérant des apports sensoriels olfactifs dans le maintien d'une neurogénèse bulbaire adulte normale puisque ces différentes études ont mis en évidence une diminution de neurogénèse associée à une diminution du volume de la couche granulaire du BO ipsilatéral de l'occlusion (Corotto et al., 1994;Mandairon et al., 2006b;Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002;Saghatelyan et al., 2004;Yamaguchi and Mori, 2005;Henegar and Maruniak, 1991).

Les études ayant abordé la question des mécanismes pouvant être à l'origine de ces diminutions ont montré qu'une réduction de la prolifération cellulaire au niveau de la ZSV (Corotto et al., 1994) et une diminution de la survie des néoneurones atteignant le BO (Yamaguchi and Mori, 2005) pouvaient être incriminées. Cependant cette privation sensorielle n'affecte la survie des néoneurones que durant une fenêtre de temps bien déterminé. En effet, seuls les néoneurones âgés de 14 à 28 jours semblent sensibles à la déplétion sensorielle (Mandairon et al., 2006b;Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002;Yamaguchi and Mori, 2005). A cet âge, les néoneurones sont différenciés et possèdent une arborisation dendritique développée (cellules de catégorie 5, voir II A 2c  $\alpha$ ), et ils ont largement entamé leur intégration dans le réseau bulbaire, formant les synapses réciproques dendro-dendritiques avec les cellules de projection. Ces résultats suggèrent donc que l'intégration des néoneurones dans un réseau silencieux entraîne leur mort (Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002;Yamaguchi and Mori, 2005). A l'appui de cette hypothèse, le diazepam, modulateur du récepteur GABA<sub>A</sub>, entraîne une diminution de l'activité des cellules mitrales et granulaires, et a des effets sur la survie des néoneurones comparables à ceux de la privation sensorielle (Yamaguchi and Mori, 2005). Une étude cependant va à l'encontre de ces résultats, en montrant que l'occlusion nasale entraîne une diminution de l'ARN messager de la Tenascine-R (facteur de migration radiaire) au niveau du BO, laquelle est associée à une augmentation du nombre de cellules nouvellement formées dans le CMR (Saghatelyan et al., 2004). De ce fait, la baisse de neurogénèse dans le BO ne serait pas due à la mort des néoneurones âgés de 14 à 28 jours mais à l'absence de migration des neurones néoformés vers le BO.

L'occlusion nasale ne semble pas affecter la différenciation neuronale des cellules granulaires nouvellement formées. En effet, un double marquage BrdU et NeuN, marqueur de neurones matures, montre un niveau de colocalisation équivalent pour les animaux privés

d'apport sensoriel et les animaux témoins (Mandairon et al., 2006b; Yamaguchi and Mori, 2005). Cependant une étude récente a montré que les animaux anosmiques présentent une proportion de néoneurones périglomérulaires dopaminergiques moins importante que les animaux témoins (Bovetti et al., 2009).

### ***b. Effet d'une stimulation olfactive***

Comme attendu au vu des résultats précédents, la stimulation olfactive provoque les effets inverses de l'anosmie sur la neurogénèse bulbaire. En effet, l'élevage d'animaux dans un milieu enrichi en odeurs est associé à une augmentation du nombre de néoneurones granulaires et glomérulaires dans le BO (Rocheffort et al., 2002; Bovetti et al., 2009; Veyrac et al., 2009; Moreno et al., 2009; Rocheffort and Lledo, 2005; Moreno et al., 2009) Cette augmentation de neurogénèse est observée seulement si les odeurs utilisées pour la stimulation olfactive changent quotidiennement (Veyrac et al., 2009; Magavi et al., 2005; Rocheffort et al., 2002). Cependant la persistance de cette augmentation de neurogénèse lorsque les animaux retournent vivre dans un environnement neutre reste à confirmer. En effet, une étude montre qu'après 30 jours d'élevage dans un environnement neutre, le nombre de néoneurones granulaires est retourné à un niveau basal (Rocheffort and Lledo, 2005). Cependant une autre étude met en évidence qu'après 3 semaines passées dans un environnement neutre, les animaux présentent toujours une augmentation du nombre de néoneurones granulaires, alors que le nombre de néoneurones périglomérulaires revient à son état initial (Bovetti et al., 2009). Pour réconcilier ces deux études, il est donc possible d'envisager que le retour à un état basal des néoneurones granulaires s'effectue entre la 3<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaine de vie dans un environnement neutre.

Les études s'accordent sur le fait que l'augmentation du nombre de néoneurones granulaires n'est pas liée à un effet de l'enrichissement olfactif sur la prolifération cellulaire, mais sur la survie des néoneurones (Rocheffort et al., 2002; Veyrac et al., 2009). Cependant l'étude, par un marquage TUNEL, de la mort cellulaire dans le BO d'animaux « enrichis » et témoins, ne montre aucune différence entre ces deux groupes. Au vue de ces résultats, deux hypothèses peuvent être émises : 1) il se produit une accélération de la migration des néoneurones chez les animaux « enrichis »; 2) chez les animaux « enrichis », la diminution de la mort des néoneurones serait compensée par une augmentation de la mort des neurones préexistants. Comme pour l'anosmie, la stimulation olfactive augmente la survie des néoneurones dans une fenêtre de temps bien déterminée. En effet la stimulation olfactive augmente la survie de néoneurones âgés de 21 jours, mais elle n'a aucun impact sur la survie de néoneurones âgés de 10 et 42 jours (Bovetti et al., 2009). D'un point de vue mécanistique, le

système noradrénergique semble jouer un rôle important. En effet, des animaux élevés en milieu enrichi et qui reçoivent en parallèle un antagoniste des récepteurs adrénergiques ne présentent plus cette augmentation de neurogénèse (Veyrac et al., 2009). Au niveau cellulaire, il a été montré que la stimulation olfactive active la voie des MAPK dans les cellules granulaires, et que cette activation serait responsable de la survie des néoneurones (Miwa and Storm, 2005).

### *c. Effet d'un apprentissage olfactif*

Une fois l'impact de la stimulation olfactive sur la neurogénèse bulbaire établi, de nouvelles études ont comparé les effets d'une stimulation passive avec les effets d'un apprentissage de discrimination olfactive sur la neurogénèse bulbaire. Cet apprentissage olfactif, en plus de la composante « stimulation », comporte une composante « cognitive », et induit des effets différents en fonction de l'âge des néoneurones. En effet un apprentissage de discrimination olfactive, réalisé durant 6-7 jours consécutifs, augmente la survie des néoneurones granulaires âgés de 18 à 30 jours, diminue la survie des néoneurones granulaires âgés de 30 à 45 jours et n'a aucun effet sur les néoneurones granulaires âgés de moins de 11 jours et de plus de 45 jours (Mouret et al., 2008; Mandairon et al., 2006a; Alonso et al., 2006). De plus l'effet de cet apprentissage sur la survie des néoneurones n'a été mis en évidence que sur les néoneurones granulaires profonds, cellules qui connectent les cellules mitrales (Mouret et al., 2008). Il a également été mis en évidence que l'effet de l'apprentissage sur la survie des néoneurones granulaires âgés de 15 à 30 jours est plus important que celui d'une simple stimulation olfactive (Alonso et al., 2006). Enfin, la réussite de l'apprentissage est un facteur important pour observer un effet sur la survie des néoneurones (Mandairon et al., 2006a).

## **3. Rôle des néoneurones dans l'olfaction**

### *a. Analyse des performances olfactives*

Il existe de nombreuses mesures psychophysiques de la fonction olfactive allant de la détection de l'odeur à sa mise en mémoire, en passant par son identification, et sa discrimination. Les performances olfactives d'un animal sont donc classiquement testées en évaluant son seuil de détection d'odeur, sa capacité à discriminer deux odeurs, et sa mémoire olfactive. Ces performances sont évaluées à l'aide de tests non associatifs ou associatifs. Les **épreuves comportementales dites non associatives** reposent sur l'attraction naturelle de l'animal pour la nouveauté. En effet, le rongeur passera toujours plus de temps à sentir une odeur qu'il ne connaît pas qu'une odeur connue dont il se désintéressera très vite. L'évaluation de ce paramètre se fait

par la mesure du temps que passe l'animal à sentir telle ou telle odeur. Les **tests dits associatifs**, mettent en œuvre des protocoles dans lesquels une odeur est toujours associée à une récompense alimentaire ou hydrique. Les performances d'apprentissage sont évaluées de différentes façons soit en mesurant le temps à aller chercher la récompense, soit en évaluant le nombre de bonnes réponses.

**Mesure du seuil de détection :** Elle évalue la concentration d'odeur minimale que l'animal est capable de détecter. Pour cela, on présente à l'animal une cupule avec de l'eau et une cupule avec une odeur dont la concentration diminue au fur et à mesure des essais. A chaque essai, le temps passé à sentir l'odeur est comparé à celui passé à sentir l'eau. Si l'animal détecte l'odeur, il passera plus de temps à la sentir qu'à sentir l'eau (Gheusi and Lledo, 2007).

**Discrimination olfactive :** Il s'agit de mesurer la capacité d'un animal à différencier des odeurs. Plusieurs tests permettent de l'évaluer ; ils sont représentés ici par ordre croissant de difficultés: 1) *Test de discrimination spontanée non associatif avec présentations successives des odeurs* ; il se déroule en deux phases: a) une phase d'habituation au cours de laquelle une odeur est présentée plusieurs fois à l'animal qui va diminuer son temps d'exploration au fur et à mesure des présentations; b) une phase de test au cours de laquelle une nouvelle odeur est présentée ; si l'animal détecte qu'elle est nouvelle, il l'explorera plus longtemps. (Gheusi and Lledo, 2007; Bath et al., 2008; Mouret et al., 2009b; Lazarini et al., 2009). 2) *Apprentissage discriminatif associatif avec présentation simultanée d'odeurs* ; deux odeurs sont présentées simultanément, l'une est toujours renforcée (récompense hydrique ou alimentaire), tandis que l'autre ne l'est jamais. Pour chaque essai, la discrimination olfactive est évaluée soit en mesurant le temps pour aller chercher la récompense, soit en évaluant le nombre de bonnes réponses, c'est-à-dire le nombre de fois où l'animal s'est dirigé directement vers l'odeur récompensée (Enwere et al., 2004; Mandairon et al., 2006a). 3) *Apprentissage discriminatif associatif avec présentations successives d'odeurs*. Ce test, réalisé grâce à un olfactomètre, est basé sur un apprentissage de type go/nogo. Cet apprentissage consiste à adopter un comportement spécifique en fonction de l'indice présenté. Dans ce test une odeur A est toujours renforcée, tandis qu'une odeur B ne l'est jamais. Si l'odeur A lui est présentée, l'animal doit aller chercher la récompense (réponse go), en revanche si l'odeur B lui est présentée, l'animal doit s'abstenir d'aller chercher la récompense (réponse nogo) (Alonso et al., 2006; Mouret et al., 2008; Mouret et al., 2009b; Lazarini et al., 2009). L'apprentissage de discrimination est évalué en calculant le pourcentage de bonnes réponses

**Mémoire olfactive :** elle mesure la capacité de l'animal à reconnaître une odeur qui lui a déjà été présentée. Plusieurs tests permettent de l'évaluer. Le premier, qui est un test de mémoire

non associatif consiste à présenter deux fois une même odeur à l'animal avec un intervalle inter-essai variant de 30 minutes à 8 heures. Si le temps d'exploration est équivalent entre la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>nde</sup> présentation, l'animal n'a pas reconnu l'odeur. En revanche si le temps d'exploration est plus faible lors de la 2<sup>nd</sup> présentation, l'animal a mémorisé l'odeur (Gheusi et al., 2000; Mechawar et al., 2004; Rochefort et al., 2002; Rochefort and Lledo, 2005; Romero-Grimaldi et al., 2006). Le second test, qui est aussi un test de mémoire non associatif, consiste à habituer l'animal à une odeur (phase d'acquisition), puis lors du test de rappel (temps inter-essai : 60 minutes), une odeur nouvelle ainsi que l'odeur utilisée lors de la phase d'acquisition lui sont présentées simultanément. Le test est validé si l'animal passe plus de temps à sentir la nouvelle odeur que l'odeur familière (Veyrac et al., 2009). Enfin la restitution de l'apprentissage olfactif acquis dans un olfactomètre permet aussi d'évaluer la mémoire olfactive de l'animal. Il s'agit d'un test de mémoire associatif. La restitution de l'information olfactive peut être testée à court (24h) ou long-terme (1 mois). Pour cela, on présente à l'animal aléatoirement les odeurs A (renforcée) et B (non renforcée), et on évalue le nombre de bonnes réponses. Pour éviter tout ré-apprentissage, l'odeur A n'est pas renforcée.

### ***b. Variations de neurogénèse et performances olfactives***

Différentes approches corrélatives ont permis de mettre en évidence un lien entre nombre de néoneurones bulbaires et performances olfactives. Ainsi, il a été montré que l'augmentation du nombre de néoneurones bulbaires, obtenue soit par l'élevage en milieu enrichi en odeurs (Rochefort et al., 2002; Rochefort and Lledo, 2005; Veyrac et al., 2009), soit par l'utilisation d'un agent pharmacologique inhibiteur de la NOSynthase (Romero-Grimaldi et al., 2006), était corrélée à une amélioration de la mémoire olfactive. Une seule étude va à l'encontre de ces observations ; il y est décrit que des souris KO pour la sous-unité  $\beta_2$  du récepteur cholinergique nicotinique, chez lesquelles une augmentation du nombre de néoneurones granulaires est observée, présentent des déficits de mémoire olfactive (Mechawar et al., 2004). Il est probable que la perturbation du réseau bulbaire consécutive à l'inactivation du récepteur nicotinique explique en partie ces résultats comportementaux.

Inversement, il a été montré que la baisse de neurogénèse bulbaire était corrélée à une diminution des performances olfactives. Ainsi, chez des souris knock-out pour la protéine NCAM, une altération de la migration des neuroblastes, induisant une augmentation de la taille du CMR parallèlement à une réduction de la taille du BO et à une baisse de la densité de cellules nouvellement formées dans ce dernier a été mise en évidence (Cremer et al., 1994). Les capacités

discriminatives de ces souris sont altérées, mais en revanche leur mémoire olfactive semble intacte (Gheusi et al., 2000). A la lecture de cette étude il reste cependant difficile de savoir si les altérations de discrimination sont dues à l'altération de la migration cellulaire, à la réduction de la taille du BO, ou enfin à la diminution de la densité de néoneurones bulbaires. Différentes études ont permis de différencier l'impact de ces paramètres sur les capacités olfactives. Ainsi, il a été montré que l'**altération de la migration** n'était pas responsable des déficits olfactifs ; en effet, des souris knock-out pour la protéine Bax (Knudson et al., 1995) qui présentent une altération de la migration des neuroblastes sans modification du nombre de néoneurones granulaires, ne présentent aucune altération de la discrimination olfactive (Kim et al., 2007). Les deux autres particularités caractérisant les souris KO NCAM et qu'il restait à dissocier étaient la **réduction du nombre de néoneurones bulbaires** et la **diminution de la taille du BO**. L'étude d'un modèle de souris âgée et d'un modèle de souris transgénique pour le récepteur au facteur de croissance LIF (Leukemia Inhibitor Facteur) a permis cette dissociation. En effet ces deux modèles sont caractérisés par une baisse de neurogénèse dans le BO sans modification de sa taille, et par une altération des capacités de discrimination fine (Enwere et al., 2004). Il semble donc que la baisse de la neurogénèse adulte bulbaire et non la diminution de la taille du BO soit responsable d'une altération des capacités discriminatives. Une étude récente confirme ses résultats, puisqu'il y est décrit qu'un mutant pour le facteur de croissance BDNF, présentant une diminution de la survie des néoneurones bulbaires, possède des facultés discriminatives altérées (Bath et al., 2008).

### ***c. Apport des études causales***

Plus récemment, de nouvelles approches ont été développées afin de mieux apprécier la fonction des néoneurones bulbaires. A l'heure actuelle, un seul modèle transgénique permet de diminuer directement la neurogénèse adulte dans le BO. Cette étude repose sur une souris transgénique issue du croisement d'une souris Nestine-CreERT2 avec une souris NSE-DTA. Chez cette souris, l'injection de Tamoxifène va activer la protéine recombinase Cre dans les cellules Nestine. Dès que ces cellules vont amorcer leur différenciation neuronale et exprimer le marqueur NSE, la Cre va exciser le codon stop qui se situe en amont du site DTA (gène codant pour la toxine diphtérique). La protéine diphtérique va alors s'exprimer dans ces cellules et conduire à leur mort. Bien que la création de nouveaux neurones soit dramatiquement réduite chez ces souris, la fonction bulbaire (discrimination olfactive et mémoire olfactive à court et long-terme) semble préservée (Imayoshi et al., 2008). Plus récemment, le blocage spécifique de la neurogénèse bulbaire a été obtenu grâce à l'irradiation de la ZSV. Dans ce modèle, la

réduction de neurogénèse bulbaire (70%) consécutive à l'irradiation épargne les capacités de discrimination olfactive (test de discrimination simple ou apprentissage discriminatif réalisé dans un olfactomètre) ainsi que les capacités de mémorisation et de rappel à court terme; en revanche la mémoire olfactive à long-terme des animaux est altérée (Lazarini et al., 2009).

#### **4. Rôle des néoneurones dans les interactions sociales**

Précédemment, nous avons décrit le rôle important joué par le système olfactif principal dans la mise en place d'un comportement reproducteur et maternel appropriés. Nous venons de voir que les néoneurones du BO semblent jouer un rôle dans la discrimination ainsi que dans la mémoire olfactive. Ainsi, se pose naturellement la question de la relation entre les néoneurones du BO et le comportement social. Les quelques études réalisées sur ce sujet se sont principalement intéressées au comportement sexuel et à la maternité (voir revue (Gheusi et al., 2009)).

##### ***a. Néoneurones et comportement sexuel***

La relation entre neurogénèse bulbaire et comportement sexuel a été appréhendée au travers de deux questions : 1) Quel est l'impact des phéromones sexuelles sur la neurogénèse bulbaire ? 2) Quel est le rôle joué par les néoneurones dans la mise en place d'un comportement sexuel adéquat ?

Des études réalisées chez le campagnol ont mis en évidence que l'exposition de femelles à l'odeur de mâles déclenchait un œstrus et augmentait la prolifération cellulaire dans la ZSV, le long du CMR et dans la zone subépendymaire du BO (Smith et al., 2001). Ces effets sont bloqués par une ovariectomie et restaurés par un traitement à l'estradiol. Ces données indiquent donc un rôle majeur des hormones ovariennes. Des résultats comparables ont été obtenus chez la souris chez laquelle l'exposition à l'odeur de mâles durant 7 jours entraîne une augmentation de prolifération au niveau de la ZSV qui se traduit 4 semaines plus tard par une augmentation du nombre de néoneurones dans le BO (Mak et al., 2007; Larsen et al., 2008). Cette augmentation est dépendante du statut social du mâle puisqu'elle n'est observée que lorsque les femelles sont exposées à des mâles dominants. La prolactine jouerait un rôle crucial dans la mise en place de ce mécanisme puisque des souris femelles knock-out pour le récepteur à la PRL (exprimé dans la ZSV) exposées à l'odeur de mâle dominant ne présentent plus cette augmentation de prolifération (Mak et al., 2007).

Les odeurs sociales agissent donc sur la neurogénèse bulbaire, mais qu'en est-il du rôle

joué par les néoneurones bulbaires dans le comportement sexuel ? Une étude, réalisée chez le hamster, a mis en évidence que des cellules BrdU-IR âgées de 3 à 7 semaines étaient colocalisées avec le facteur d'activation Fos chez des hamsters mâles sacrifiés juste après l'accouplement (Huang and Bittman, 2002). Ces données suggèrent donc que les néoneurones sont intégrés dans les circuits régissant le comportement de reproduction du hamster.

L'étude de Mak et collaborateurs citée plus haut va beaucoup plus loin dans la compréhension du rôle fonctionnel joué par ces néoneurones. En effet, cette étude montre que les souris femelles exposées à l'odeur de mâles dominants, chez lesquelles la neurogénèse bulbaire est augmentée, choisissent pour s'accoupler un mâle dominant. En revanche les femelles exposées à l'odeur de mâles dominés, chez lesquelles la neurogénèse n'est pas modifiée, ne montrent, lors de l'accouplement, aucune préférence pour le mâle dominant (Mak et al., 2007). Si, dans une perspective évolutive, l'on considère le choix d'un mâle dominant comme géniteur un choix judicieux pour la survie de l'espèce, ces données mettent donc en exergue une altération du comportement sexuel des femelles qui ne présentent pas d'augmentation de neurogénèse. De plus ces résultats sont renforcés par le fait que l'ablation de la neurogénèse par un antimétabolite transitoire, injecté durant l'exposition au mâle dominant, altère le choix du partenaire sexuel adéquat (Mak et al., 2007).

### ***b. Néoneurones et maternité***

Les études qui se sont intéressées à la relation entre neurogénèse bulbaire et maternité se sont uniquement interrogées sur l'impact de la gestation et de la lactation sur la prolifération cellulaire dans la ZSV. Une étude de Shingo et collaborateurs, réalisée chez la souris, a mis en évidence une augmentation de prolifération dans la ZSV lors du 7<sup>ème</sup> jour de gestation et lors du 7<sup>ème</sup> jour postpartum. Cette augmentation de prolifération se répercute 4 semaines plus tard dans les couches granulaire et glomérulaire du BO. Le facteur impliqué dans cette augmentation de prolifération semble être la PRL puisque des souris femelles hétérozygotes pour le récepteur à la PRL (RPRL<sup>+/-</sup>), ne présentent pas, durant la gestation, de pic de prolifération dans la ZSV (Shingo et al., 2003). Cependant ces données restent isolées et ne semblent pas transposables à d'autres espèces puisqu'une étude réalisée chez le rat montre une augmentation de prolifération uniquement au 21<sup>ème</sup> jour de gestation (Furuta and Bridges, 2005). Les données concernant la relation entre néoneurones et maternité restent donc à confirmer et surtout à étendre puisqu'à l'heure actuelle aucune étude ne s'est intéressée au rôle des néoneurones bulbaires dans le déclenchement du comportement maternel, ainsi que dans la reconnaissance mère-petits.





---

## OBJECTIFS DE LA THESE

---

Il est désormais établi que le système ZSV-BO est l'une des deux zones du cerveau de mammifère adulte dans laquelle de nouveaux neurones sont générés chaque jour. De nombreuses études neuroanatomiques ont mis en évidence que ces néoneurones s'intègrent dans les réseaux neuronaux préexistants, ce qui soulève la question fondamentale de leur rôle fonctionnel. Les quelques études qui se sont penchées sur le rôle fonctionnel de ces néoneurones aboutissent à des conclusions contradictoires puisque certaines suggèrent que les néoneurones ne sont pas nécessaires à l'olfaction alors que d'autres impliquent les néoneurones dans de nombreuses fonctions olfactives. Ainsi, des souris transgéniques dans lesquelles les niveaux de neurogénèse sont réduits (souris KO pour la protéine pro-apoptotique Bax (Kim et al., 2007) et souris produisant une toxine diphtérique spécifique des neurones (Imayoshi et al., 2008)) ne présentent aucun déficit dans les fonctions olfactives, alors que dans d'autres modèles transgéniques associés à une altération de la neurogénèse (souris déficientes pour la NCAM (Gheusi et al., 2000), souris knock-in pour la forme Val66Met du BDNF (Bath et al., 2008), souris hétérozygotes pour le récepteur LIF (Enwere et al., 2004)) des déficits de discrimination olfactive ont été décrits. Ces derniers résultats reliant niveaux de neurogénèse et performances olfactives sont corroborés par des études corrélatives ayant montré une relation positive entre nombre de néoneurones et performances olfactives (discrimination d'odeur, mémoire à court et long-terme) dans des modèles d'enrichissement (Moreno et al., 2009; Rochefort et al., 2002; Rochefort and Lledo, 2005; Veyrac et al., 2009). En résumé, bien qu'elles tendent vers un rôle des néoneurones dans la fonction olfactive, ces données restent contradictoires et corrélatives et aucune étude ne montre une implication directe des néoneurones bulbaires lors de différentes tâches olfactives.

L'objectif de cette thèse était donc d'étudier le rôle fonctionnel des néoneurones bulbaires. Nous avons choisi pour cela deux approches : d'une part l'étude de l'implication directe des néoneurones bulbaires lors de deux tâches d'apprentissage olfactif mettant en œuvre des odeurs neutres ; et d'autre part l'étude du rôle de ces néoneurones dans une situation de vie

où l'olfaction joue un rôle primordial et où il a été de plus mis en évidence une augmentation de la neurogénèse bulbaire : la maternité.

Le premier chapitre de thèse avait donc pour but de mettre en évidence l'implication des néoneurones granulaires bulbaires lors de deux tâches olfactives : un apprentissage de discrimination d'odeurs et la restitution d'une mémoire à long-terme. Pour cela, nous avons examiné l'activation des néoneurones chez des animaux ayant accompli ces tâches comportementales. L'activation des néoneurones granulaires bulbaires a été visualisée par l'expression du produit du gène précoce *c-fos*.

Le second chapitre de thèse avait pour but d'étudier d'une part le rôle fonctionnel de l'augmentation de neurogénèse bulbaire liée à la maternité et d'autre part les conséquences d'une maternité perturbée par un stress sur la neurogénèse bulbaire ainsi que sur les performances olfactives des mères. Pour cela, nous avons comparé la mémoire olfactive de femelles vierges, de mères et de mères stressées et analysé l'impact de la gestation et d'un stress gestationnel sur la neurogénèse bulbaire ainsi que sur le recrutement des néoneurones lors d'un test de mémoire olfactive à court-terme.

## MATERIELS ET METHODES

---

### **I. ANIMAUX**

Des souris C57Bl/6J âgées de trois mois à leur arrivée et provenant de l'élevage Charles River (France) ont été utilisées pour l'ensemble des expériences. Les animaux ont été hébergés dans une animalerie présentant des conditions de température (22 +/- 3°C) et d'humidité (~50%) constamment contrôlées. Les expériences ont été menées en accord avec les recommandations pour l'expérimentation animale de l'Union Européenne (86/669/EEC).

### **II. MARQUAGE DES CELLULES NEOFORMEES**

Pour les études du **chapitre 1**, les souris ont reçu par voie intrapéritonéale deux injections de 5-bromo-2'-désoxyuridine (BrdU) à la dose de 50mg/kg de poids corporel, 5 semaines avant le début de l'apprentissage. La BrdU a été dissoute dans une solution saline pour atteindre une concentration finale de 5mg/ml.

Pour les études du **chapitre 2**, les souris ont reçu par voie intrapéritonéale deux injections de 5-iodo-2'-désoxyuridine (IdU) à la dose de 100mg/kg de poids corporel le 7<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> jour avant la mise en reproduction. L'IdU a été dissoute dans une solution de PBS-NH<sub>4</sub>OH pour atteindre une concentration finale de 10mg/ml. Puis au 7<sup>ème</sup> jour de gestation les animaux ont reçu par voie intrapéritonéale deux injections espacées de 12 heures de 5-chloro-2'-désoxyuridine (CldU) à la dose de 100mg/kg de poids corporel. La CldU a été dissoute dans une solution saline pour atteindre une concentration de 10mg/ml

### **III. STRESS GESTATIONNEL**

#### **A. Mise en reproduction**

A leur arrivée les femelles ont été placées en cages collectives afin de synchroniser leur cycle ovarien. Trois semaines après leur arrivée, deux groupes de femelles ont été constitués : un groupe de souris vierges et un groupe de souris destinées à être mères. Afin de favoriser le

déclenchement de l'œstrus lors de l'introduction du mâle reproducteur dans la cage, la sciure souillée provenant de la cage du futur géniteur a été mélangée avec celle d'une cage collective de femelles. Cinq jours plus tard, le mâle a été placé dans la cage collective de femelles lui correspondant. Afin de dater la gestation, la présence d'un bouchon muqueux a été vérifiée tous les matins chez toutes les femelles accouplées, mais aussi chez les femelles vierges afin de contrôler l'impact de cette manipulation. Le bouchon muqueux qui se forme à l'entrée du vagin est un coagulat de sécrétions issues des vésicules séminales et de la prostate du mâle. Sa présence permet donc de déterminer de façon fiable le jour de fécondation des femelles. Dès la détection du bouchon chez une femelle, celle-ci a été placée en cage individuelle et ce jour a été considéré jour de gestation 0 (GD<sub>0</sub>).

## **B. Stress de contention**

Le stress gestationnel que nous avons réalisé consiste en un stress de contention selon un modèle classiquement utilisé au laboratoire (Koehl et al., 1999; Lemaire et al., 2000). Les femelles gestantes ont été placées dans des tubes de contention (Tube Greiner de 50 mL). Ces tubes, transparents, présentent un diamètre de 3cm et une longueur de 11 cm ; ils sont percés de petits trous à leur extrémité afin de permettre à l'animal une ventilation normale. De plus une ouverture de 5 mm de largeur a été réalisée sur toute la longueur du tube, ceci permettant une adaptation du diamètre du tube au fur et à mesure de la gestation. Trois sessions quotidiennes de 45 min de stress à 9h00, 12h00 et 17h00 ont été instaurées du 12<sup>ème</sup> jour de gestation (GD<sub>12</sub>) jusqu'à la parturition qui intervient en moyenne à GD<sub>19</sub>.

## **IV. ETUDES COMPORTEMENTALES**

### **A. Apprentissage dans un olfactomètre**

#### **1. Dispositif**

Nous avons utilisé un olfactomètre à 8 canaux composé d'un isolateur ventilé, dans lequel l'animal est introduit, associé à un tube par lequel sont délivrées l'eau et les différentes odeurs provenant des 8 canaux (Figure 1; Knosys, Bethesda, USA). Les solutions odorantes (Fluka), préparées quotidiennement, ont été diluées dans de l'huile minérale (Sigma) pour atteindre une concentration finale de 1%.

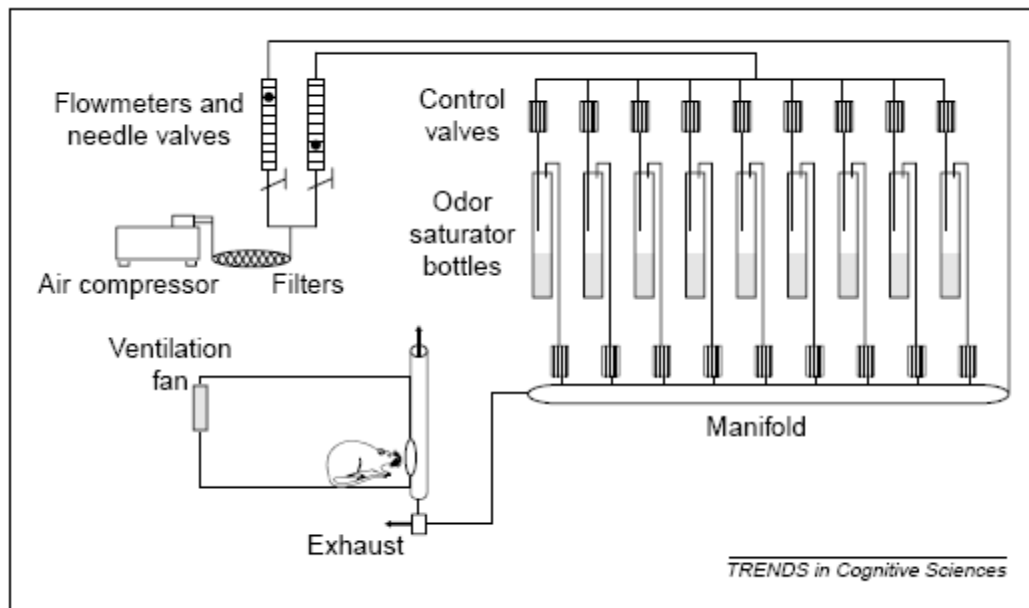


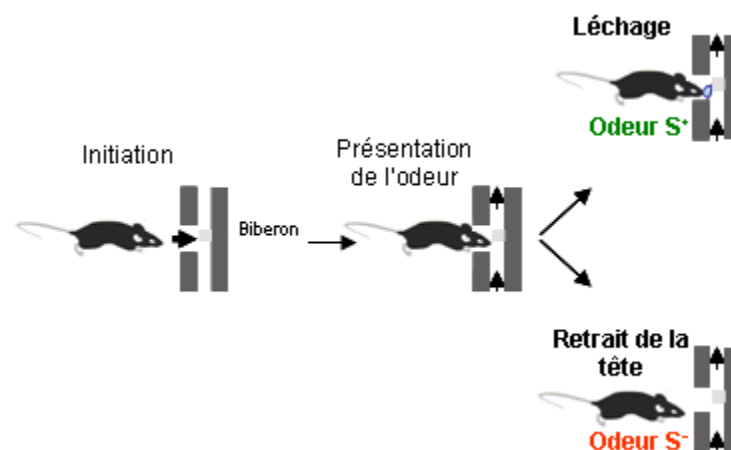
Figure 1 : Représentation schématique de l'olfactomètre (Slotnick, 2001)

## 2. Discrimination olfactive

Pour les expériences relatives à l'impact d'un apprentissage de discrimination olfactive sur le recrutement des néoneurones (chapitre 1), des souris mâles ont été utilisées. A leur arrivée les animaux ont été placés en cage individuelle sous un cycle lumière/obscurité de 12h/12h (lumière de 8h00 à 20h00). Les animaux ont eu accès *ad libitum* à la nourriture et à l'eau pendant les cinq premières semaines suivant leur arrivée, puis ils ont été soumis à une restriction hydrique durant 12 jours, étape indispensable au protocole d'apprentissage olfactif. Durant cette période les souris n'ont eu accès qu'à 1-2 mL d'eau par jour en fin de phase diurne. Le volume d'eau a été ajusté quotidiennement en fonction du poids de l'animal de façon à ce que la perte pondérale ne dépasse pas 15% du poids corporel initial. La veille du test et durant les 4 jours du test, les animaux ont été maintenus en privation hydrique totale, le seul apport d'eau étant constitué des récompenses hydriques obtenues durant l'épreuve. A la fin de l'apprentissage, une partie des animaux a été maintenue un mois supplémentaire dans les mêmes conditions de restriction hydrique (1-2 mL).

Nous avons utilisé un protocole de conditionnement opérant développé par Burton Slotnick (Bodyak and Slotnick, 1999). Les animaux ont d'abord été entraînés à insérer leur museau dans le tube délivrant les odeurs et à le lécher afin de recevoir une récompense (5  $\mu$ l d'eau). Une fois cette étape acquise, la récompense a été associée à l'odeur S<sup>+</sup> (isoamylacétate). Au cours des essais, le délai entre l'émission de l'odeur et de la récompense a été augmenté, obligeant l'animal à laisser son museau dans le tube et donc à sentir l'odeur pour recevoir sa

récompense. De cette façon l'animal apprend à associer l'odeur  $S^+$  à la récompense. Une fois l'association stabilisée, après 3 jours d'apprentissage procédural, l'apprentissage discriminatif a débuté le 4<sup>ème</sup> jour par l'introduction d'une odeur  $S^-$  non récompensée (eucalyptus). Cet apprentissage a été divisé en blocs de 20 essais, 10 essais avec l'odeur  $S^+$  et 10 essais avec l'odeur  $S^-$ , l'ordre de présentation étant déterminé au hasard. Une réponse à l'odeur  $S^+$  (léchage du tube, réponse GO) et pas de réponse à l'odeur  $S^-$  (retrait du museau, réponse NO GO) ont été comptabilisées comme réponses correctes (Figure 2).



**Figure 2: Séquence comportementale impliquée dans l'apprentissage go/nogo :** L'initiation de l'essai se fait par l'insertion du museau dans le tube ; une odeur est alors présentée pour une période de 2s. Un animal entraîné attend la récompense lors de la présentation de l'odeur  $S^+$  et retire son museau lors de la présentation de l'odeur  $S^-$ .

A la fin de chaque bloc le pourcentage de bonnes réponses (nombre de choix corrects sur 20 choix possibles) est calculé et l'apprentissage est considéré acquis lorsque les animaux présentent au moins 85% de bonnes réponses sur 2 blocs de 20 essais successifs.

Trois groupes d'animaux ont été constitués : le groupe Apparié pour lequel l'odeur  $S^+$  est toujours récompensée alors que l'odeur  $S^-$  ne l'est jamais ; le groupe Non Apparié pour lequel les odeurs  $S^+$  et  $S^-$  sont récompensées de façon aléatoire de telle façon que les animaux n'acquièrent pas l'apprentissage mais reçoivent la même stimulation olfactive que les animaux du groupe Apparié ; enfin le groupe Témoin qui n'est pas testé dans l'olfactomètre et n'a donc reçu aucune stimulation odorante. Les trois groupes ont subi la même restriction hydrique.

### 3. Restitution à long-terme

Une partie des souris ayant acquis l'apprentissage olfactif a été maintenue en restriction hydrique durant 30 jours à l'issue desquels les animaux ont été re-testés dans l'olfactomètre afin de restituer l'information olfactive acquise. Les souris ont été soumises à un bloc de 20 essais,

dont 10 avec S<sup>+</sup> et 10 avec S<sup>-</sup>, sans que S<sup>+</sup> soit renforcée afin d'éviter un réapprentissage. Le pourcentage de réponses correctes a été calculé sur ces 20 essais.

Quatre groupes expérimentaux ont été constitués. Le groupe Apparié-Restitution est constitué d'animaux qui ont acquis l'apprentissage discriminatif et auxquels on demande de restituer l'information apprise. Le groupe Apparié-Pas de restitution correspond aux animaux qui ont acquis l'apprentissage et qui sont re-exposés à l'olfactomètre mais sans subir le test olfactif. Le groupe Non Apparié-Restitution correspond au groupe n'ayant pas acquis l'apprentissage mais testé malgré tout dans l'olfactomètre afin de contrôler l'effet de la stimulation olfactive. Enfin les animaux du groupe Témoin qui ne sont pas exposés à l'olfactomètre. Les quatre groupes ont été soumis à la même restriction hydrique.

## **B. Test de mémoire olfactive**

### **1. Dispositif**

Ce test se déroule au sein de la cage de l'animal. Un coton-tige sur lequel ont été préalablement déposés 5µl d'une solution odorante est inséré entre les barreaux de la grille de la cage de telle sorte que le coton-tige se trouve à 10 cm au dessus du sol. Deux solutions odorantes à une concentration finale de 1 pour 1000 ont été utilisées : Decanal caprinaldehyde et Cardamome. Un test préalable a permis d'établir que les souris ne montraient aucune préférence ou aversion pour l'une ou l'autre des deux odeurs.

### **2. Procédure**

Ce test de mémoire a été employé pour les expériences relatives à l'impact de la maternité sur la neurogénèse bulbaire et sur les performances olfactives (chapitre 2). Des souris femelles et mâles C57Bl/6J ont été utilisées. A leur arrivée les animaux ont été placés en cage collective (4 femelles par cage) ou individuelle (1 mâle par cage) sous un cycle lumière/obscurité inversé de 12h/12h (lumière de 20h00 à 8h00). Les animaux ont eu accès à la nourriture et à l'eau *ad libitum*. Après trois semaines d'habituation, les femelles ont été mises en reproduction. Trois groupes expérimentaux ont été constitués : un groupe de femelles vierges (V), un groupe de mères (M) et un groupe de mères stressées (MS). Le test de mémoire olfactive a été réalisé au 14<sup>ème</sup> jour postpartum. Trois heures avant le début du test, les petits ont été retirés de la cage maternelle ; à partir de ce moment, la mère n'a plus eu de contact avec ses petits. Le test se déroule en deux étapes, une étape d'acquisition et une étape de rétention qui sont séparées par un temps inter-essai variable selon les expériences. Lors de ces deux étapes, le coton-tige est



introduit dans la cage de l'animal pour une durée de 5 minutes. L'expérimentateur mesure à l'aide d'un chronomètre le temps que passe l'animal à sentir le coton-tige odorant lors des deux expositions. Le pourcentage d'exploration, qui correspond au rapport du temps d'exploration lors de la 2<sup>nd</sup>e exposition sur le temps d'exploration lors de la 1<sup>ère</sup> exposition, est alors calculé. Le temps passé à sentir le coton-tige lors de la 1<sup>ère</sup> exposition correspond donc à 100% d'exploration.

## **V. ETUDE ANATOMIQUE**

### **A. Perfusion intra-cardiaque**

Pour l'ensemble des études, les souris ont été sacrifiées 1 heure après la fin de l'apprentissage. Elles ont été anesthésiées avec une injection intra-péritonéale de pentobarbital (100mg/kg, Ceva Santé Animal) et perfusées par voie intracardiaque avec 25-30 mL de préfixateur (tampon phosphate salin ou PBS 0,1 M pH=7,3) contenant de l'héparine, suivi de 25-30 mL de fixateur (paraformaldéhyde à 4% dans du tampon phosphate à 0,1 M, pH=7,3).

### **B. Préparation des tissus**

Après une période de post-fixation supérieure à 10 jours, des coupes sagittales ou coronales sériées de 40 µm ont été réalisées au moyen d'un vibratome (Leica). Les coupes sagittales de cerveau ont été réalisées à partir de l'hémisphère gauche du cerveau inclus dans un gel d'agarose-sucrose. Les coupes ont été récupérées dans du PBS-azide (0.015%) et conservées à 4°C jusqu'à utilisation.

### **C. Immunohistochimie peroxydasique**

Les coupes flottantes ont été rincées dans du PBS (4x10 minutes) puis traitées avec une solution de méthanol contenant 1,2% d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 30% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pendant 30 minutes à température ambiante afin d'inactiver les peroxydases endogènes. Les coupes ont ensuite été rincées avec du PBS (4x10 minutes). Pour révéler les analogues de la thymidine, une étape de démasquage des sites antigéniques est nécessaire et les coupes ont été incubées avec de l'HCl (2N) 30 min à 37°C. Après rinçages au PBS (4x10 minutes), elles ont été incubées pendant 45 minutes à température ambiante dans du tampon PBS contenant du Triton X-100 (0,3%, permettant de perméabiliser les membranes cellulaires) et du sérum correspondant

à l'espèce chez laquelle a été produit l'anticorps secondaire (SN, 3%). Cette procédure permet de bloquer les sites de fixation aspécifiques. Les coupes ont alors été incubées pendant 72h à 4°C dans une solution de PBS-Triton X-100 (0,3%)-SN (1%) contenant l'anti-corps primaire.

Après incubation les coupes ont été lavées dans du PBS (4x10'), puis incubées 1h30 à température ambiante dans une solution de PBS contenant du SN (1%) et un anticorps secondaire biotinylé. Après incubation, les coupes ont été rincées avec du PBS (4x10 minutes), puis incubées dans une solution de streptavidine-biotine-péroxydase (1/200) pendant 1h30 à température ambiante. Les coupes ont été lavées dans du PBS (2x10') puis dans une solution de Tris (0,1 M, pH=7,4 ; 2x10'). L'activité peroxydase a été révélée en employant la 3,3 diaminobenzidine (DAB) comme chromogène. Les coupes ont été incubées avec la DAB (50 mg/100 ml) et 0,027% d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 30% et le marquage a été contrôlé visuellement. La réaction a été stoppée par lavages dans du tampon Tris-NaCl (0,1 M, pH=7,4, 4x10') et les coupes ont été montées sur lames gélatinées.

Afin de visualiser la couche granulaire du BO et faciliter le comptage des cellules XdU-immunoréactives (BrdU-IR, CldU-IR, IdU-IR), une contre-coloration a été réalisée. Les coupes ont été trempées 40 secondes dans de l'hématoxyline de Harris, rincées à l'eau, puis trempées 10 secondes dans une solution d'éthanol 70% contenant 1% d'acide chlorhydrique. Après rinçage à l'eau, elles ont été déshydratées par passage dans des bains d'alcool successifs, puis passées dans un bain d'histosol et recouverte d'une lamelle enduite de Shandon.

## **D. Immunofluorescence**

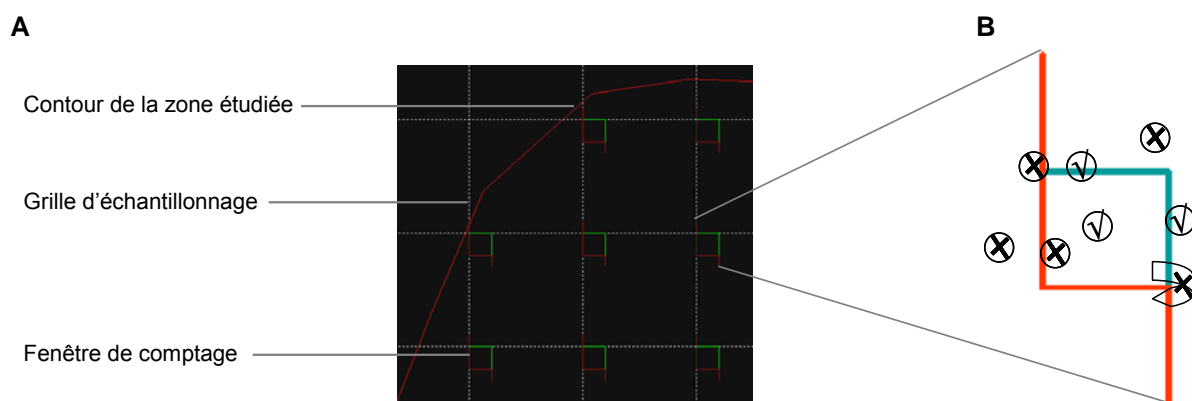
Pour les doubles (XdU, Fos) ou les triples (XdU, NeuN, Fos) marquages les coupes rincées en PBS (4x10') ont été incubées avec de l'HCl (2N) 30 min à 37°C afin de démasquer les sites XdU; après rinçages au PBS (4x10'), elles ont été incubées pendant 45 min à température ambiante dans du tampon PBS contenant du Triton X-100 (0,3%) et du SN de chèvre (SNC 5%). Les coupes ont alors été incubées pendant 72h à 4°C dans une solution de PBS-Triton X-100 (0,3%)-SNC (5%) contenant le mélange d'anticorps primaires suivants : anti-corps monoclonaux anti-XdU, anti-corps monoclonaux de souris anti-NeuN et anti-corps polyclonaux de lapin anti-Fos. Pour le double marquage, seuls l'anti-corps anti-XdU et l'anti-corps anti-Fos ont été utilisés. A l'issue de l'incubation les coupes ont été lavées dans du PBS (4x10') puis incubées 2h30 à température ambiante dans une solution de PBS-SNC (5%) contenant les anticorps secondaires suivants : anti-corps de chèvre anti-rat IgG marqués au Cy3, anti-corps de chèvre anti-souris IgG marqués au Cy5, et anti-corps de chèvre anti-lapin IgG marqués à l'Alexa 488

(1/1000, Molecular Probe). Pour le double marquage, seuls l'anti-corps de chèvre anti-rat IgG marqué au Cy3 et l'anti-corps de chèvre anti-lapin IgG marqué à l'Alexa 488 ont été utilisés. Après lavage dans du PBS ( $2 \times 10'$ ), puis dans du Tris-NaCl ( $2 \times 10'$ ) les coupes ont été montées sur des lames non gélatinées et couvertes d'un milieu de montage aqueux (vectashield).

## E. Evaluation quantitative de l'immunomarquage

### 1. Quantification d'objets marqués par réaction immunoperoxydasique

Nous avons quantifié le nombre de cellules néoformées grâce à la technique de *l'Optical Fractionator*. Il s'agit d'une méthode de stéréologie non biaisée qui repose sur l'échantillonnage systématique et aléatoire d'un objet à étudier sans présupposés quant à la taille ou la forme de la structure étudiée, et qui permet d'estimer, dans le cas présent, le nombre de cellules XdU-IR. *L'Optical Fractionator* place sur la zone d'intérêt, ici la zone granulaire du bulbe olfactif, une grille d'échantillonnage dans laquelle va se déplacer une fenêtre de comptage en 3 dimensions (Figure 3A). Les objets visibles et nets situés à l'intérieur de la fenêtre de comptage (hormis des zones d'exclusion) sont comptabilisés (Figure 3B).



**Figure 3 : Représentation de la grille d'échantillonnage et de la fenêtre de comptage.** (A) Image du placement de la grille d'échantillonnage et de la fenêtre de comptage sur la zone d'intérêt (BO). (B) Schéma de la fenêtre de comptage. Les zones d'exclusion sont visualisées en rouge. Seules les cellules étant à l'intérieur de la fenêtre ou touchant une ligne bleue sont comptabilisées.

Une coupe toutes les  $n$  coupes étant explorée, la probabilité d'échantillonnage ( $ssf$ ) est de  $1/n$ . Le nombre total d'objets ( $N$ ) est calculé de la façon suivante:

$$N = \sum \text{objets} \times 1/asf \times 1/hsf \times 1/ssf$$

$$asf = \frac{\text{Aire de la fenêtre de comptage}}{\text{Aire de la grille d'échantillonnage}}$$

$$hsf = \frac{\text{Hauteur de la fenêtre de comptage (h)}}{\text{Epaisseur réelle de la coupe}}$$

$$h = \text{Epaisseur réelle de la coupe} - (2 \times \text{zones de garde (2}\mu\text{m)})$$

Dans notre cas, une coupe toutes les 10 étant analysée, la probabilité d'échantillonnage était donc de  $1/10$ . L'épaisseur réelle des coupes mesurée était en moyenne égale à  $12\mu\text{m}$ . La hauteur de la grille de comptage  $h$  était par conséquent de  $8\mu\text{m}$ . Les dimensions de la fenêtre de comptage et de la grille d'échantillonnage ont été déterminées de manière empirique de façon à répondre aux critères suivants :

- La fenêtre de comptage doit contenir entre 1 et 6 objets ;
- Le nombre de cellules calculé après échantillonnage doit correspondre au nombre réel de cellules comptées sur l'ensemble de la zone.
- Le Gundersen ( $G$ ) doit s'approcher de la valeur optimale de 0,1. Ce Gundersen est un coefficient d'erreur qui reflète la qualité de l'échantillonnage. Son calcul prend en considération la variance entre les sections et la variance au sein d'une section.

Les protocoles d'injection des analogues de la thymidine étant différents entre l'étude du chapitre 1 et celle du chapitre 2, deux tailles de fenêtre de comptage ont été sélectionnées. Une fenêtre de comptage de  $40\mu\text{m} \times 40\mu\text{m} \times 8\mu\text{m}$  et une fenêtre de comptage de  $50\mu\text{m} \times 50\mu\text{m} \times 8\mu\text{m}$  ont été utilisées respectivement dans l'étude du chapitre 1 et dans l'étude du chapitre 2. Une fois la taille de la fenêtre de comptage déterminée, des grilles d'échantillonnage de différentes tailles ont été testées (200x200, 300x300):

Taille de la fenêtre de comptage	Taille de la grille d'échantillonnage		Comptage manuel
	200 x 200	300 x 300	
40x40	24900 cellules G = 0,12	24300 cellules G = 0,17	24204
50x50	38640 cellules G = 0,12	32400 cellules G = 0,16	30880

Afin de concilier les trois critères précédents, nous avons choisi une grille d'échantillonnage de 200x200 pour l'étude du chapitre 1 et une grille d'échantillonnage 300x300 pour l'étude du chapitre 2.

Cette quantification a été rendue possible par l'utilisation du logiciel StereoInvestigator (Microbrightfield).

## 2. Quantification d'objets révélés par réaction d'immunofluorescence

L'activation des cellules néoformées a été étudiée par immunofluorescence. Le marquage immunofluorescent a été analysé par microscopie confocale. Cette technique permet de contourner l'une des limitations de la microscopie classique qui réside dans la faible profondeur de champ de l'image. En réalisant des plans focaux de 1  $\mu\text{m}$  et en balayant par le laser le plan de focalisation, une image très nette de chaque plan focal est obtenue. A partir des reconstructions en 2D nous avons déterminé le pourcentage de cellules nouvellement formées (XdU-IR) qui se différencient en neurones (NeuN-IR) et sont éventuellement activées par l'apprentissage (Fos-IR).

Pour évaluer le marquage des cellules, le fluorochrome Alexa 488, dont les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission maximales sont respectivement 491 et 515 nm, a été excité par un laser Argon 488 ; le fluorochrome Cy3, dont les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission maximales sont respectivement 550 et 565 nm, a été excité par un laser Gre/Ne ; le fluorochrome Cy5 dont les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission maximales sont respectivement 650 et 670 nm a été excité par un laser He/Ne. Le spectre d'émission du Cy3 chevauchant celui de l'Alexa 488, une analyse séquentielle a été réalisée et pour chaque plan focal les trois lasers excitant les fluorochromes ont donc été activés successivement.

L'analyse de l'activation des néoneurones dans l'hippocampe a été effectuée « en direct ». En revanche pour l'analyse de l'activation des néoneurones du BO, le logiciel d'analyse

d'image *Metamorph* (Roper Scientific) a été utilisé. Ce logiciel permet d'une part de quantifier les objets présents dans une image (acquise avec le microscope confocal) et d'autre part d'analyser la colocalisation d'objets. Avant de quantifier le nombre d'objets, un seuillage est appliqué sur toutes les images, à l'aide d'un filtre médian. Une fois cette étape de seuillage terminée, les images de tous les marqueurs sont superposées plan par plan. Ainsi le logiciel va dénombrer le nombre de cellules XdU-IR, le nombre de cellules XdU-IR qui colocalisent avec le marqueur NeuN, et enfin le nombre de cellules XdU-NeuN-IR qui expriment Fos. Ces différentes mesures nous permettent de calculer le pourcentage de différenciation neuronale, le nombre de néoneurones, le pourcentage de néoneurones activés et le nombre de néoneurones activés. Ainsi :

$$\text{Nombre de néoneurones} = \% \text{ de différenciation neuronale} \times \text{Nb de cellules XdU-IR (en DAB)}$$

$$\% \text{ de néoneurones activés} = \frac{\text{Nb de cellules XdU-NeuN-Fos-IR (en fluorescence)}}{\text{Nb de cellules XdU-NeuN-IR (en fluorescence)}} \times 100$$

$$\text{Nombre de néoneurones activés} = \% \text{ de néoneurones activés} \times \text{Nb de cellules XdU-IR (en DAB)}$$

## VI. STATISTIQUES

Tous les résultats sont présentés sous forme de moyenne +/- sem. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel *Statistica 8.0*. Dans les expériences du chapitre 1 concernant l'apprentissage discriminatif, trois groupes (Témoin, Non Apparié, et Apparié) ont été comparés. Les données comportementales du groupe Apparié ont été analysées à l'aide d'une ANOVA à une voie (facteur 'within' bloc à cinq niveaux). Les données anatomiques des trois groupes ont été comparées à l'aide d'une ANOVA à une voie (facteur 'between' groupe à trois niveaux). Les comparaisons *a posteriori* ont été effectuées, quand cela était approprié, à l'aide du test de Newman-Keuls.

Dans l'expérience de restitution d'une mémoire à long-terme, les données comportementales des groupes Apparié-Restitution et Apparié-Pas de restitution ont été analysées à l'aide d'une ANOVA à deux voies (facteur bloc à cinq niveaux, facteur groupe à deux niveaux et interaction bloc x groupe). Pour le pourcentage de réussite évalué lors de la restitution à long-terme, seuls deux groupes ont été comparés (groupe Apparié-Restitution,

groupe Non Apparié-Restitution), un *t*-test de Student a donc été réalisé. Les données anatomiques des quatre groupes ont été comparées à l'aide d'une ANOVA à une voie (facteur 'between' groupe à quatre niveaux). Les comparaisons *a posteriori* ont été effectuées, quand cela était approprié, à l'aide du test de Newman-Keuls.

Dans les expériences du chapitre 2, les données comportementales ont été analysées pour les trois groupes par un *t*-test de Student pour mesures appariées, comparant soit le temps d'exploration entre la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>nde</sup> exposition, soit les pourcentages d'exploration entre la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>nde</sup> exposition. Dans l'étude de la période critique de mémorisation, pour chaque temps inter-essai, un *t*-test de Student pour mesures appariées comparant le temps d'exploration entre la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>nde</sup> exposition a été réalisé ainsi qu'un *t*-test de Student comparant les pourcentages d'exploration lors de la 2<sup>nde</sup> exposition à la valeur 100%. Les données anatomiques des trois groupes ont été comparées à l'aide d'une ANOVA à une voie (facteur 'between' groupe à 3 niveaux).

---

## CHAPITRE 1

### RECRUTEMENT DES NEONEURONES BULBAIRES PAR UN APPRENTISSAGE OLFACTIF DISCRIMINATIF

---

#### ***I. INTRODUCTION***

Dans le cerveau adulte de rongeurs, environ 30 000 neurones sont générés tous les jours dans la région ZSV-BO. Cependant à peine la moitié de ces néoneurones va s'intégrer dans le réseau bulbaire. Les propriétés de renouvellement neuronal du bulbe olfactif associées aux caractéristiques uniques des néoneurones bulbaires ont rapidement soulevé la question du rôle que pouvaient jouer ces néoneurones dans la fonction olfactive. Comparativement aux recherches menées sur la neurogénèse adulte hippocampique, pour lesquelles les études fonctionnelles sont extrêmement nombreuses, relativement peu d'études ont abordé cette question au niveau bulbaire. Lorsque j'ai débuté ma thèse, l'existence d'une corrélation positive entre nombre de néoneurones bulbaires et performances olfactives avait été établie grâce à l'utilisation de divers paradigmes expérimentaux ayant pour conséquence de faire varier de façon indirecte le nombre de néoneurones (Rocheffort et al., 2002; Rocheffort and Lledo, 2005; Enwere et al., 2004; Gheusi et al., 2000). Cependant en raison de la nature corrélatrice de ces données l'implication des néoneurones dans les processus olfactifs, en particulier l'apprentissage olfactif, restait à démontrer. Faute de pouvoir bloquer de façon spécifique la création de nouveaux neurones afin de déterminer leur rôle dans les fonctions olfactives, nous avons choisi une stratégie d'anatomie fonctionnelle. Celle-ci permet de visualiser les néoneurones activés lors d'une tâche comportementale en analysant l'expression de gènes à expression précoce (immediate early gene, *ieg*), tels que *c-fos*, ou encore *zif268*. Cette stratégie a été utilisée avec succès dans le cadre des études sur le rôle fonctionnel des néoneurones hippocampiques et a permis de mettre en évidence un recrutement préférentiel des néoneurones matures lors de différentes tâches comportementales. Ainsi, il a été montré que l'exploration d'un nouvel environnement activait spécifiquement les neurones générés cinq mois avant l'exposition au test (Ramirez-Amaya et al., 2006). De plus, il a été mis en évidence que l'apprentissage spatial dans



le labyrinthe aquatique de Morris activait les néoneurones et que cette activation dépendait de l'âge des cellules néoformées lors de l'exposition au test comportemental (Kee et al., 2007). En effet, les néoneurones sont recrutés par l'apprentissage quand ils sont matures c'est-à-dire lorsqu'ils sont âgés d'au moins 5 à 6 semaines ; immatures, ils ne semblent pas participer à l'apprentissage.

Dans le cadre de la néoneurogenèse bulbaire, la première étude réalisée par Magavi et collaborateurs a montré en utilisant Fos : 1) une activation préférentielle des néoneurones âgés de 2-3 semaines par rapport aux néoneurones plus vieux et aux neurones préexistants en réponse à une stimulation olfactive et 2) une activation plus importante des néoneurones âgés de 7 semaines que des neurones préexistants lorsque l'animal est stimulé avec une odeur familière (Magavi et al., 2005). Ce dernier résultat suggérait donc que les néoneurones sont impliqués dans la reconnaissance d'odeurs et par conséquent qu'ils pourraient également jouer un rôle dans la discrimination des odeurs et leur mémorisation.

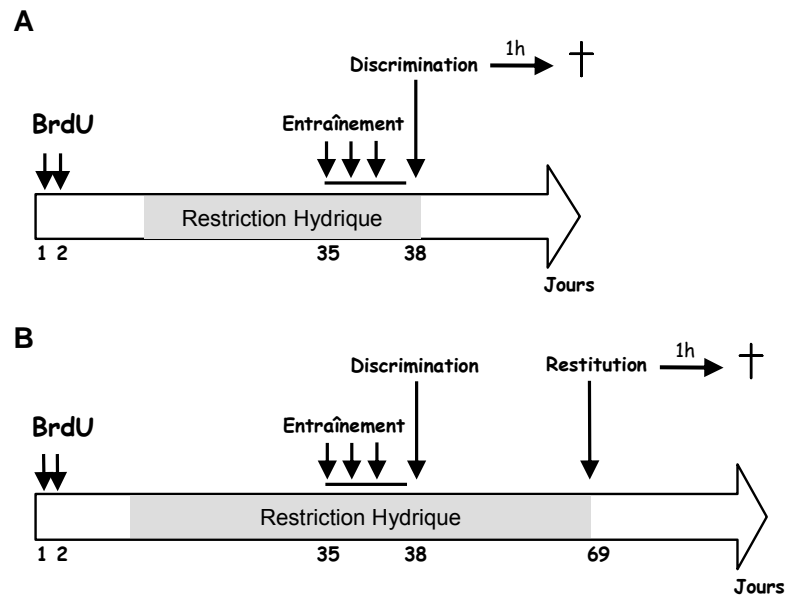
Au vue de ces données, nous avons cherché à déterminer si les néoneurones bulbaires matures (5 semaines) de la couche granulaire (GCL) étaient préférentiellement recrutés durant un apprentissage olfactif discriminatif et/ou durant la restitution de l'information apprise. Pour cela, des souris ont été exposées à une tâche de discrimination olfactive ou à un test de restitution de mémoire à long-terme. Afin d'évaluer le recrutement des néoneurones bulbaires lors de ces différentes tâches, l'expression du gène précoce *cfos* (protéine Fos) dans les néoneurones bulbaires a été étudiée.

## **II. DEROULEMENT DES EXPERIENCES**

### **A. Recrutement des néoneurones bulbaires lors d'un apprentissage de discrimination olfactive**

Cinq semaines avant le début de l'apprentissage de discrimination olfactive, les souris ont été injectées à la BrdU (2 x 50mg/kg), et 12 jours avant l'apprentissage elles ont été soumises à une restriction hydrique. L'apprentissage olfactif a duré quatre jours (du jour 35 au jour 38). Lors des trois premiers jours, tous les animaux ont appris à associer l'odeur S<sup>+</sup> (Isoamylacétate) à la récompense hydrique, et le 4<sup>ème</sup> jour (jour 38) l'odeur S<sup>-</sup> (Eucalyptus) a été introduite. Les animaux doivent alors discriminer les deux odeurs afin d'obtenir leur récompense. A la fin du

test, les animaux ont été replacés dans leur cage, ramenés à l'animalerie, et sacrifiés une heure plus tard (Figure 1A). Trois groupes d'animaux ont été constitués : le *groupe Apparié* pour lequel l'odeur  $S^+$  est toujours renforcée et l'odeur  $S^-$  ne l'est jamais, le *groupe Non Apparié* pour lequel les odeurs  $S^+$  et  $S^-$  sont renforcées de façon aléatoire et enfin le *groupe Témoin* qui n'a subi aucune stimulation odorante mais qui a été soumis à la restriction hydrique comme les autres groupes.



**Figure 1 : Représentation schématique des expériences.** (A) Déroulement de l'expérience d'apprentissage olfactif. (B) Déroulement de l'expérience de restitution d'une information olfactive.

## B. Recrutement des néoneurones bulbaires durant la restitution d'une information olfactive

A l'issue de l'apprentissage olfactif, les animaux ont été maintenus en restriction hydrique durant un mois et leur mémoire a alors été testée dans l'olfactomètre (Figure 1B). A la fin du test, les animaux ont été replacés dans leur cage et ramenés à l'animalerie ; une heure plus tard ils ont été sacrifiés. Quatre groupes d'animaux ont été constitués : 1) Le *groupe Apparié-Restitution*, constitué d'animaux ayant acquis l'apprentissage olfactif et restituant l'information olfactive un mois plus tard : 2) Le *groupe Apparié-Pas de Restitution* constitué d'animaux ayant acquis l'apprentissage discriminatif mais n'étant pas soumis au test de rétention. Ce groupe nous

a permis de contrôler l'effet de la réexposition au test ; 3) Le *groupe Non Apparié-Restitution* constitué d'animaux n'ayant pas acquis l'apprentissage discriminatif mais réexposés au test un mois plus tard. Ce groupe nous a permis de contrôler l'effet de la stimulation olfactive ; 4) Le *groupe Témoin* qui n'a subi aucune stimulation odorante mais a été soumis à la restriction hydrique comme les autres groupes.

### **III. RESULTATS**

#### **A. L'apprentissage discriminatif recrute préférentiellement les néoneurones bulbaires âgés de cinq semaines**

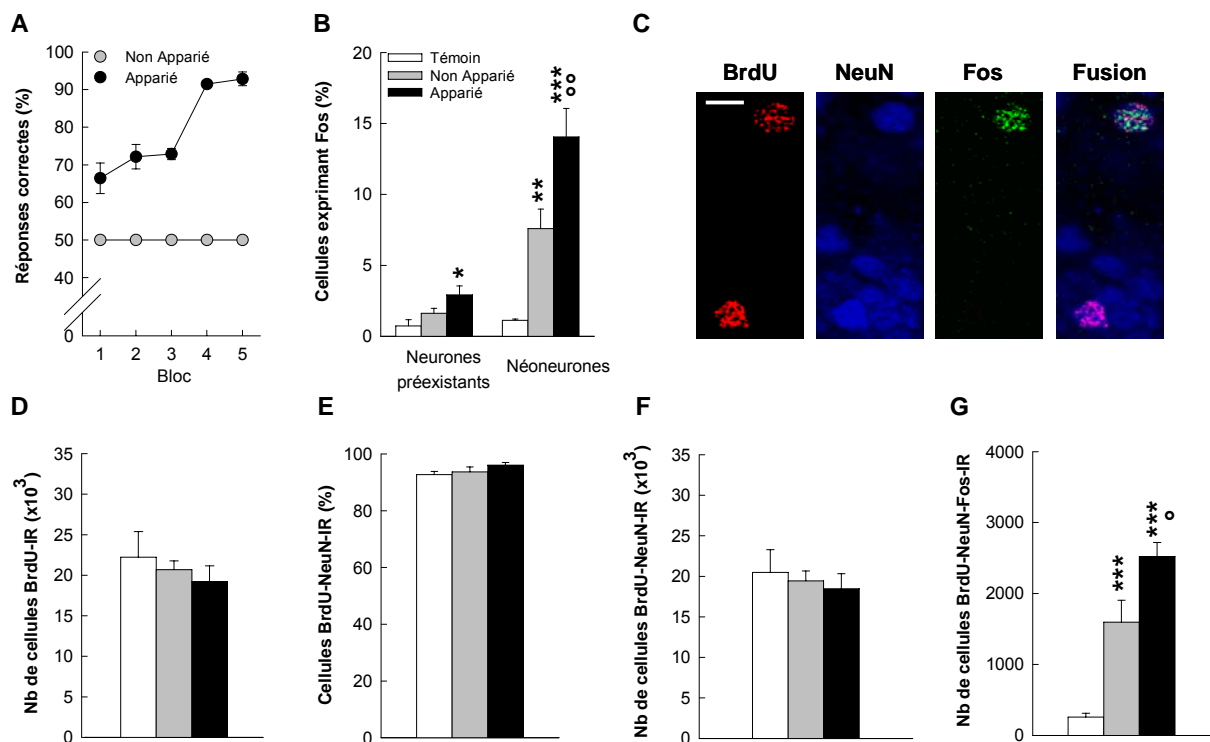
##### **1. Performances comportementales**

Les résultats de l'apprentissage discriminatif montrent que les animaux du groupe Apparié, pour lesquels l'odeur  $S^+$  est toujours renforcée alors que  $S^-$  ne l'est jamais, améliorent leurs performances au fil des blocs pour atteindre aux 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> blocs un pourcentage de réussite stable d'environ 90% ( $F_{1,6}=24.13$ ,  $p<0.0001$ ). En revanche, le pourcentage de réussite des animaux du groupe Non Apparié reste au niveau du hasard (50%), ce qui s'explique par le fait que pour ces animaux le renforcement hydrique est distribué de façon aléatoire entre les odeurs  $S^+$  et  $S^-$  (Figure 2A).

##### **2. Activation des néoneurones**

Nous nous sommes intéressés à l'effet de l'apprentissage olfactif sur l'activation des néoneurones granulaires bulbaires en analysant le pourcentage de néoneurones (cellules exprimant les marqueurs BrdU et NeuN) qui expriment Fos (Figures 2B et 2C). Nous avons trouvé que le pourcentage de néoneurones activés est élevé dans les deux groupes exposés au test (Non Apparié et Apparié) comparés au groupe Témoin ( $F_{2,18}=17.68$ ,  $p<0.0001$ , Témoin vs Non Apparié  $p<0.001$ , Témoin vs Apparié  $p<0.0001$ ). De plus l'apprentissage discriminatif augmente de façon importante le pourcentage de néoneurones activés qui est doublé dans le groupe Apparié, atteignant 14% (Figure 2B ; Non Apparié vs Apparié,  $p<0.001$ ). Afin de calculer le nombre de néoneurones activés (en multipliant le pourcentage de cellules BrdU-NeuN-Fos-IR par le nombre de cellules BrdU-IR), nous avons évalué le nombre de cellules BrdU-IR (Figure 2D), ainsi que le pourcentage de cellules BrdU-IR co-exprimant le marqueur de neurones matures NeuN (cellules BrdU-NeuN-IR, Figure 2E). Ces deux paramètres ne diffèrent pas entre

les trois groupes ( $F_{2,18}=0.50$ ,  $p=0.62$  et  $F_{2,18}=1.46$ ,  $p=0.26$ , respectivement). Par conséquent, le nombre de néoneurones granulaires est identique entre les trois groupes (Figure 2F ;  $F_{2,18}=0.26$ ,  $p=0.78$ ). Nous avons alors calculé le nombre de néoneurones activés et avons trouvé que sur un total de  $\sim 19\,000$  néoneurones,  $\sim 260$  sont activés dans les conditions de base (Témoin),  $\sim 1\,500$  par une exposition aux odeurs (Non Apparié) et enfin  $\sim 2\,600$  par l'apprentissage discriminatif (Figure 2G ;  $F_{2,18}=21.4$ ,  $p<0.0001$  ; Non Apparié vs Apparié  $p<0.05$ ).



**Figure 2 : L'apprentissage de discrimination olfactive recrute préférentiellement les néoneurones.** (A) Courbes d'apprentissage dans le test de discrimination olfactive. (B) Pourcentage de neurones préexistants et de néoneurones exprimant Fos dans la CCG du BO. (C) Images confocales montrant une cellule BrdU (rouge) co-exprimant le marqueur neuronal NeuN (bleu) et le facteur d'activation cellulaire Fos (vert) dans la CCG du BO. (D) Nombre de cellules BrdU-IR. (E) Pourcentage de cellules BrdU-IR exprimant le marqueur neuronal NeuN. (F) Nombre de néoneurones. (G) Nombre de néoneurones activés. \*\* $p<0.01$  et \*\*\* $p<0.001$  vs Témoin ( $n=6$ ), ° $p<0.05$  et °° $p<0.01$  Non Apparié ( $n=8$ ) vs Apparié ( $n=7$ ). Barre d'échelle :  $8\mu\text{m}$ .

### 3. Activation des neurones pré-existants

Afin de déterminer si l'augmentation d'activation observée suite à l'apprentissage discriminatif est spécifique des néoneurones ou si elle concerne toute la population des cellules

granulaires, nous avons étudié l'activation des neurones pré-existants en analysant les cellules BrdU négatives et NeuN-positives exprimant également Fos (Figure 2B). Bien que le pourcentage de neurones pré-existants exprimant Fos soit faible (<5%), nous avons trouvé des variations entre les trois groupes, indiquant un effet de l'exposition aux odeurs ( $F_{2,18}=4.89$ ,  $p<0.05$ ). En particulier, le pourcentage d'activation des neurones pré-existants dans le groupe Apparié diffère de celui du groupe Témoin ( $p<0.05$ ) mais est identique à celui du groupe Non-Apparié ( $p=0.07$ ), indiquant que l'apprentissage de discrimination olfactive *per se* n'active pas spécifiquement les neurones pré-existants.

#### 4. Spécificité régionale

Enfin, nous avons voulu déterminer si les effets décrits précédemment étaient spécifiques du BO. Pour cela, nous avons analysé l'impact de l'apprentissage olfactif sur l'activation des néoneurones du gyrus dentelé. Quel que soit le groupe expérimental, aucun néoneurone (cellule BrdU-NeuN-IR) exprimant Fos n'a pu être mis en évidence dans l'hippocampe. De plus le nombre de cellules BrdU-IR (Table 1,  $F_{2,18}=1.13$ ,  $p=0.34$ ), le pourcentage de différenciation neuronale (Table 1,  $F_{2,18}=0.43$ ,  $p=0.66$ ), et donc le nombre de néoneurones (Table 1,  $F_{2,18}=1.39$ ,  $p=0.27$ ) ne diffèrent pas entre les groupes.

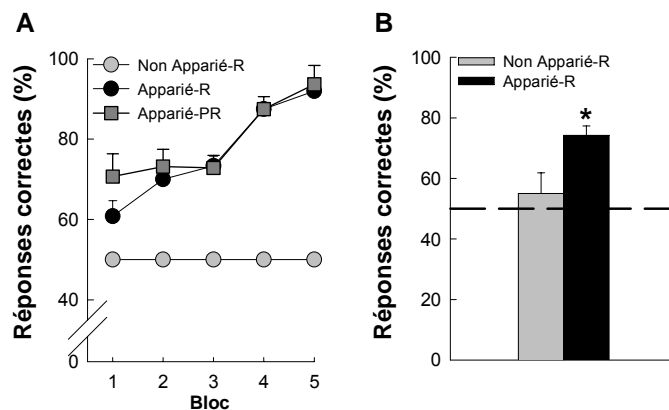
Apprentissage de discrimination olfactive			
	<u>Témoin</u>	<u>Non Apparié</u>	<u>Apparié</u>
Nb de cellules BrdU-IR	338 ± 24	369 ± 46	280 ± 49
% de cellules BrdU-NeuN-IR	90.3 ± 2.7	88.2 ± 1.9	86.7 ± 3.2
Nb de cellules BrdU-NeuN-IR	305 ± 22	324 ± 39	241 ± 43

**Table 1 : L'apprentissage de discrimination olfactive ne modifie pas le nombre de néoneurones dans le gyrus dentelé de la formation hippocampique.** Témoin, n=6 ; Non Apparié, n=8 ; Apparié, n=7.

Pris dans leur ensemble, ces résultats suggèrent donc que les néoneurones bulbaires sont préférentiellement recrutés durant un apprentissage de discrimination olfactive.

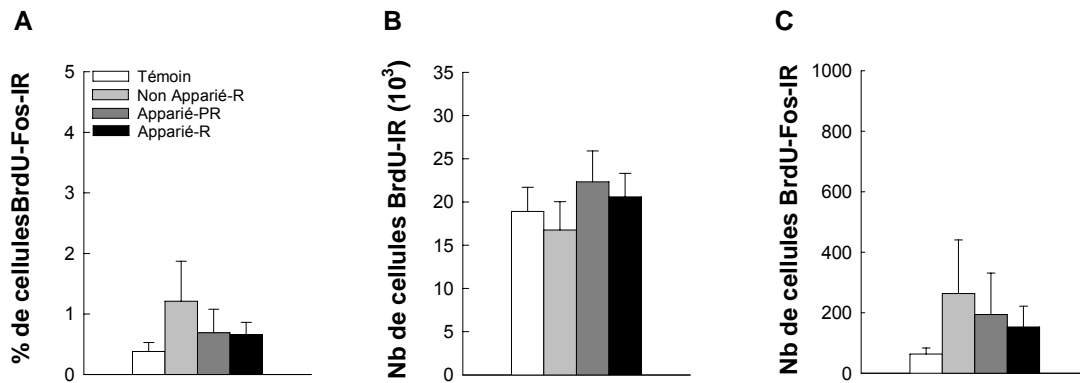
## B. La restitution à long-terme d'une information ne recrute pas les néoneurones âgés de 9 semaines

Comme dans l'expérience précédente, lors de l'apprentissage discriminatif, les souris des deux groupes Apparié améliorent rapidement leurs performances comportementales et présentent des courbes d'apprentissage similaires (Figure 3A, effet bloc  $F_{4,40}=44.084$ ,  $p<0.0001$ ); interaction groupe x bloc  $F_{4,40}=1.46$ ,  $p=0.23$ ). Un mois après, les souris du groupe Apparié-Restitution se souviennent de l'épreuve et des odeurs comme l'indique le pourcentage de réussite élevé (74%). Les souris du groupe Non Apparié n'ont pas appris la tâche, leurs performances se situant au niveau du hasard (Figure 3B,  $t_9=2.40$ ,  $p<0.05$ ).



**Figure 3 : Les souris se souviennent des deux odeurs apprises un mois auparavant.** (A) Courbes d'apprentissage dans le test de discrimination olfactive (B) Pourcentage de bonnes réponses lors du test de rétention.\* $p<0.05$ . Non Apparié-R,  $n=5$  ; Apparié-R,  $n=6$  ; Apparié-PR,  $n=6$ .

Afin d'étudier l'activation des néoneurones dans cette expérience, seul un double marquage BrdU-Fos a été réalisé. En effet, les observations de l'expérience précédente indiquent que dès l'âge de 5 semaines, la très grande majorité des cellules nouvellement formées est différenciée en neurones et que cette différenciation est identique entre les groupes apprentissage et non apprentissage. Les analyses indiquent que quelle que soit la condition expérimentale, c'est-à-dire que les animaux aient subi ou non un apprentissage olfactif, et qu'ils aient ou non été exposés à des odeurs durant le test de rétention, le pourcentage de néoneurones activés est très faible (<2%) et ne diffère pas entre les groupes (Figure 4A,  $F_{3,18}=0.74$ ,  $p=0.54$ ). Le nombre de cellules BrdU-IR étant lui aussi similaire entre les groupes (Figure 4B,  $F_{3,18}=0.57$ ,  $p=0.64$ ), le nombre de cellules BrdU-Fos-IR ne diffère pas entre les quatre groupes (Figure 4C,  $F_{3,18}=0.47$ ,  $p=0.71$ ).



**Figure 4 : Les néoneurones bulbaires ne sont pas activés lors de la restitution à long-terme d'une information.**  
 (A) Pourcentage de cellules BrdU-Fos-IR dans la CCG du BO. (B) Nombre de cellules BrdU-IR. (C) Nombre de cellules BrdU-Fos-IR. Témoin, n=5, Non Apparié-R, n=5 ; Apparié-R, n=6 ; Apparié-PR, n=6.

Comme précédemment nous avons vérifié la spécificité régionale de ces effets et observé que dans le gyrus dentelé, aucun néoneurone n'exprime Fos ; là encore, le nombre de cellules BrdU-IR était équivalent entre les groupes (Table 2 ;  $F_{3,18}=1.11$ ,  $p=0.37$ ).

Test de mémoire à long-terme				
	Témoin	Non Apparié-R	Apparié PR	Apparié R
Nb de cellules BrdU-IR	430 ± 99	280 ± 38	457 ± 104	330 ± 43

**Table 2 : La restitution d'une mémoire à long-terme ne modifie pas le nombre de néoneurones dans le gyrus dentelé.**

#### IV. DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons appréhendé le rôle fonctionnel des néoneurones bulbaires en analysant leur activation en réponse à un apprentissage discriminatif ou lors de la restitution d'une mémoire à long-terme. Nous avons montré que les néoneurones âgés de cinq semaines répondent à l'apprentissage de discrimination olfactive en exprimant le produit de l'IEG *cfos* et ceci de façon beaucoup plus importante que les neurones pré-existants. Par contre, ces néoneurones ne sont pas activés lors de la restitution d'une mémoire à long-terme. L'ensemble de ces résultats indique un recrutement préférentiel des néoneurones durant un apprentissage de discrimination olfactive.

## A. Impact de l'apprentissage sur la survie des néoneurones

Afin de mettre en évidence l'implication des néoneurones granulaires dans l'apprentissage discriminatif, nous avons choisi d'étudier l'activation de neurones âgés de 5 semaines au moins au moment des tâches comportementales, c'est à dire des neurones matures et aux propriétés électrophysiologiques indissociables de celles de neurones créés durant le développement (Carleton et al., 2002;Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002). Deux raisons ont motivé ce choix :

1) Dans le cadre des études réalisées sur l'hippocampe il a été montré que les néoneurones immatures, bien qu'ils soient préférentiellement activés en réponse à des stimulations environnementales (Tashiro et al., 2007) ne participent pas à l'apprentissage, mais que seuls ceux âgés d'au moins 5-6 semaines sont recrutés par un apprentissage spatial hippocampo-dépendant (Kee et al., 2007). De plus, l'étude princeps de Magavi et collaborateurs dans le bulbe olfactif indique que si les néoneurones âgés de 2-3 semaines sont préférentiellement activés en réponse à une stimulation olfactive, des neurones plus matures, âgés de 7 semaines, sont spécifiquement activés, comparativement aux neurones pré-existants, par la reconnaissance d'une odeur familière (Magavi et al., 2005). L'ensemble de ces données nous a amené à envisager que les néoneurones bulbaires matures pouvaient être spécifiquement recrutés lors de tâches olfactives mettant en jeu un apprentissage.

2) Afin de s'affranchir d'un effet de nos manipulations sur le nombre de neurones, nous avons choisi d'effectuer nos expériences dans une période durant laquelle la survie des néoneurones n'est plus influencée par l'expérience sensitive. Lors de la mise en place de ce projet, deux études s'étaient intéressées à l'impact de l'expérience sensorielle sur la survie des néoneurones granulaires. L'une d'elle, réalisée sur des souris de la souche C57BL/6J, montrait qu'au-delà de 30 jours, la survie des néoneurones n'était plus influencée par les expériences sensorielles (Yamaguchi and Mori, 2005). L'autre, réalisée sur des souris CD1 et en utilisant la thymidine tritiée comme marqueur de néoneurones, repoussait cette période de sensibilité à 45 jours de vie (Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002). Ayant choisi de travailler sur des souris C57BL/6J pour leur bonnes performances mnésiques, nous avons pris en considération l'étude de Yamaguchi et collaborateurs et réalisé nos expériences lorsque les cellules nouvellement formées avaient atteint l'âge de 5 semaines.

Comme attendu sur la base de ces données, quelle que soit l'expérience réalisée, nos différentes procédures comportementales n'ont affecté ni la survie, ni la différenciation neuronale



des cellules nouvellement formées, et ce dans le BO comme dans le GD. Cependant, nos résultats sont en désaccord avec deux études récentes ayant mis en évidence qu'un apprentissage discriminatif diminue la survie des néoneurones bulbaires âgés de 30 à 45 jours (Mandairon et al., 2006a; Mouret et al., 2008). Il est fort probable que cette divergence soit liée à la procédure utilisée pour réaliser l'apprentissage discriminatif. En effet, dans notre étude, l'apprentissage qui dure 4 jours est divisé en 2 étapes. Durant 3 jours, l'animal apprend uniquement à associer l'odeur S<sup>+</sup> à la récompense, et l'apprentissage discriminatif *per se* se déroule le 4<sup>ème</sup> jour sur une période d'environ 1h à l'issue de laquelle les souris sont sacrifiées après un délai d'1 heure. Dans les études citées précédemment, l'apprentissage discriminatif lui-même dure 6-7 jours, et les animaux sont sacrifiés un jour (Mouret et al., 2008) ou 5 jours (Mandairon et al., 2006a) après la fin de l'apprentissage. En conclusion, l'apprentissage discriminatif peut influencer la survie des néoneurones âgés de 5 semaines, sous réserve que la procédure s'étende sur une période de temps supérieure à celle que nous avons employée. Pour ce qui est de l'hippocampe, l'absence d'effet pro-survie de l'apprentissage est en adéquation avec les données de la littérature (Dupret et al., 2007; Gould et al., 1999a; Kempermann et al., 2004).

## **B. Impact de l'apprentissage sur le recrutement des néoneurones**

Afin de déterminer si l'apprentissage et la restitution d'une mémoire olfactive recrutent les néoneurones, nous avons étudié leur activation en analysant l'expression du gène précoce *cfos* dans les néoneurones et les neurones préexistants. Cette approche de neuroanatomie fonctionnelle a précédemment permis de montrer le recrutement préférentiel des neurones bulbaires immatures (2-3 semaines) comparés aux neurones préexistants lors d'une stimulation odorante (Magavi et al., 2005), mais aussi le recrutement préférentiel des néoneurones hippocampiques comparé à celui des neurones préexistants lors de l'exploration d'un environnement nouveau (Ramirez-Amaya et al., 2006) et lors d'un apprentissage spatial dans le labyrinthe aquatique de Morris (Kee et al., 2007). Dans notre étude, nous avons observé que le recrutement des néoneurones était augmenté par l'exposition aux odeurs, un résultat en accord avec une étude précédente montrant que la stimulation olfactive active les néoneurones (Magavi et al., 2005). Mais de façon plus intéressante, nous avons montré que le niveau de recrutement des néoneurones est plus important chez les souris qui ont appris à discriminer deux odeurs (groupe Apparié, 2 600 néoneurones activés) comparées aux souris qui n'ont pas appris à les discriminer mais ont simplement été exposées à ces odeurs (Non Apparié 1 500 néoneurones activés). Ces données indiquent donc un recrutement des néoneurones spécifique de

l'apprentissage discriminatif. Ainsi cette différence dans le nombre de néoneurones activés entre les deux groupes reflète l'implication des néoneurones granulaires dans l'apprentissage discriminatif. Le nombre de néoneurones spécifiquement activés par l'apprentissage peut paraître dérisoire à l'échelle du nombre total de néoneurones créés par jour. Cependant à l'échelle du réseau, le message d'une cellule granulaire est fortement amplifié. En effet, une cellule granulaire contacte plusieurs centaines de cellules de projection, qui à leur tour vont contacter un grand nombre de cellules pyramidales du cortex piriforme.

Bien que l'activation des neurones pré-existants par l'apprentissage ne soit pas statistiquement significative, nos données suggèrent qu'ils sont également recrutés par l'apprentissage, mais néanmoins dans une moindre proportion que les néoneurones. Il en découle que l'activation des néoneurones en réponse à l'apprentissage pourrait résulter de deux composantes : d'une part une activation générale qui se situerait en amont des neurones granulaires et activerait de façon identique néoneurones et neurones pré-existants, et d'autre part une activation spécifique des néoneurones qui pourrait être liée à leurs propriétés intrinsèques et/ou à leur patron de connexions.

En revanche, nous n'avons pas pu mettre en évidence une activation des néoneurones chez les animaux soumis au test de rétention mnésique. Deux hypothèses peuvent expliquer ces résultats. Premièrement, les néoneurones bulbaires pourraient être impliqués lors de l'apprentissage mais pas lors de la restitution. En accord avec cette hypothèse, il a été proposé que le BO pourrait jouer seulement un rôle transitoire dans le stockage de la mémoire olfactive, et que celle-ci serait par la suite transférée à d'autres structures (Granger and Lynch, 1991). La seconde hypothèse est que la population des néoneurones analysée serait trop âgée pour participer à la restitution de l'information. Une étude récente de Lazarini et collaborateurs corrobore en partie cette hypothèse puisqu'elle suggère que la restitution mnésique repose sur des neurones plus jeunes que ceux que nous avons analysés. En effet, dans cette étude les auteurs montrent qu'une déplétion de neurogénèse par irradiation altère la capacité à restituer un apprentissage de type go/nogo acquis un mois auparavant. (Lazarini et al., 2009). Or cette perturbation comportementale est associée à une diminution de prolifération cellulaire, une augmentation de la survie de cellules néoformées et surtout une diminution drastique de la population de neurones immatures, DCX-IR. Il est donc possible que ce soient les néoneurones immatures qui sous-tendent les performances comportementales dans cette tâche de mémoire à long-terme. Des expériences futures sont nécessaires afin d'explorer cette possibilité en ciblant des populations neuronales d'âges différents.

Finalement, nous avons montré que les néoneurones de l'hippocampe ne sont recrutés ni lors de l'apprentissage ni lors de la restitution de la mémoire à long-terme. Ce résultat est en accord avec les données de la littérature montrant que l'hippocampe n'est pas impliqué dans les apprentissages procéduraux de type go/no go tels que celui que nous avons employé et n'est pas non plus recruté lors de la restitution mnésique (Martin et al., 2007; Otto et al., 1991; Otto et al., 1991; Eichenbaum et al., 1988). Ce résultat confère donc aux données que nous avons obtenues concernant le recrutement des néoneurones bulbaires une spécificité régionale qui renforce l'hypothèse de leur implication dans la fonction olfactive.

En résumé, notre étude montre que les néoneurones bulbaires participent à la discrimination olfactive, et suggèrent donc que ces nouvelles cellules pourraient jouer un rôle particulier dans la stabilisation des modifications requises pour une discrimination olfactive efficace.

---

## CHAPITRE 2

### IMPACT DE LA MATERNITE SUR LA MEMOIRE OLFACTIVE : IMPLICATION DE LA NEUROGENESE BULBAIRE

---

#### ***I. INTRODUCTION***

La maternité est un événement de vie associé à de nombreux bouleversements hormonaux qui induisent des changements métaboliques, physiologiques et cérébraux. Par exemple, le système ocytocinergique, qui joue un rôle majeur dans le contrôle de différents aspects de la maternité, subit durant la parturition et la lactation des modifications physiologiques impliquant des remaniements structuraux (Theodosis and Poulain, 2001). Une autre forme de plasticité liée à la maternité a été mise en évidence dans le système ZSV-BO. Plus précisément, il a été montré que la prolifération cellulaire dans la ZSV augmente significativement le 7<sup>ème</sup> jour de gestation, ce qui se traduit quatre semaines plus tard, c'est-à-dire durant la période de lactation, par une augmentation de neurogénèse dans le BO (Shingo et al., 2003). Par ailleurs, de nombreuses études corrélatives ont mis en évidence qu'une augmentation du nombre de néoneurones bulbaires était associée à une amélioration de la mémoire olfactive (Rocheffort et al., 2002; Rocheffort and Lledo, 2005; Romero-Grimaldi et al., 2006). Au vue de ces résultats, nous nous sommes logiquement interrogés sur l'impact de l'apport en néoneurones lié à la maternité sur les performances olfactives des mères et avons émis l'hypothèse que l'augmentation de neurogénèse observée durant la lactation avait pour conséquence une amélioration de la mémoire olfactive.

Durant la période post-partum, l'olfaction joue un rôle primordial dans l'établissement des relations mère-petits. En effet, différentes études ont montré que des souris qui ont subi une bulbectomie ou une section des afférences noradrénergiques du BO présentent un comportement maternel altéré pouvant se traduire, entre autre, par du cannibalisme (Dickinson and Keverne, 1988; Seegal and Denenberg, 1974; Vandenbergh, 1973). D'autre part, le comportement maternel, dont la qualité conditionne le devenir de la descendance (Meaney, 2001), peut être altéré si la gestation est perturbée par un stress. Par exemple, il a été montré que des mères ayant subi un

stress de contention durant leur dernière semaine de gestation présentaient une altération du comportement de toilettage des petits (Champagne and Meaney, 2006; Baker et al., 2008; Smith et al., 2004). Sur la base de ces observations, nous avons donc émis l'hypothèse selon laquelle le stress gestationnel pouvait avoir un effet délétère sur les performances olfactives et la neurogénèse bulbaire.

## II. DEROULEMENT DES EXPERIENCES

Une semaine avant la mise en reproduction (jours de gestation -7 et -6: GD<sub>-7-6</sub>), des souris femelles C57Bl/6J ont été injectées à l'IdU (2 x 100mg/kg). Au 7<sup>ème</sup> jour de gestation (GD<sub>7</sub>) elles ont reçu 2 injections de CldU (2 x 100mg/kg) espacées de 12h. Trois groupes de femelles ont été constitués : Vierge (V), Mère (M), Mère Stressée (MS), le stress se déroulant du 12<sup>ème</sup> jour de gestation jusqu'à la parturition qui a lieu à GD<sub>19</sub>-GD<sub>20</sub>. Le 14<sup>ème</sup> jour post-partum, les animaux ont subi un test de mémoire olfactive. A la fin du test, les souris ont été replacées dans leur cage, ramenées à l'animalerie, et une heure plus tard elles ont été sacrifiées (Figure1).

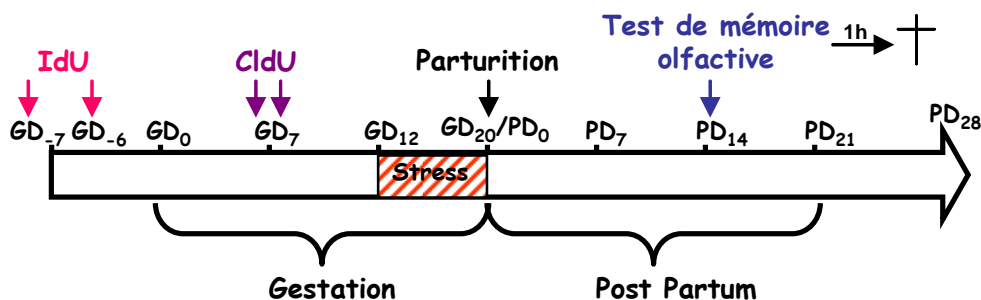


Figure 1 : Déroulement des expériences

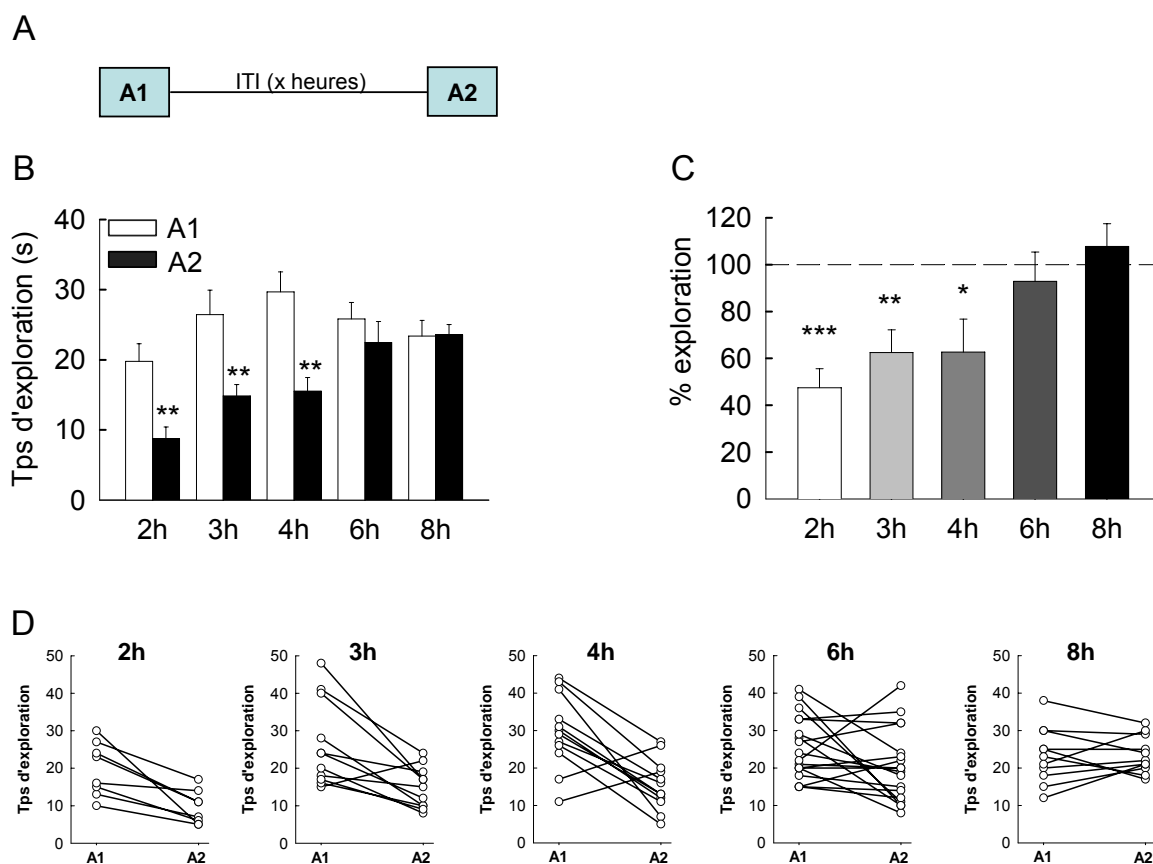
En vue de tester la mémoire olfactive des mères qui étaient allaitantes au moment du test comportemental, nous n'avons pas pu utiliser un paradigme nécessitant une restriction hydrique ou alimentaire. Nous avons donc choisi un test de mémoire olfactive non associatif basé sur l'attrance innée de l'animal pour la nouveauté (Gheusi et al., 2000; Rochefort et al., 2002; Romero-Grimaldi et al., 2006). Brièvement, ce test se déroule en deux étapes, une **étape d'acquisition** durant laquelle on présente pour la première fois une odeur à l'animal et une **étape de restitution** où on présente une 2<sup>nde</sup> fois la même odeur à l'animal. Le temps entre l'étape d'acquisition et de rétention est variable, il s'agit du temps inter-essai (TIE). Le temps d'exploration des odeurs durant les deux expositions est mesuré : s'il est similaire, l'animal ne se souvient pas de l'odeur présentée préalablement ; s'il est inférieur lors de la 2<sup>nde</sup> exposition,

l'animal a mémorisé l'odeur. Les deux odeurs utilisées lors de ce test de mémoire non associatif sont le decanal caprinaldehyde (odeur A) et la cardamome (odeur B). Les femelles ont été sacrifiées une heure après la fin du test.

### III. RESULTATS

#### A. Mise au point du test de reconnaissance chez des souris vierges

Avant d'évaluer l'impact de la maternité sur la mémoire olfactive, nous avons dans un premier temps déterminé le temps inter-essai à partir duquel des souris femelles vierges ne sont plus capables de reconnaître une odeur présentée préalablement (Figure 2A).



**Figure 2 : Evaluation de la mémoire olfactive chez des souris C57Bl/6J vierges.** (A) Déroulement du test de mémoire, l'odeur A est du decanal caprinaldehyde, les temps inter-essai testés sont 2, 3, 4, 6 et 8 heures. (B) Temps d'exploration de l'odeur lors des 2 présentations pour les différents temps inter-essai. Le pourcentage d'exploration de la 1ère exposition est de 100%. (C) Pourcentages d'exploration de l'odeur lors de la 2<sup>nd</sup>e exposition pour les différents temps inter-essai. (D) Valeurs individuelles des temps d'exploration lors des 2 expositions pour chaque intervalle de temps. \*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ . Groupe 2h,  $n=8$  ; groupe 3h,  $n=11$  ; groupe 4h,  $n=12$  ; groupe 6h,  $n=12$  ; groupe 8h,  $n=11$ .

Nous avons testé cinq intervalles de temps: 2, 3, 4, 6, et 8 heures. Chaque femelle n'a été testée qu'à un seul de ces intervalles. Les résultats exprimés en temps d'exploration (Figure 2B)

indiquent que pour les intervalles 2h, 3h et 4h, les animaux passent moins de temps à sentir l'odeur lors de la 2<sup>nde</sup> exposition que lors de la 1<sup>ère</sup> exposition (2h :  $t_8=4.07$ ,  $p<0.01$  ; 3h :  $t_{11}=3.70$ ,  $p<0.01$  ; 4h :  $t_{12}=4.1$ ,  $p<0.01$ ). En revanche, pour les intervalles 6 h et 8 h, les temps d'exploration lors de la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>nde</sup> exposition sont similaires (6h :  $t_{12}=0.90$ ,  $p=0.39$  ; 8h :  $t_{11}=-0.10$ ,  $p=0.92$ ). Ces résultats indiquent donc que les animaux sont capables de reconnaître une odeur pendant quatre heures, et qu'à partir de 6h de délai, ils en sont incapables.

L'expression des résultats en pourcentage d'exploration (Figure 2C), où le temps passé à sentir l'odeur lors de la 1<sup>ère</sup> exposition est utilisé comme référence (100% d'exploration), confirme qu'au-delà d'un TIE de quatre heures les femelles vierges sont incapables de se souvenir d'une odeur à laquelle elles ont été préalablement exposées (comparaison par rapport à 100%, 2h :  $t_8=-6.50$ ,  $p<0.001$  ; 3h :  $t_{11}=-3.86$ ,  $p<0.001$  ; 4h :  $t_{12}=-2.65$ ,  $p<0.05$  ; 6h :  $t_{12}=-0.57$ ,  $p=0.58$  ; 8h :  $t_{11}=-0.79$ ,  $p=0.45$ ). Enfin, l'analyse des résultats individuels pour chaque intervalle de temps (Figure 2D) met en évidence que pour les temps 2h, 3h et 4h, hormis quelques animaux qui explorent l'odeur de façon similaire lors des deux expositions, la majorité des souris se souvient de l'odeur. Inversement, pour le temps 6h, hormis 3 animaux, la majorité des souris passe le même temps à échantillonner l'odeur lors des 2 expositions. Enfin, à 8h, aucune des souris ne se souvient de l'odeur précédemment présentée.

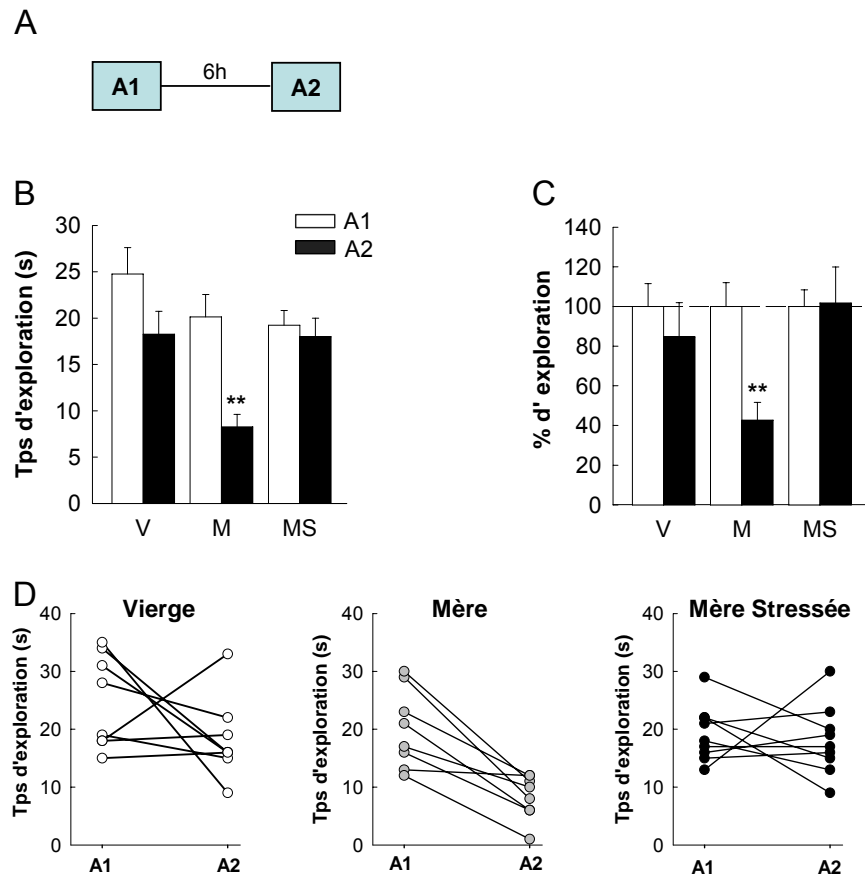
Afin de tester la mémoire olfactive des mères, et compte tenu de notre hypothèse selon laquelle la maternité améliore les performances olfactives, nous avons choisi un intervalle inter-essai de 6h. En effet, à cet intervalle, la majorité des femelles vierges ne se souvient pas de l'odeur, aussi une amélioration des performances, si elle existe, devrait-elle être observable.

## **B. Impact de la maternité sur la mémoire olfactive**

### **1. Test de la mémoire olfactive des mères**

La mémoire olfactive des mères a été testée selon le même protocole que celui décrit précédemment où une même odeur est présentée à deux reprises à l'animal avec un TIE de 6h (Figure 3A). Comme attendu, les femelles Vierges ne se souviennent pas d'une odeur échantillonnée 6h plus tôt (Figures 3B, 3C ; temps d'exploration  $t_8=1.42$ ,  $p=0.19$  ; pourcentage d'exploration  $t_8=0.56$ ,  $p=0.59$ ). En revanche dans les mêmes conditions expérimentales, les animaux du groupe Mère explorent moins l'odeur lors de la 2<sup>nde</sup> exposition (Figure 3B ;  $t_8=5.21$ ,

$p < 0.01$ ), présentant une réduction de près de 60% du temps d'investigation (Figure 3C ;  $t_8 = 3.45$ ,  $p < 0.01$ ). Enfin l'analyse des résultats concernant les Mères Stressées indique des performances similaires à celles des Vierges, c'est-à-dire qu'elles explorent l'odeur de façon identique lors des deux expositions (Figure 3B et 3C ; temps d'exploration  $t_9 = 0.41$ ,  $p = 0.68$ ; pourcentage d'exploration  $t_9 = -0.07$ ,  $p = 0.94$ ).



**Figure 3 : Impact d'une maternité normale ou pathologique sur la mémoire olfactive.** (A) Déroulement du test de mémoire. (B) Temps d'exploration de l'odeur lors des 2 présentations pour les 3 groupes. (C) Pourcentages d'exploration de l'odeur lors de la 2<sup>nd</sup>e exposition. Le pourcentage d'exploration de la 1<sup>re</sup> exposition est de 100%. (D) Valeurs individuelles des temps d'exploration lors des 2 présentations pour les 3 groupes expérimentaux. V : Vierge (n=8) ; M : Mère (n=8); MS : Mère Stressée (MS=9). \*\*  $p < 0,01$ .

Les données individuelles (Figure 3D) confirment les résultats précédents, et nous permettent de proposer que la maternité améliore la mémoire olfactive, et que cet effet bénéfique est aboli si la maternité est perturbée par un stress gestationnel.

Afin de s'assurer que la baisse du temps d'investigation de l'odeur observée chez les mères et l'absence de reconnaissance d'odeurs observée chez les mères stressées reflètent bien des modifications des performances mnésiques et non une satiété olfactive, un problème de

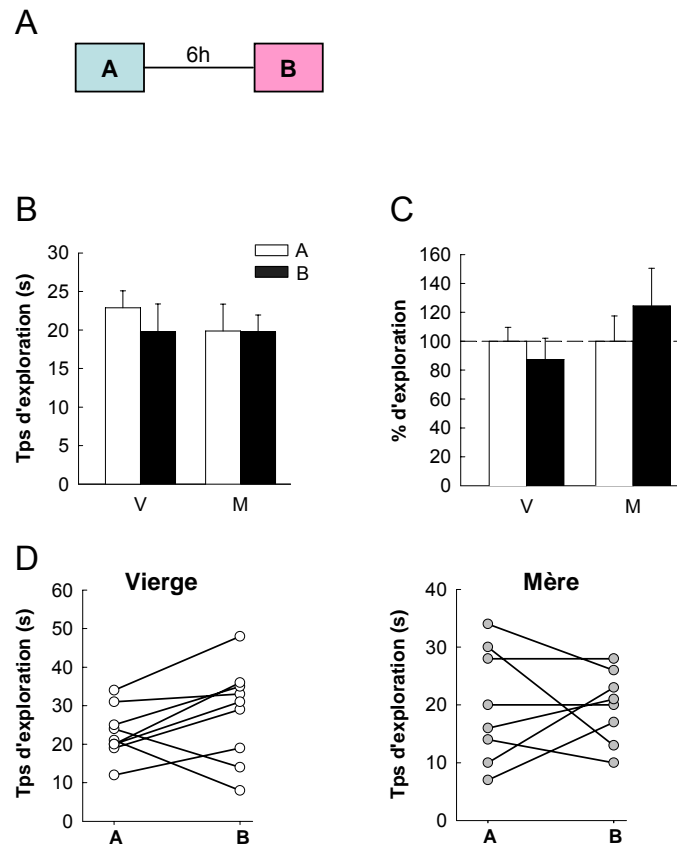


détection d'odeur ou d'exploration, nous avons mené un certain nombre de tests complémentaires.

## 2. Test de la spécificité olfactive des effets comportementaux

### a. Activité exploratoire des mères

La baisse du temps d'exploration des Mères lors de la seconde exposition pourrait refléter une baisse de leur motivation à explorer l'odeur même si elles l'interprètent comme nouvelle. Pour exclure ce biais, nous avons mesuré l'activité exploratoire de femelles Vierges et Mères face à une nouvelle odeur présentée dans les mêmes conditions que précédemment, c'est-à-dire avec un TIE de 6h (Figure 4A).



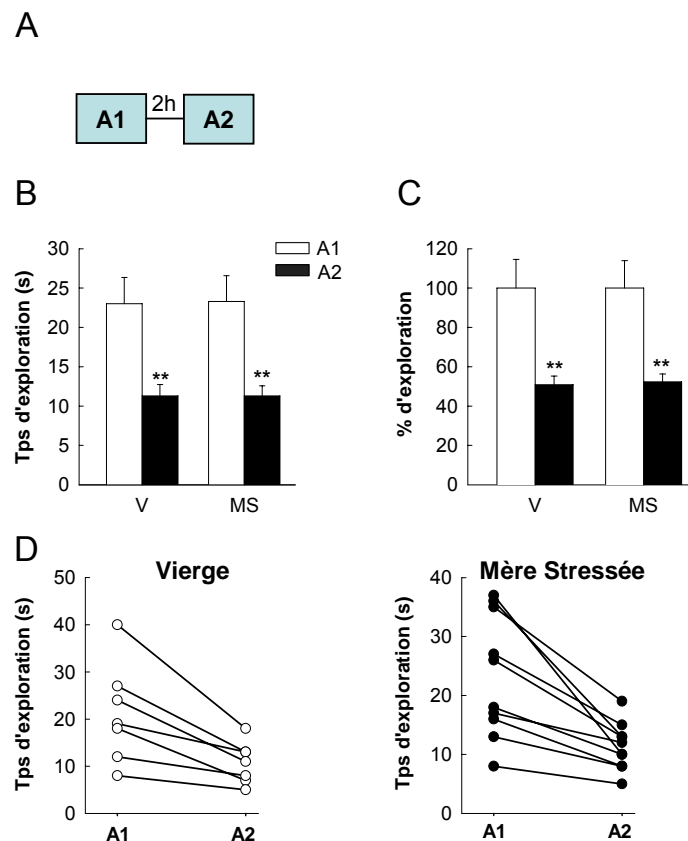
**Figure 4 : Activité exploratoire des mères exposées à une nouvelle odeur.** (A) Déroulement du test de mémoire. L'odeur B est la cardamome. (B). Temps d'exploration de l'odeur A et de l'odeur B pour le groupe Vierge (V, n=9) et le groupe Mère (M, n=8). (C) Pourcentages d'exploration de l'odeur lors de la 2<sup>de</sup> exposition. Le pourcentage d'exploration de la 1<sup>ère</sup> exposition est de 100%. (D) Valeurs individuelles des temps d'exploration de l'odeur A et de l'odeur B pour le groupe Vierge et le groupe Mère.

Les résultats comportementaux mettent en évidence que pour les deux groupes expérimentaux, les femelles explorent autant l'odeur B que l'odeur A (Figures 4C, et 4D ;

*Vierges* : temps d'exploration  $t_9=1.09$ ,  $p=0.3$  ; pourcentage d'exploration  $t_9=0.69$ ,  $p=0.5$  ; *Mères* : temps d'exploration  $t_8=0.036$ ,  $p=0.9$ ; pourcentage d'exploration  $t_8=-0.59$ ,  $p=0.57$ ). L'analyse des résultats individuels (Figure 4D) confirme ce résultat. En conclusion, cette expérience nous montre que les Mères ne présentent pas de déficit motivationnel, et nous permet de conclure que les résultats de la première étude reflètent bien une amélioration de la mémoire olfactive.

### **b. Reconnaissance d'odeurs des mères stressées**

L'absence de reconnaissance d'une odeur familière des Mères Stressées après un délai de 6h pourrait refléter un déficit dans le traitement de l'information olfactive les rendant incapables de reconnaître une odeur comme familière quel que soit le délai. Pour contrôler ce biais possible, nous avons testé l'activité exploratoire de femelles Vierges et Mères Stressées face à une même odeur présentée à 2h d'intervalle (Figure 5A), un délai pour lequel l'odeur devrait être reconnue comme familière si l'information est traitée correctement.



**Figure 5 : Mesure de la reconnaissance d'odeur des Mères Stressées.** (A) Déroulement du test de mémoire. Temps d'exploration lors des 2 expositions pour le groupe vierge (V) et le groupe Mère Stressée (MS). (C) Pourcentages d'exploration lors de la 2nde exposition. Le pourcentage d'exploration de la 1ère exposition est de 100%. (D) Valeurs individuelles des temps d'exploration de l'odeur A et de l'odeur B pour le groupe Vierge (n=7) et le groupe Mère Stressée (n=10). \*\*  $p<0,01$ .

Les résultats indiquent que dans ces conditions, les Mères Stressées présentent des performances identiques à celles des Vierges, explorant moins l'odeur à la 2<sup>nd</sup>e exposition (Figures 5B, 5C, 5D ; Vierges : temps d'exploration  $t_7=5.29$ ,  $p<0.01$  ; pourcentage d'exploration  $t_7=2.88$ ,  $p<0.05$  ; Mères Stressées : temps d'exploration  $t_{10}=4.75$ ,  $p<0.001$  ; pourcentage d'exploration  $t_{10}=2.76$ ,  $p<0.05$ ). Cette expérience nous indique que les Mères Stressées ont la capacité de reconnaître une odeur comme familière lorsque le délai entre l'échantillonnage et le test est court. Elle confirme donc que les résultats obtenus dans la première expérience reflètent bien un déficit de mémoire olfactive.

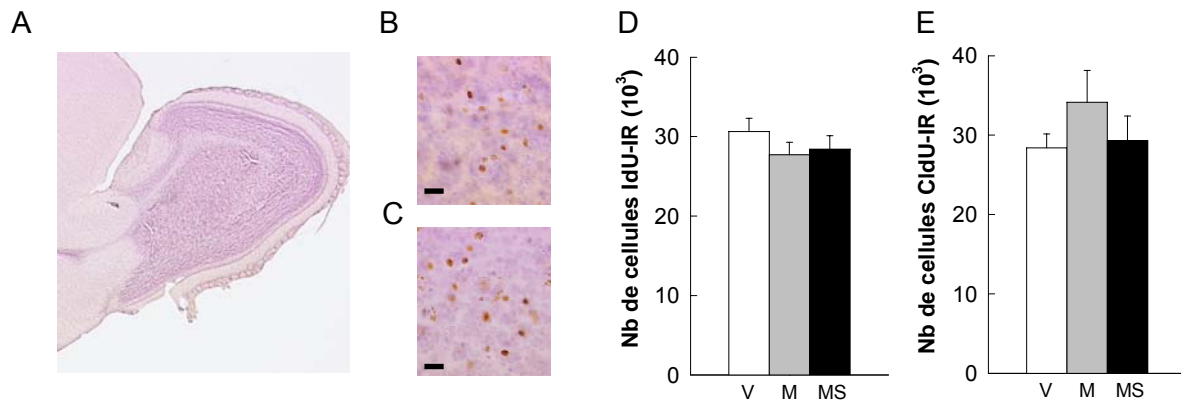
## C. Impact de la maternité sur la neurogénèse bulbaire

### 1. Nombre de néoneurones

Nous avons mis en évidence que la maternité augmente la mémoire olfactive, et que cette amélioration est abolie par une perturbation de la gestation. Nous avons éprouvé la seconde partie de notre hypothèse, basée sur les données de la littérature, et selon laquelle l'amélioration de mémoire olfactive liée à la maternité dépend d'une augmentation de la neurogénèse bulbaire. Pour cela, nous avons analysé l'impact d'une maternité normale ou perturbée par un stress sur le nombre de néoneurones générés avant la gestation (GD<sub>-7</sub>) ainsi que sur le nombre de néoneurones créés au 7<sup>ème</sup> jour de gestation (GD<sub>7</sub>). Nous avons choisi de marquer les cellules prolifératives à l'IdU une semaine avant la reproduction, de façon à ce que les néoneurones soient âgés de 21 à 28 jours au moment du stress gestationnel. A cet âge, la survie des néoneurones bulbaire est sensible aux variations de l'environnement (Yamaguchi and Mori, 2005), ce qui nous permettait d'évaluer l'impact de la gestation et du stress gestationnel sur la survie des néoneurones. Les souris ont également été injectées à la CldU au 7<sup>ème</sup> jour de gestation afin de marquer les cellules proliférant à cet instant (Shingo et al., 2003). Au moment où le test comportemental a été effectué, les cellules IdU et CldU étaient donc âgées respectivement de 6 et 4 semaines, âges auxquels elles sont intégrées dans le réseau bulbaire.

### *a. Néoneurones générés avant la gestation*

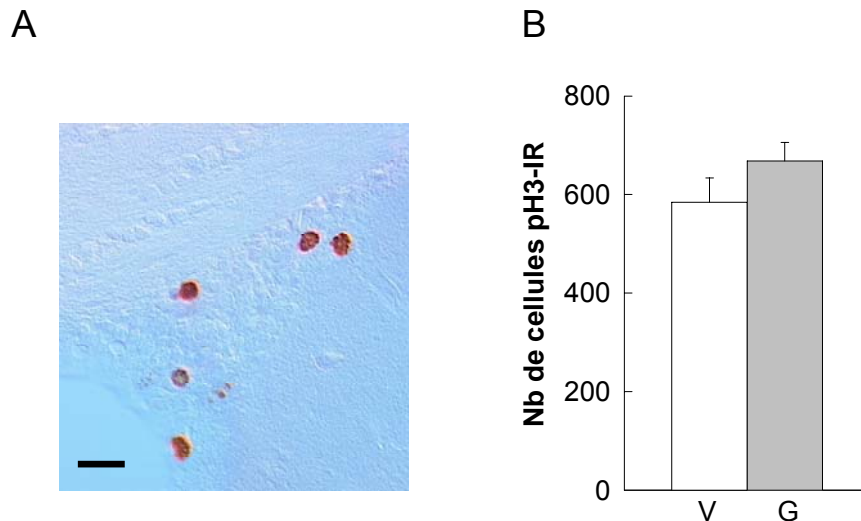
Nous avons quantifié le nombre de cellules IdU-IR dans la couche granulaire du BO. Les résultats indiquent que la maternité, qu'elle soit normale ou perturbée, n'affecte pas le nombre de cellules ayant survécu (Figure 6 A, 6B, 6D ;  $F_{2,50}=0.89$ ,  $p=0.42$ ).



**Figure 6 : Impact d'une maternité normale ou pathologique sur la neurogénèse bulbaire.** (A) Vue sagittale du BO. (B) Illustration de cellules IdU-IR dans la CCG du BO. (C) Illustration de cellules CldU-IR dans la CCG du BO. (D) Nombre de cellules IdU-IR dans la CCG du BO (V, n=22 ; M, n=16 ; MS, n=15). (E) Nombre de cellules CldU-IR. V : Vierge (n=24) ; M : Mère (n=8) ; MS : Mère Stressée (MS=12). Barre d'échelle : 20µm.

### *b. Néoneurones générés durant la gestation*

Nous avons évalué le nombre de cellules CldU-IR dans la couche granulaire du BO. Les résultats indiquent que la maternité, qu'elle soit normale ou perturbée, n'affecte pas le nombre de cellules ayant survécu (Figure 6A, 6C, 6E ;  $F_{2,41}=1.05$ ,  $p=0.36$ ). Ces résultats sont en contradiction avec ceux d'une étude précédente (Shingo et al., 2003), dans laquelle la neurogénèse bulbaire mesurée au 14<sup>ème</sup> jour post-partum est augmentée en raison d'une augmentation de prolifération observée au 7<sup>ème</sup> jour de gestation. Nous avons donc vérifié si dans nos conditions expérimentales la maternité augmentait la prolifération dans la ZSV de femelles gestantes. Pour cela, nous avons comparé le nombre de cellules exprimant le marqueur de prolifération histone 3 phosphorylé (pH3) dans la ZSV chez des femelles vierges (V) et des femelles gestantes (G), sacrifiées au 7<sup>ème</sup> jour de gestation. Les résultats obtenus indiquent que la gestation n'augmente pas la prolifération dans la ZSV (Figure 7A, 7B;  $t_{13}=1.23$ ,  $p=0.24$ ).



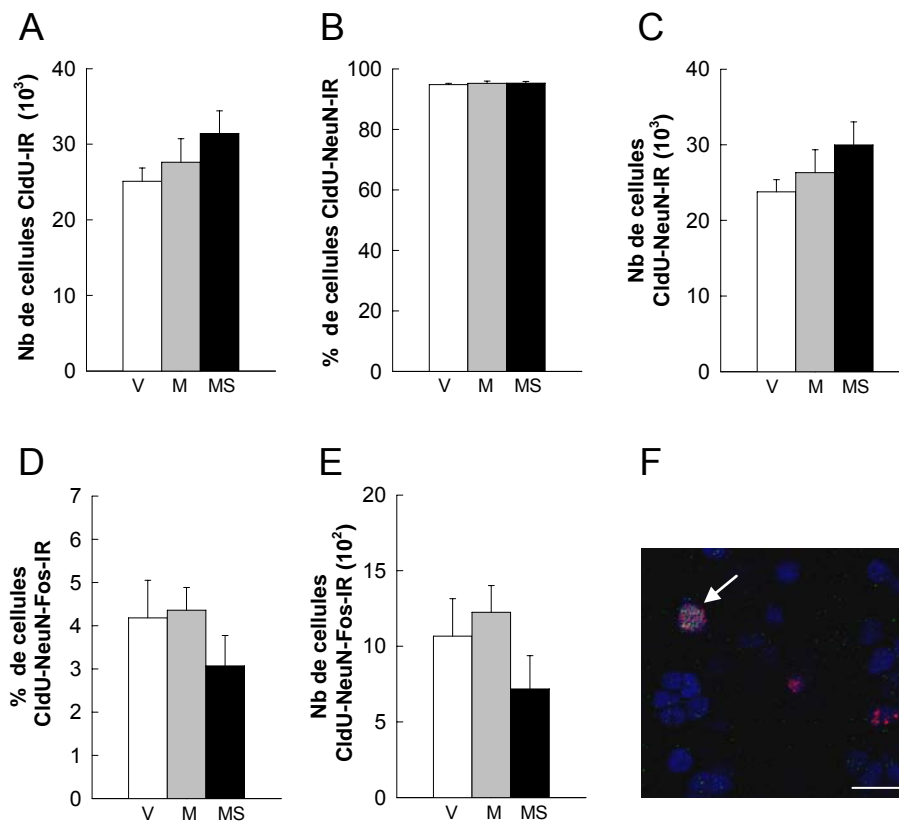
**Figure 7 : Impact de la maternité sur la prolifération cellulaire dans la ZSV au 7<sup>ème</sup> jour de gestation.**  
 (A) Illustration de cellules pH3-IR dans la ZSV. (B) Nombre de cellules pH3-IR. V : Vierge (n=9) ; G :  
 gravide (n=6). Barre d'échelle : 20 $\mu$ m

En conclusion, nous n'avons donc pas confirmé notre hypothèse, à savoir que l'amélioration des performances olfactives des Mères était due à une augmentation du nombre de néoneurones âgés de 4 semaines, laquelle serait absente chez les Mères stressées. Cependant la participation des néoneurones bulbaires aux modifications comportementales observées chez les Mères et Mères Stressées pourrait aussi reposer sur un recrutement différentiel de ces neurones lors du test de mémoire.

## 2. Activation des néoneurones

Pour déterminer l'impact de la maternité et du stress gestationnel sur le recrutement des néoneurones, et à l'instar de l'approche utilisée dans notre première étude (Chapitre 1) nous avons analysé le pourcentage de neurones néoformés exprimant le marqueur d'activation Fos en réponse au test de mémoire olfactive. Nous avons donc analysé dans les trois groupes d'animaux (Vierge, Mère, Mère Stressée) testés avec une même odeur présentée à 6h d'intervalle, le pourcentage de cellules CldU-NeuN-IR et le pourcentage de cellules CldU-NeuN-Fos-IR. L'analyse des résultats indique que : 1) Le nombre de cellules CldU-IR est similaire entre les groupes (Figure 8 A ;  $F_{2,15}=1.38$ ,  $p=0.28$ ), 2) le pourcentage de cellules CldU-IR exprimant le marqueur neuronal NeuN est similaire entre les groupes (Figure 8 B;  $F_{2,15}=0.18$ ,  $p=0.84$ , 3) le nombre de néoneurones ne diffère pas selon les groupes expérimentaux (Figure 8 C ;  $F_{2,15}=1.41$ ,

$p=0.27$ ). La maternité et le stress gestationnel n'affectent pas la différenciation neuronale des cellules créées en début de gestation (GD<sub>7</sub>). Par ailleurs, nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence dans le pourcentage de cellules CldU-NeuN-IR exprimant Fos entre les 3 groupes (Figure 8 D et F ;  $F_{2,15}=1.01$ ,  $p=0.39$ ). Ainsi, le nombre de néoneurones activés est comparable entre les différents groupes expérimentaux (Figure 8 E ;  $F_{2,15}=1.44$ ,  $p=0.27$ ).



**Figure 8 : Impact d'une maternité normale ou perturbée sur le recrutement des néoneurones.** (A) Nombre de cellules CldU-IR. (B) Pourcentage de cellules CldU-IR exprimant le marqueur neuronal NeuN. (C) Nombre de néoneurones. (D) Pourcentage de néoneurones exprimant Fos. (E) Nombre de néoneurones activés. (F) Image confocale montrant une cellule BrdU (rouge) co-exprimant le marqueur neuronal NeuN (bleu) et le facteur d'activation cellulaire Fos (vert) dans la CCG du BO. Barre d'échelle=10 $\mu$ m. V, n=6 ; M, n=5 ; MS, n=7.

En conclusion, pris dans leur ensemble, nos résultats indiquent que les modifications de mémoire olfactive liées à la maternité et au stress gestationnel ne sont pas imputables à un recrutement différentiel des néoneurones âgés de 4 semaines lors du test.

## **IV. DISCUSSION**

Nous avons mis en évidence que la maternité améliore la mémoire olfactive des mères et qu'un stress gestationnel abolit cet effet. Ces modifications comportementales ne sont liées ni à des modifications du nombre de néoneurones granulaires âgés de 6 et 4 semaines, ni à un recrutement différentiel des néoneurones âgés de 4 semaines.

### **A. Maternité et mémoire olfactive**

Notre étude est la première à avoir analysé l'impact de la maternité sur la mémoire olfactive en comparant des mères et des vierges. L'amélioration des capacités mnésiques des mères que nous avons observée suggère que la mise en place de la mémoire de reconnaissance de la progéniture est liée à une amélioration globale des performances mnésiques. En effet, différentes études réalisées chez la brebis ont mis en évidence que dans les 2 à 4 heures qui suivent la parturition, la brebis met en place une mémoire de reconnaissance de son agneau. Une fois cette reconnaissance établie, elle rejettera tous les agneaux étrangers (Smith et al., 1966). Même chez l'Homme, espèce où l'odorat ne fait pas partie des sens majeurs, il a été mis en évidence qu'une mère est capable de reconnaître l'odeur de son bébé parmi celles d'autres bébés (Porter, 1998).

Nos résultats montrent que l'amélioration de mémoire observée chez les mères n'est pas spécifique de l'odeur des petits, puisqu'elle se manifeste également face à des odeurs neutres, suggérant des remaniements de l'ensemble de la fonction olfactive. Pour analyser plus en avant cette fonction, il aurait été intéressant de déterminer si la maternité modifie les seuils de détection des odeurs ainsi que la discrimination olfactive. En effet, il est établi dans l'espèce humaine que les femmes enceintes présentent une sensibilité accrue aux odeurs. Cette sensibilité préviendrait l'ingestion par la mère d'aliments nocifs pour le développement du fœtus. Même si l'ensemble des études s'accorde sur une modification de la valence hédonique associée aux odeurs chez les femmes enceintes, aucun consensus n'a jusqu'alors été établi sur l'amélioration ou non de leurs performances olfactives (seuil de détection et discrimination olfactive) (Cameron, 2007). La mise en œuvre de tests simples tel que celui que nous avons utilisé, qui permet de s'affranchir de l'odeur de la progéniture, pourrait donc être utile pour tester l'impact de la maternité sur le seuil de détection ainsi que sur les capacités discriminatives des femelles.

Notre étude est la première également à mettre en évidence que le stress gestationnel abolit l'effet bénéfique de la maternité sur la mémoire olfactive. L'altération de mémoire que nous avons observée pourrait impliquer trois mécanismes : 1) une défaillance dans l'encodage de

la trace mnésique 2) un déficit de consolidation, ou 3) un déficit de restitution de l'information mémorisée. Les résultats de notre expérience contrôlée dans laquelle la mémoire des mères stressées est évaluée après un intervalle de 2h indique que ces femelles sont capables d'encoder la trace mnésique et de restituer l'information. En revanche lorsque le délai est de 6 heures, des perturbations apparaissent. Nous proposons que les processus de consolidation soient altérés pendant la phase dite tardive. En effet le processus de consolidation se divise en deux phases, une phase précoce et une phase tardive qui lui succède, qui font appel à des mécanismes neurobiologiques différents (Mayford et al., 1995). A l'heure actuelle il est difficile de mettre en perspective ce résultat avec des données de la littérature car bien que le modèle du stress gestationnel soit couramment utilisé pour étudier le développement du petit (Weinstock, 2008), peu d'études ont analysé ses conséquences sur la mère. Il a cependant été montré que les femelles stressées présentaient une altération du comportement maternel (Champagne and Meaney, 2006; Smith et al., 2004) ainsi qu'une altération des capacités d'apprentissage dans un test de mémoire associatif (Leuner and Shors, 2006). Bien que cette hypothèse n'ait pas été validée, nos résultats suggèrent que chez les femelles stressées l'altération de la mise en place d'une mémoire de reconnaissance des petits pourrait être à l'origine de leur comportement maternel défaillant.

Les mécanismes par lesquels la maternité et le stress gestationnel modulent la fonction olfactive sont inconnus. La gestation et la lactation étant caractérisées par de nombreuses fluctuations hormonales, les différences comportementales que nous avons observées pourraient impliquer plusieurs facteurs. Parmi eux, un candidat a particulièrement retenu notre attention pour les conséquences comportementales auxquelles il est associé : il s'agit de l'ocytocine. L'ocytocine est sécrétée au moment de la parturition, au cours de laquelle elle entraîne la contraction de l'utérus, et lors de la lactation, où elle provoque l'éjection du lait. Chez la brebis, la libération bulbaire d'ocytocine consécutive à une stimulation vagino-cervicale (SVC), est indispensable à la reconnaissance du petit (Levy et al., 1992; Levy et al., 1995a), ce qui suggère qu'elle pourrait être impliquée dans les modifications du comportement olfactif que nous avons observé chez les Mères. Cette hypothèse est étayée par des données mettant en évidence que l'amélioration de la mémoire olfactive consécutive à une SVC est bloquée par l'infusion dans le BO d'antagonistes aux récepteurs à l'ocytocine (Larrazolo-Lopez et al., 2008). Aussi, peut-on supposer que la maternité augmenterait la mémoire olfactive via une régulation positive du système ocytocynergique résultant d'une augmentation de la libération d'ocytocine et/ou du nombre de récepteurs à l'ocytocine et que le stress gestationnel aurait un effet opposé. De façon



intéressante, il a été montré que le nombre de récepteurs à l'ocytocine dans certaines des régions cérébrales impliqués dans le comportement maternel (BNST, MPOA), ainsi que dans l'amygdale médiane, est réduit chez les mères stressées (Champagne and Meaney, 2006). De ce fait le système ocytocinergique constitue un candidat de choix pour expliquer nos effets comportementaux, et son étude dans nos conditions expérimentales apparaît particulièrement intéressante

## **B. Maternité et neurogénèse**

Afin de relier les modifications comportementales que nous avons observées à des variations de neurogénèse bulbaire, nous avons analysé le nombre de néoneurones âgés respectivement de 6 et 4 semaines lors du 14<sup>ème</sup> jour post-partum, au moment de l'étude comportementale, et n'avons pas pu mettre en évidence d'impact de la maternité. Les néoneurones âgés de 6 semaines ayant été générés avant la période de gestation, ce résultat indique que la gestation et la lactation ne modifient pas leur survie. Quant aux néoneurones âgés de 4 semaines, nos résultats vont à l'encontre de données de la littérature ayant reporté une augmentation du nombre de néoneurones granulaires au jour post-partum 14, consécutive à une augmentation de prolifération cellulaire au niveau de la ZSV au 7<sup>ème</sup> jour de gestation (Shingo et al., 2003). Nous avons donc analysé l'impact de la gestation sur la prolifération cellulaire au même moment, et n'avons pas observé de pic de prolifération. Cette divergence entre notre étude et celle de Shingo et collaborateurs peut s'expliquer par le fait que dans leur étude, des femelles outbred CD1 ont été utilisées, tandis que dans la nôtre des femelles inbred C57Bl/6J ont été utilisées. Or récemment le groupe de Furuta a obtenu des résultats similaires au nôtre chez le rat (Furuta and Bridges, 2005). Il semblerait donc que l'impact de la maternité sur la prolifération cellulaire dans la ZSV diverge en fonction de la souche ou de l'espèce étudiée. De plus, puisqu'il a également été montré que l'augmentation de prolifération dans la ZSV peut intervenir plus tard au cours de la gestation (21<sup>ème</sup> jour de gestation (Furuta and Bridges, 2005)), on ne peut exclure que dans nos conditions expérimentales, la prolifération soit augmentée à un stade différent de la gestation.

L'absence de modifications de neurogénèse lors de la maternité, étape de la vie associée à d'intenses variations des niveaux des hormones sexuelles, suggère que celles-ci auraient un impact très restreint ou extrêmement dynamique sur la neurogénèse. Il existe peu d'études sur l'impact des hormones sexuelles sur la neurogénèse bulbaire, et ces études se sont intéressées uniquement à la prolifération cellulaire dans la ZSV. Ainsi, une étude réalisée chez le campagnol

des prés a mis en évidence une augmentation de prolifération dans la ZSV chez des femelles en œstrus, laquelle serait dépendante du pic d'œstradiol produit en pré-œstrus (Smith et al., 2001). Chez le rat, à l'inverse les métabolites neuroactifs de la progestérone réduisent la prolifération dans la ZSV (Giachino et al., 2003). Enfin des études réalisées chez la souris ont mis en évidence que l'infusion intra-ventriculaire ou sous-cutanée de prolactine augmentait la prolifération dans la ZSV chez le mâle et la femelle (Shingo et al., 2003; Mak et al., 2007). Les auteurs en ont conclu que les hormones sexuelles pourraient avoir un impact sur la neurogénèse bulbaire lors de la maternité. Si l'on considère nos travaux alors se pose le problème de la « face validity » des modèles « pharmacologiques » employés dans la littérature.

Nos résultats montrent également que le stress gestationnel ne modifie pas la survie des néoneurones créés avant ou pendant la gestation. Les données portant sur le stress et la neurogénèse bulbaire sont rares et contradictoires. Certaines études s'accordent sur le fait qu'un stress de contention, qu'il soit aigu ou chronique, ne modifie pas la prolifération dans la ZSV (Mineur et al., 2007; Koo and Duman, 2008; Mirescu et al., 2004), tandis que d'autres utilisant soit un stress de nage forcée (Hitoshi et al., 2007), soit des injections aiguës de corticostérone exogène (Lau et al., 2007) mettent en évidence une diminution de prolifération dans la ZSV. Il n'est donc pas exclu que le stress gestationnel entraîne une diminution de prolifération dans la ZSV. Aussi en l'état actuel de nos connaissances, des expériences complémentaires seront nécessaires pour mieux disséquer l'influence d'un stress gestationnel sur la neurogénèse

### **C. Maternité, olfaction et plasticité**

Nous n'avons pas pu mettre en évidence une relation quantitative entre nombre de néoneurones et performances mnésiques. Nous avons alors cherché à déterminer si les différences comportementales observées chez les Mères et Mères Stressées pouvaient reposer sur un recrutement différentiel des néoneurones lors du test de mémoire. Nos résultats montrent que l'activation des néoneurones lors du test de mémoire olfactive ne diffère pas entre les trois groupes. Ces résultats posent le problème, si on exclut toute participation de la néoneurogénèse, des substrats biologiques impliqués dans les modifications des capacités de mémoire lors de la maternité ou après un stress gestationnel. En ce qui concerne les travaux portant sur l'hippocampe, il a été montré que la maternité améliore la mémoire spatiale (Kinsley et al., 1999; Lemaire et al., 2006) et modifie la plasticité synaptique au sein de l'hippocampe (Lemaire et al., 2006; Tomizawa et al., 2003). Ces effets perdurent toute la vie de la mère indiquant

l'importance de l'expérience maternelle sur la plasticité du cerveau adulte (Lemaire et al., 2006; Gatewood et al., 2005). De façon intéressante ces effets sont abolis par un stress gestationnel (Lemaire et al., 2006). Aussi, si l'on effectue un parallèle entre les deux systèmes, on peut imaginer que les propriétés de plasticité des réseaux bulbaires soient modifiées. Ces remaniements pourraient impliquer soit des néoneurones soit des neurones formés pendant le développement. A ce titre, il est intéressant de mentionner que la maternité modifie la morphologie et le branchement des neurones de l'hippocampe. Ainsi il a été mis en évidence qu'elle diminue l'arborisation des neurones pyramidaux du CA1 et du CA3. Cet effet est cependant régulé de façon complexe puisqu'il n'est observé que chez des femelles primipares et non chez les multipares (Pawluski and Galea, 2006) ; chez ces dernières, la densité des épines dendritiques dans le CA1 est augmentée (Kinsley et al., 2006).

Quoi qu'il en soit, si l'on rapproche l'amélioration de la mémoire olfactive que nous avons enregistrée et celle de la mémoire spatiale qui a été décrite dans la littérature, se pose la question de la signification d'un effet promnésiant de la maternité. Pour assurer le développement et la survie de sa progéniture, la mère doit s'éloigner du nid pour trouver des sources d'eau et de nourriture, sa mémoire spatiale lui permettant de se rappeler la localisation des sites. L'amélioration de la mémoire olfactive permettrait à la mère de retrouver plus facilement son nid et, lorsque les petits commencent à s'éloigner du nid, de les reconnaître parmi d'autres congénères. Il est intéressant de noter que ces deux types de mémoire reposent sur les deux sites du cerveau adulte dans lesquels une neurogénèse adulte a été mise en évidence. Si à l'heure actuelle aucun lien n'a pu être établi entre l'amélioration des performances de mémoire et des variations de neurogénèse dans les deux zones neurogéniques du cerveau adulte, il s'agit d'un champ d'investigation encore peu exploré qui nécessitera de futures études.

Ainsi, un certain nombre d'expériences complémentaires peuvent être proposées pour compléter notre étude. Au niveau comportemental, il nous semble important d'établir à quel moment de la lactation l'amélioration des performances mnésiques apparaît, et si ces effets promnésiants persistent tout au long de la vie de l'animal, voire protègent de l'apparition de déficits liés à l'âge. Pour confirmer ou infirmer que la neurogénèse bulbaire est impliquée dans les effets comportementaux de la maternité, un blocage transitoire de la neurogénèse bulbaire durant la gestation pourrait être envisagé. Enfin, il serait intéressant d'étudier les mécanismes impliqués dans la maternité. Au regard des données de la littérature, le système ocytocinergique apparaît être un candidat de choix. Il pourrait s'agir d'analyser la mémoire olfactive et le

comportement maternel de mères mutantes pour le récepteur à l'ocytocine. L'analyse du comportement maternel et des performances mnésiques de mères infusées dans le BO, après chaque session de stress gestationnel, avec un rétrovirus permettant l'expression de récepteurs à l'ocytocine ou d'infusion d'ocytocine dans le BO, nous permettrait de déterminer si l'altération du comportement maternel et des performances olfactives est due à une diminution d'ocytocine dans le BO.

En conclusion, de nombreuses études peuvent être envisagées afin de disséquer les mécanismes sous-tendant les modifications comportementales liées à la maternité, notamment dans un cadre pathologique. Accroître notre champ de connaissance sur ce sujet, grâce notamment aux modèles simples que nous proposons, devrait permettre à terme une meilleure compréhension des relations mère-petit.

## **DISCUSSION GENERALE**

---

Lorsque ce travail de thèse a débuté, il existait peu d'études sur le rôle fonctionnel des neurones nouvellement formés dans le BO. De plus, l'ensemble de ces études était basé sur des approches corrélatives. Dans notre travail, dont le but était d'élargir nos connaissances sur le rôle fonctionnel de la neurogenèse bulbaire, nous avons utilisé deux approches complémentaires : dans une première partie, nous avons étudié l'implication des néoneurones bulbaire dans différentes tâches olfactives (apprentissage de discrimination olfactive et restitution d'une mémoire à long-terme) ; l'odorat jouant un rôle prépondérant dans la mise en place de nombreux comportements animaux, nous avons dans une deuxième partie étudié le rôle des néoneurones bulbaire dans un comportement naturel et indispensable à la survie de l'espèce : la maternité, et ce dans une situation physiologique et pathologique.

Dans leur ensemble, nos résultats ont permis de montrer que 1) la réalisation d'une tâche de discrimination recrute spécifiquement les néoneurones, suggérant leur implication dans la réussite de cette tâche; 2) la maternité modifie les compétences olfactives ; même si pour l'instant nos données ne permettent pas de relier cet effet comportemental avec des modifications de neurogenèse, la participation des néoneurones ne peut être exclue.

La rareté des données recensées sur les modifications de neurogenèse durant la maternité et leurs apparentes contradictions, souligne l'importance de mener en parallèle des études visant à une meilleure compréhension des mécanismes sous-tendant les relations entre neurogenèse et olfaction dans des modèles plus simples. Nous orienterons ici notre discussion sur ces relations. En particulier nous traiterons de l'influence réciproque entre mémoire olfactive et neurogenèse

### ***I. INFLUENCE DE LA NEUROGENESE SUR L'APPRENTISSAGE***

Les premières études décrivant que les capacités d'apprentissage et de mémorisation d'une information olfactive dépendaient du niveau de neurogenèse bulbaire ont été les premières à suggérer que les néoneurones pouvaient participer à l'olfaction. Ainsi, il a été mis en évidence qu'une augmentation du nombre de néoneurones était associée à une amélioration de la mémoire olfactive (Rocheffort et al., 2002; Rocheffort and Lledo, 2005; Romero-Grimaldi et al.,

2006;Veyrac et al., 2009), tandis qu'une diminution de neurogénèse était associée à des altérations de la discrimination olfactive (Bath et al., 2008;Enwere et al., 2004;Gheusi et al., 2000). Ces études mettent en évidence une association entre nombre de néoneurones et performances, mais de par leur nature corrélative, elles ne permettent pas d'incriminer directement les variations de neurogénèse dans les effets comportementaux. C'est pourquoi les études postérieures ont utilisé des modèles dans lesquels la neurogénèse bulbaire était directement bloquée. Ce blocage a été obtenu par des approches de transgénèse ou des irradiations focalisées de la zone proliférative. A l'aide de ces approches des résultats comportementaux contradictoires ont été obtenus. De plus ces travaux ne corroboraient en aucun cas les données obtenues précédemment (Enwere et al., 2004;Gheusi et al., 2000;Rocheffort and Lledo, 2005;Romero-Grimaldi et al., 2006). Un tel désaccord, s'il a l'avantage d'ouvrir un débat qui ne peut qu'être bénéfique pour notre compréhension du rôle fonctionnel de la neurogénèse, souligne la nécessité de développer des modèles spécifiques et des approches variées afin d'arriver à un consensus. D'autre part si l'on se base sur la littérature consacrée à la neurogénèse hippocampique, de futures expériences devront prendre en compte un certain nombre de paramètres tels que le stade de maturité des néoneurones, la difficulté de l'épreuve comportementale ...

Cependant si l'on admet qu'une augmentation de neurogénèse est bénéfique pour la fonction olfactive, alors se pose la question suivante : Comment les néoneurones exercent t'ils un tel rôle facilitateur ? L'ajout de néoneurones peut-il expliquer une telle amélioration comportementale ? Il a été récemment mis en évidence que l'augmentation du nombre de néoneurones entraîne au sein du réseau bulbaire une augmentation de l'expression de l'enzyme de synthèse du GABA Gad67/65, ce qui a pour conséquence d'augmenter l'activité inhibitrice du réseau bulbaire (Moreno et al., 2009). Or, les interneurones GABAergiques contrôlent la synchronisation des neurones de projection, laquelle est cruciale pour une discrimination olfactive performante. Ainsi l'augmentation du nombre de néoneurones pourrait permettre une meilleure synchronisation des neurones de projection, améliorant les facultés discriminatives des animaux.

## **II. INFLUENCE DE L'EXPERIENCE SENSORIELLE SUR LA NEUROGENESE**

Si le niveau de neurogénèse influence donc l'expérience olfactive, la réciproque est vraie. Ainsi, un certain nombre d'études ont montré que la neurogénèse est un phénomène dynamique ouvert aux influences de l'environnement auxquelles l'animal est confronté.

L'analyse des données de la littérature dans ce domaine nous incite à distinguer deux types d'apprentissage, l'apprentissage perceptuel que l'on nommera implicite, et par opposition l'apprentissage « conscient ». L'apprentissage implicite est défini comme une modification spécifique et relativement permanente de la perception et du comportement, en réponse à une expérience sensorielle (Goldstone, 1998). Ce type d'apprentissage a été décrit chez l'Homme et chez l'animal. D'un point de vue éthologique, l'apprentissage implicite apparaît bénéfique pour la survie de l'animal. En effet il est fort probable qu'un animal rencontre des situations similaires à celles déjà rencontrées, et dans un tel cas, l'acquisition de l'apprentissage implicite lui permettra de répondre plus facilement et plus rapidement face à une situation donnée. L'apprentissage conscient regroupe quant à lui les apprentissages associatifs, et se définit pour l'animal comme une obligation d'apprendre afin d'obtenir une récompense ou de fuir un environnement aversif. Alors qu'il est possible de tester directement l'acquisition d'un apprentissage conscient, en demandant par exemple à l'animal de restituer l'information acquise, tester l'acquisition d'un apprentissage implicite ne se fait pas directement, mais s'évalue majoritairement par la mise en œuvre d'un test de type non-associatif.

Dans le domaine de l'olfaction, on peut considérer comme apprentissage implicite l'élevage en milieu enrichi en odeurs ; à l'inverse tous les tests basés sur des apprentissages associatifs, qui associent une odeur à une récompense, peuvent être considérés comme des apprentissages « conscients ». Il est aujourd'hui clairement admis que ces deux types d'apprentissage, qui reflètent l'expérience sensorielle de l'animal, peuvent modifier le cours de la neurogénèse bulbaire. Ainsi, par exemple l'apprentissage implicite (Moreno et al., 2009; Rochefort et al., 2002; Rochefort and Lledo, 2005; Veyrac et al., 2009) et l'apprentissage « conscient » (Mouret et al., 2008; Mandairon et al., 2006a) augmentent tout deux la survie des néoneurones bulbaires, l'impact de l'apprentissage conscient étant plus important (Alonso et al., 2006) que celui de l'apprentissage implicite. Nous allons voir dans les paragraphes suivants que ces modifications ne sont pas sans impact sur le comportement de l'animal, ce qui place la neurogénèse en acteur clé de l'ajustement comportemental aux variations environnementales.

## **A. Apprentissage implicite et neurogénèse**

Les travaux de Rochefort et collaborateurs sont les premiers à avoir mis en évidence que l'environnement enrichi augmentait la survie des néoneurones, et que l'augmentation du nombre de néoneurones résultante était associée à une amélioration des performances dans un test de mémoire non associatif (Rochefort et al., 2002; Rochefort and Lledo, 2005; Veyrac et al., 2009). Une étude récente va plus loin dans la compréhension de ces mécanismes, montrant que l'augmentation de neurogénèse induite par l'apprentissage implicite est nécessaire à l'amélioration des performances dans un test de discrimination non associatif. La particularité des nouveaux neurones sélectionnés par l'apprentissage implicite est qu'ils répondent préférentiellement à l'odeur utilisée durant l'enrichissement, suggérant que les néoneurones qui ont été sélectionnés par l'apprentissage implicite gardent en mémoire la trace de l'odeur. Ils ont été « primés ». De plus l'augmentation de survie de ces néoneurones est associée à une augmentation de l'activité inhibitrice dans le BO qui expliquerait l'amélioration des performances de discrimination (Moreno et al., 2009). Cette étude met donc en évidence que l'apprentissage implicite, en sélectionnant des neurones immatures et en les préparant, va moduler le réseau afin de le rendre plus performant pour les demandes ultérieures. La sélection et la préparation de néoneurones immatures par un apprentissage implicite a déjà été mise en évidence dans la seconde zone neurogénique du cerveau adulte : le gyrus dentelé. En effet, l'élevage dans un milieu enrichi augmente la survie des néoneurones âgés de 1 à 2 semaines ; une fois matures ces néoneurones sont préférentiellement recrutés par l'exposition à un environnement enrichi, suggérant que ces néoneurones sélectionnés ont encodé l'information (Tashiro et al., 2007). En dépit du fait que ces deux études soient menées dans deux structures différentes, des conclusions communes peuvent être tirées : 1) l'expérience de l'animal affecte spécifiquement la survie des néoneurones lors d'une période critique de leur développement, suggérant que les nouveaux circuits formés par les néoneurones semblent être dévoués à l'information implicite fournie par l'expérience ; 2) l'incorporation fonctionnelle de nouveaux neurones pourrait correspondre à l'insertion de nouvelles unités computationnelles reflétant les expériences précédentes, qui vont lors de leur sollicitation par une expérience similaire permettre une réponse plus rapide et plus aisée.

## **B. Apprentissage conscient et neurogénèse**

Nous venons de voir que l'apprentissage implicite, pour lequel la demande cognitive est faible, augmente la survie des néoneurones. L'apprentissage conscient qui présente quant à lui



une demande cognitive beaucoup plus importante, augmente lui aussi la survie des néoneurones et ceci de façon plus importante que l'apprentissage implicite (Alonso et al., 2006). Ce résultat suggère que l'activation du réseau réalisée par un apprentissage conscient est différente de celle réalisée par un apprentissage implicite, suggérant que l'apprentissage conscient active d'autres structures cérébrales, qui à leur tour vont activer le réseau bulbaire et induire une augmentation de survie des néoneurones. Une analyse plus approfondie de ces données indique que la dynamique de cette sélection neuronale repose sur l'âge des néoneurones au moment de l'apprentissage associatif : si l'apprentissage augmente la survie des néoneurones âgés de 11 à 30 jours, il diminue la survie des néoneurones âgés de 30 à 45 jours (Mouret et al., 2008; Mandairon et al., 2006a). Ces observations suscitent une interrogation fondamentale : Pour quelle raison l'apprentissage augmente-t-il la survie d'une population neuronale et diminue celle d'une autre population neuronale? Une étude récente a montré que le blocage de la mort cellulaire qui se déroule normalement en réponse à l'apprentissage olfactif entraîne des altérations d'apprentissage, indiquant que la sélection neuronale est une étape nécessaire à l'optimisation des comportements olfactifs (Mouret et al., 2009a). Ces résultats indiquent donc que le renouvellement cellulaire, plus que l'addition de nouveaux neurones, confère à la neurogénèse adulte sa spécificité comportementale. Ces résultats sont d'autant plus intéressants qu'ils rappellent un phénomène similaire se produisant dans la seconde zone neurogénique. En effet, l'apprentissage spatial a un impact sur la survie des néoneurones hippocampiques qui varie, comme dans le BO, en fonction de l'âge des cellules néoformées, suggérant une régulation homéostatique du nombre de néoneurones par l'apprentissage (Dupret et al., 2007). L'apprentissage sélectionnerait donc les néoneurones qui au moment de l'apprentissage possèdent des propriétés intrinsèques particulières (plasticité, connections) et par souci d'équilibre éliminerait une autre population neuronale, qui à ce moment n'est pas nécessaire.

Nous avons vu précédemment que les néoneurones qui sont sélectionnés par un apprentissage implicite sont préférentiellement recrutés par une expérience présentant les mêmes modalités. Dans le cadre de la neurogénèse hippocampique il a été mis en évidence que des néoneurones âgés de 9 jours dont la survie est augmentée par un apprentissage spatial sont préférentiellement recrutés un mois plus tard si l'expérience à laquelle ils sont confrontés est la même que celle qui les a sélectionnés (Trouche et al., 2009). Notre étude a permis de tester cette hypothèse dans le cadre d'un apprentissage olfactif « conscient » et nous avons montré que les néoneurones recrutés lors de l'apprentissage discriminatif ne sont pas recrutés lors de la restitution de l'information. Si l'on compare l'impact initial des deux apprentissages, une différence majeure émerge : les neurones recrutés dans notre étude n'ont pas été sélectionnés, i.e.

l'apprentissage n'a pas modifié leur survie. Ces données indiquent que les néoneurones recrutés sont impliqués dans l'apprentissage discriminatif, mais qu'au contraire des néoneurones sélectionnés par un apprentissage implicite, ils n'ont pas gardé de trace de cet apprentissage.

Ainsi, que l'apprentissage soit implicite ou « conscient », il peut sélectionner des néoneurones et les conditionner afin qu'ils soient prêts à répondre à une expérience similaire. Or les données précédentes indiquent que la sélection neuronale suite à un apprentissage « conscient » dépend de l'âge des néoneurones, et qu'à un âge donné l'impact de l'apprentissage conscient est supérieur à celui de l'apprentissage implicite. Il apparaît donc crucial de déterminer si les cinétiques de sélection et de recrutement des néoneurones dépendent de la demande cognitive de l'apprentissage, en comparant l'impact des apprentissages implicite et conscient.

En conclusion, de très nombreuses questions quant au rôle des néoneurones bulbaires restent posées. En particulier, il apparaît important de déterminer si le remplacement des neurones adultes permet 1) d'éliminer les cellules néoformées qui n'ont pas acquis les critères des neurones granulaires (maturation défectueuse, mauvaise localisation dans le réseau, connections aberrantes) ou 2) de garder des réseaux fonctionnellement jeunes, par l'élimination aléatoire de populations neuronales et l'addition continue de nouveaux neurones, ces deux hypothèses n'étant pas exclusives. En outre, si la majorité des études met en évidence que les néoneurones sont impliqués dans la fonction olfactive, ces études ont fait appel à des « modèles artificiels », et à moyen terme l'extrapolation des résultats à un contexte éthologique apparaît important. Dans l'ensemble nos travaux apportent à notre connaissance de la plasticité structurale dans le cerveau adulte de nouvelles données sur l'implication fonctionnelle des néoneurones générés à l'âge adulte.

## RESUME

Le système constitué de la zone sous ventriculaire (ZSV) et du bulbe olfactif (BO) est l'une des deux régions cérébrales capables à l'âge adulte de produire de nouveaux neurones. La mise en évidence de cette neurogénèse adulte bulbaire a suscité un grand nombre d'interrogations quant à son rôle fonctionnel. Cependant les études réalisées dans ce domaine sont rares et contradictoires. L'objectif de cette thèse a été d'étudier l'impact de différentes expériences olfactives sur la neurogénèse afin de mieux comprendre son rôle fonctionnel. Nous avons choisi pour cela deux approches : d'une part l'étude de l'implication des néoneurones bulbaire lors de deux tâches d'apprentissage olfactif mettant en œuvre des odeurs neutres ; et d'autre part l'étude du rôle de ces néoneurones dans une situation de vie où l'olfaction joue un rôle primordial et où des variations de neurogénèse ont été rapportées: la maternité. Dans un premier temps, nous avons mis en évidence grâce à une stratégie d'anatomie fonctionnelle que les néoneurones de 5 semaines étaient recrutés lors d'un apprentissage de discrimination olfactive, mais pas lors de la restitution de cette information. Dans un deuxième temps, nous avons mis en évidence que la maternité améliorait les performances olfactives, et que cette amélioration était abolie par un stress gestationnel. Cependant, nous n'avons pas pu mettre en relation ces modifications de performances olfactives liées à la maternité et au stress avec des variations de neurogénèse. Nos travaux supportent l'hypothèse selon laquelle les néoneurones bulbaire sont impliqués dans la discrimination olfactive et mettent en évidence pour la première fois un impact de la maternité, qu'elle soit normale ou pathologique, sur les performances olfactives des mères.

**Mots clés :** *neurogénèse adulte, bulbe olfactif, discrimination olfactive, mémoire olfactive, maternité, stress.*

In the mammalian brain, the subventricular zone (ZSV) and olfactory bulb (BO) system is a region where new neurons are continuously added throughout adulthood. While the functional consequences of continuous hippocampal neurogenesis have been extensively studied, the role of olfactory adult-born neurons remains more elusive. In particular, the involvement of these newborn neurons in odor discrimination and long-term odor memory is still a matter of debate. To address this question, we used two approaches. In the first one, we studied the recruitment of granular olfactory newborn neurons in two different tasks of olfactory learning with neutral odors. In the second one we studied the role of olfactory newborn neurons in a life situation where olfaction is crucial and where an increase in olfactory neurogenesis was reported, i.e. motherhood. In the first study, we found that odor discrimination learning recruited newborn neurons preferentially over preexisting ones, while odor memory restitution did not specifically activate newborn cells. Results of our second study indicate that motherhood improves olfactory memory and that this enhancement is abolished by a gestational stress. However, in our experimental conditions, we could not relate variations in neurogenesis with the modifications of olfactory performances linked to motherhood or stress. In conclusion our work brings new data in support of a functional role for newborn neurons in olfactory discrimination and shows for the first time an impact of motherhood, whether normal or pathological, on the olfactory performances of mothers.

**Keywords:** *adult neurogenesis, olfactory bulb, olfactory discrimination, olfactory memory, motherhood, stress*

## References bibliographiques

- Alonso M, Ortega-Perez I, Grubb MS, Bourgeois JP, Charneau P, Lledo PM (2008) Turning astrocytes from the rostral migratory stream into neurons: a role for the olfactory sensory organ. *J Neurosci* 28:11089-11102.
- Alonso M, Viollet C, Gabellec MM, Meas-Yedid V, Olivo-Marin JC, Lledo PM (2006) Olfactory discrimination learning increases the survival of adult-born neurons in the olfactory bulb. *J Neurosci* 26:10508-10513.
- Altman J (1962) Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* 135:1127-1128.
- Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM (2002) Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci* 22:629-634.
- Alvarez-Buylla A, Lim DA (2004) For the long run: maintaining germinal niches in the adult brain. *Neuron* 41:683-686.
- Andrade N, Komnenovic V, Blake SM, Jossin Y, Howell B, Goffinet A, Schneider WJ, Nimpf J (2007) ApoER2/VLDL receptor and Dab1 in the rostral migratory stream function in postnatal neuronal migration independently of Reelin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:8508-8513.
- Anton ES, Ghashghaei HT, Weber JL, McCann C, Fischer TM, Cheung ID, Gassmann M, Messing A, Klein R, Schwab MH, Lloyd KC, Lai C (2004) Receptor tyrosine kinase ErbB4 modulates neuroblast migration and placement in the adult forebrain. *Nat Neurosci* 7:1319-1328.
- Aroniadou-Anderjaska V, Zhou FM, Priest CA, Ennis M, Shipley MT (2000) Tonic and synaptically evoked presynaptic inhibition of sensory input to the rat olfactory bulb via GABA(B) heteroreceptors. *J Neurophysiol* 84:1194-1203.
- Baker S, Chebli M, Rees S, Lemarec N, Godbout R, Bielajew C (2008) Effects of gestational stress: 1. Evaluation of maternal and juvenile offspring behavior. *Brain Res* 1213:98-110.
- Baldwin BA, Shillito EE (1974) The effects of ablation of the olfactory bulbs on parturition and maternal behaviour in Soay sheep. *Anim Behav* 22:220-223.
- Balu R, Pressler RT, Strowbridge BW (2007) Multiple modes of synaptic excitation of olfactory bulb granule cells. *J Neurosci* 27:5621-5632.
- Bath KG, Mandairon N, Jing D, Rajagopal R, Kapoor R, Chen ZY, Khan T, Proenca CC, Kraemer R, Cleland TA, Hempstead BL, Chao MV, Lee FS (2008) Variant brain-derived neurotrophic factor (Val66Met) alters adult olfactory bulb neurogenesis and spontaneous olfactory discrimination. *J Neurosci* 28:2383-2393.
- Baxi KN, Dorries KM, Eisthen HL (2006) Is the vomeronasal system really specialized for detecting pheromones? *Trends Neurosci* 29:1-7.
- Bellringer JF, Pratt HP, Keverne EB (1980) Involvement of the vomeronasal organ and prolactin in pheromonal induction of delayed implantation in mice. *J Reprod Fertil* 59:223-228.
- Belluzzi O, Benedusi M, Ackman J, LoTurco JJ (2003) Electrophysiological differentiation of new neurons in the olfactory bulb. *J Neurosci* 23:10411-10418.
- Belvindrah R, Hankel S, Walker J, Patton BL, Muller U (2007) Beta1 integrins control the formation of cell chains in the adult rostral migratory stream. *J Neurosci* 27:2704-2717.

- Birke LI, Sadler D (1985) Maternal behavior in rats and the effects of neonatal progestins given to the pups. *Dev Psychobiol* 18:467-475.
- Bodyak N, Slotnick B (1999) Performance of mice in an automated olfactometer: odor detection, discrimination and odor memory. *Chem Senses* 24:637-645.
- Boehm T, Zufall F (2006) MHC peptides and the sensory evaluation of genotype. *Trends Neurosci* 29:100-107.
- Boeijinga PH, Lopes da Silva FH (1989) Modulations of EEG activity in the entorhinal cortex and forebrain olfactory areas during odour sampling. *Brain Res* 478:257-268.
- Booth KK, Katz LS (2000) Role of the vomeronasal organ in neonatal offspring recognition in sheep. *Biol Reprod* 63:953-958.
- Bovetti S, Veyrac A, Peretto P, Fasolo A, De MS (2009) Olfactory enrichment influences adult neurogenesis modulating GAD67 and plasticity-related molecules expression in newborn cells of the olfactory bulb. *PLoS ONE* 4:e6359.
- Brill MS, Ninkovic J, Winpenny E, Hodge RD, Ozen I, Yang R, Lepier A, Gascon S, Erdelyi F, Szabo G, Parras C, Guillemot F, Frotscher M, Berninger B, Hevner RF, Raineteau O, Gotz M (2009) Adult generation of glutamatergic olfactory bulb interneurons. *Nat Neurosci* 12:1524-1533.
- Broad KD, Levy F, Evans G, Kimura T, Keverne EB, Kendrick KM (1999) Previous maternal experience potentiates the effect of parturition on oxytocin receptor mRNA expression in the paraventricular nucleus. *Eur J Neurosci* 11:3725-3737.
- Broad KD, Mimmack ML, Keverne EB, Kendrick KM (2002) Increased BDNF and trk-B mRNA expression in cortical and limbic regions following formation of a social recognition memory. *Eur J Neurosci* 16:2166-2174.
- Brouette-Lahlou I, Amouroux R, Chastrette F, Cosnier J, Stoffelsma J, Vernet-Maury E (1991a) Dodecyl propionate, attractant from rat pup preputial gland: Characterization and identification. *Journal of Chemical Ecology* 17:1343-1354.
- Brouette-Lahlou I, Godinot F, Vernet-Maury E (1999) The mother rat's vomeronasal organ is involved in detection of dodecyl propionate, the pup's preputial gland pheromone. *Physiol Behav* 66:427-436.
- Brouette-Lahlou I, Vernet-Maury E, Chanel J (1991b) Is rat-dam licking behavior regulated by pups' preputial gland secretion. *Animal Learning and Behavior* 19:177-184.
- BRUCE HM (1959) An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. *Nature* 184:105.
- Buck L, Axel R (1991) A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 65:175-187.
- Buonviso N, Chaput M (2000) Olfactory experience decreases responsiveness of the olfactory bulb in the adult rat. *Neuroscience* 95:325-332.
- Busto GU, Elie JE, Kermen F, Garcia S, Sacquet J, Jourdan F, Marcel D, Mandairon N, Didier A (2009) Expression of Zif268 in the granule cell layer of the adult mouse olfactory bulb is modulated by experience. *Eur J Neurosci* 29:1431-1439.
- Cameron EL (2007) Measures of human olfactory perception during pregnancy. *Chem Senses* 32:775-782.

- Carleton A, Petreanu LT, Lansford R, Alvarez-Buylla A, Lledo PM (2003) Becoming a new neuron in the adult olfactory bulb. *Nat Neurosci* 6:507-518.
- Carleton A, Rochefort C, Morante-Oria J, Desmaisons D, Vincent JD, Gheusi G, Lledo PM (2002) Making scents of olfactory neurogenesis. *J Physiol Paris* 96:115-122.
- Carretero MI, Segovia S, Gomez F, Del Cerro MC (2003) Bicuculline infusion into the accessory olfactory bulb facilitates the induction of maternal behavior in rats. *Scand J Psychol* 44:273-277.
- Chabaud P, Ravel N, Wilson DA, Mouly AM, Vigouroux M, Farget V, Gervais R (2000) Exposure to behaviourally relevant odour reveals differential characteristics in rat central olfactory pathways as studied through oscillatory activities. *Chem Senses* 25:561-573.
- Champagne FA, Meaney MJ (2006) Stress during gestation alters postpartum maternal care and the development of the offspring in a rodent model. *Biol Psychiatry* 59:1227-1235.
- Changeux JP, Courrege P, Danchin A (1973) A theory of the epigenesis of neuronal networks by selective stabilization of synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 70:2974-2978.
- Changeux JP, Danchin A (1976) Selective stabilisation of developing synapses as a mechanism for the specification of neuronal networks. *Nature* 264:705-712.
- Chazal G, Durbec P, Jankovski A, Rougon G, Cremer H (2000) Consequences of neural cell adhesion molecule deficiency on cell migration in the rostral migratory stream of the mouse. *J Neurosci* 20:1446-1457.
- Chung HJ, Reyes AB, Watanabe K, Tomogane H, Wakasugi N (1997) Embryonic abnormality caused by male pheromonal effect in pregnancy block in mice. *Biol Reprod* 57:312-319.
- Conover JC, Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Gale NW, Yancopoulos GD, Alvarez-Buylla A (2000) Disruption of Eph/ephrin signaling affects migration and proliferation in the adult subventricular zone. *Nat Neurosci* 3:1091-1097.
- Corotto FS, Henegar JR, Maruniak JA (1994) Odor deprivation leads to reduced neurogenesis and reduced neuronal survival in the olfactory bulb of the adult mouse. *Neuroscience* 61:739-744.
- Cremer H, Lange R, Christoph A, Plomann M, Vopper G, Roes J, Brown R, Baldwin S, Kraemer P, Scheff S, . (1994) Inactivation of the N-CAM gene in mice results in size reduction of the olfactory bulb and deficits in spatial learning. *Nature* 367:455-459.
- Curtis MA, Kam M, Nannmark U, Anderson MF, Axell MZ, Wikkelso C, Holtas S, van Roon-Mom WM, Bjork-Eriksson T, Nordborg C, Frisen J, Dragunow M, Faull RL, Eriksson PS (2007) Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension. *Science* 315:1243-1249.
- Da Costa AP, Broad KD, Kendrick KM (1997) Olfactory memory and maternal behaviour-induced changes in c-fos and zif/268 mRNA expression in the sheep brain. *Brain Res Mol Brain Res* 46:63-76.
- de Chevigny A, Lemasson M, Saghatelian A, Sibbe M, Schachner M, Lledo PM (2006) Delayed onset of odor detection in neonatal mice lacking tenascin-C. *Mol Cell Neurosci* 32:174-186.
- De Marchis S, Bovetti S, Carletti B, Hsieh YC, Garzotto D, Peretto P, Fasolo A, Puche AC, Rossi F (2007) Generation of distinct types of periglomerular olfactory bulb interneurons during development and in adult mice: implication for intrinsic properties of the subventricular zone progenitor population. *J Neurosci* 27:657-664.

- Dickinson C, Keverne EB (1988) Importance of noradrenergic mechanisms in the olfactory bulbs for the maternal behaviour of mice. *Physiol Behav* 43:313-316.
- Dluzen DE, Muraoka S, Engelmann M, Ebner K, Landgraf R (2000) Oxytocin induces preservation of social recognition in male rats by activating alpha-adrenoceptors of the olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 12:760-766.
- Doetsch F, Caille I, Lim DA, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A (1999a) Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 97:703-716.
- Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A (1997) Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. *J Neurosci* 17:5046-5061.
- Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A (1999b) Regeneration of a germinal layer in the adult mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:11619-11624.
- Doetsch F, Hen R (2005) Young and excitable: the function of new neurons in the adult mammalian brain. *Curr Opin Neurobiol* 15:121-128.
- Dorries KM, Adkins-Regan E, Halpern BP (1997) Sensitivity and behavioral responses to the pheromone androstenone are not mediated by the vomeronasal organ in domestic pigs. *Brain Behav Evol* 49:53-62.
- Doty RL (2001) Olfaction. *Annu Rev Psychol* 52:423-452.
- Dulac C, Wagner S (2006) Genetic analysis of brain circuits underlying pheromone signaling. *Annu Rev Genet* 40:449-467.
- Dunbar RIM (1998) The social brain hypothesis. *Evolutionary Anthropology* 6:178-90.
- Dupret D, Fabre A, Dobrossy MD, Panatier A, Rodriguez JJ, Lamarque S, Lemaire V, Olier SH, Piazza PV, Abrous DN (2007) Spatial learning depends on both the addition and removal of new hippocampal neurons. *PLoS Biol* 5:e214.
- Edwards DA, Burge KG (1973) Olfactory control of the sexual behavior of male and female mice. *Physiol Behav* 11:867-872.
- Egger V, Urban NN (2006) Dynamic connectivity in the mitral cell-granule cell microcircuit. *Semin Cell Dev Biol* 17:424-432.
- Eichenbaum H, Fagan A, Mathews P, Cohen NJ (1988) Hippocampal system dysfunction and odor discrimination learning in rats: impairment or facilitation depending on representational demands. *Behav Neurosci* 102:331-339.
- Ennis M, Zhou FM, Ciombor KJ, Aroniadou-Anderjaska V, Hayar A, Borrelli E, Zimmer LA, Margolis F, Shipley MT (2001) Dopamine D2 receptor-mediated presynaptic inhibition of olfactory nerve terminals. *J Neurophysiol* 86:2986-2997.
- Enwere E, Shingo T, Gregg C, Fujikawa H, Ohta S, Weiss S (2004) Aging results in reduced epidermal growth factor receptor signaling, diminished olfactory neurogenesis, and deficits in fine olfactory discrimination. *J Neurosci* 24:8354-8365.
- Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH (1998) Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4:1313-1317.
- Eyre MD, Antal M, Nusser Z (2008) Distinct deep short-axon cell subtypes of the main olfactory bulb provide novel intrabulbar and extrabulbar GABAergic connections. *J Neurosci* 28:8217-8229.

- Ferguson JN, Aldag JM, Insel TR, Young LJ (2001) Oxytocin in the medial amygdala is essential for social recognition in the mouse. *J Neurosci* 21:8278-8285.
- Firestein S (2004) A code in the nose. *Sci STKE* 2004:e15.
- Fleming A, Vaccarino F, Tambosso L, Chee P (1979) Vomeronasal and olfactory system modulation of maternal behavior in the rat. *Science* 203:372-374.
- Fleming AS, Corter C, Franks P, Surbey M, Schneider B, Steiner M (1993) Postpartum factors related to mother's attraction to newborn infant odors. *Dev Psychobiol* 26:115-132.
- Fleming AS, Gavarth K, Sarker J (1992) Effects of transections to the vomeronasal nerves or to the main olfactory bulbs on the initiation and long-term retention of maternal behavior in primiparous rats. *Behav Neural Biol* 57:177-188.
- Fleming AS, O'Day DH, Kraemer GW (1999) Neurobiology of mother-infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. *Neurosci Biobehav Rev* 23:673-685.
- Fleming AS, Rosenblatt JS (1974) Olfactory regulation of maternal behavior in rats. I. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and cycling females. *J Comp Physiol Psychol* 86:221-232.
- Furuta M, Bridges RS (2005) Gestation-induced cell proliferation in the rat brain. *Brain Res Dev Brain Res* 156:61-66.
- Gage FH (2000) Mammalian neural stem cells. *Science* 287:1433-1438.
- Gaillard I, Rouquier S, Giorgi D (2004) Olfactory receptors. *Cell Mol Life Sci* 61:456-469.
- Gardner CR, Phillips SW (1977) The influence of the amygdala on the basal septum and preoptic area of the rat. *Exp Brain Res* 29:249-263.
- Gascon E, Vutskits L, Jenny B, Durbec P, Kiss JZ (2007) PSA-NCAM in postnatally generated immature neurons of the olfactory bulb: a crucial role in regulating p75 expression and cell survival. *Development* 134:1181-1190.
- Gatewood JD, Morgan MD, Eaton M, McNamara IM, Stevens LF, Macbeth AH, Meyer EA, Lomas LM, Kozub FJ, Lambert KG, Kinsley CH (2005) Motherhood mitigates aging-related decrements in learning and memory and positively affects brain aging in the rat. *Brain Res Bull* 66:91-98.
- Gheusi G, Cremer H, McLean H, Chazal G, Vincent JD, Lledo PM (2000) Importance of newly generated neurons in the adult olfactory bulb for odor discrimination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:1823-1828.
- Gheusi G, Lledo PM (2007) Control of early events in olfactory processing by adult neurogenesis. *Chem Senses* 32:397-409.
- Gheusi G, Ortega-Perez I, Murray K, Lledo PM (2009) A niche for adult neurogenesis in social behavior. *Behav Brain Res* 200:315-322.
- Giachino C, Galbiati M, Fasolo A, Peretto P, Melcangi R (2003) Neurogenesis in the subependymal layer of the adult rat: a role for neuroactive derivatives of progesterone. *Ann N Y Acad Sci* 1007:335-339.
- Goldman SA, Nottebohm F (1983) Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80:2390-2394.



- Goldstone RL (1998) Perceptual learning. *Annu Rev Psychol* 49:585-612.
- Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ (1999a) Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci* 2:260-265.
- Gould E, Reeves AJ, Fallah M, Tanapat P, Gross CG, Fuchs E (1999b) Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:5263-5267.
- Granger R, Lynch G (1991) Higher olfactory processes: perceptual learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 1:209-214.
- Gray CM (1999) The temporal correlation hypothesis of visual feature integration: still alive and well. *Neuron* 24:31-25.
- Gray CM, Skinner JE (1988) Field potential response changes in the rabbit olfactory bulb accompany behavioral habituation during the repeated presentation of unreinforced odors. *Exp Brain Res* 73:189-197.
- Gritti A, Bonfanti L, Doetsch F, Caille I, Alvarez-Buylla A, Lim DA, Galli R, Verdugo JM, Herrera DG, Vescovi AL (2002) Multipotent neural stem cells reside into the rostral extension and olfactory bulb of adult rodents. *J Neurosci* 22:437-445.
- Grubb MS, Nissant A, Murray K, Lledo PM (2008) Functional maturation of the first synapse in olfaction: development and adult neurogenesis. *J Neurosci* 28:2919-2932.
- Haberly LB (2001) Parallel-distributed processing in olfactory cortex: new insights from morphological and physiological analysis of neuronal circuitry. *Chem Senses* 26:551-576.
- Haberly LB, Price JL (1977) The axonal projection patterns of the mitral and tufted cells of the olfactory bulb in the rat. *Brain Res* 129:152-157.
- Hack I, Bancila M, Loulier K, Carroll P, Cremer H (2002) Reelin is a detachment signal in tangential chain-migration during postnatal neurogenesis. *Nat Neurosci* 5:939-945.
- Hack MA, Saghatelian A, de Chevigny A, Pfeifer A, Ashery-Padan R, Lledo PM, Gotz M (2005) Neuronal fate determinants of adult olfactory bulb neurogenesis. *Nat Neurosci* 8:865-872.
- Hayar A, Heyward PM, Heinbockel T, Shipley MT, Ennis M (2001) Direct excitation of mitral cells via activation of alpha1-noradrenergic receptors in rat olfactory bulb slices. *J Neurophysiol* 86:2173-2182.
- Hebb AL, Zacharko RM, Gauthier M, Trudel F, Laforest S, Drolet G (2004) Brief exposure to predator odor and resultant anxiety enhances mesocorticolimbic activity and enkephalin expression in CD-1 mice. *Eur J Neurosci* 20:2415-2429.
- Henegar JR, Maruniak JA (1991) Quantification of the effects of long-term unilateral naris closure on the olfactory bulbs of adult mice. *Brain Res* 568:230-234.
- Hitoshi S, Maruta N, Higashi M, Kumar A, Kato N, Ikenaka K (2007) Antidepressant drugs reverse the loss of adult neural stem cells following chronic stress. *J Neurosci Res* 85:3574-3585.
- Hsia AY, Vincent JD, Lledo PM (1999) Dopamine depresses synaptic inputs into the olfactory bulb. *J Neurophysiol* 82:1082-1085.
- Hu H (2000) Polysialic acid regulates chain formation by migrating olfactory interneuron precursors. *J Neurosci Res* 61:480-492.

- Hu H, Tomasiewicz H, Magnuson T, Rutishauser U (1996) The role of polysialic acid in migration of olfactory bulb interneuron precursors in the subventricular zone. *Neuron* 16:735-743.
- Huang L, Bittman EL (2002) Olfactory bulb cells generated in adult male golden hamsters are specifically activated by exposure to estrous females. *Horm Behav* 41:343-350.
- Imai T, Sakano H (2007) Roles of odorant receptors in projecting axons in the mouse olfactory system. *Curr Opin Neurobiol* 17:507-515.
- Imayoshi I, Sakamoto M, Ohtsuka T, Takao K, Miyakawa T, Yamaguchi M, Mori K, Ikeda T, Itohara S, Kageyama R (2008) Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neurosci* 11:1153-1161.
- Jahr CE, Nicoll RA (1982) Noradrenergic modulation of dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb. *Nature* 297:227-229.
- Jankovski A, Sotelo C (1996) Subventricular zone-olfactory bulb migratory pathway in the adult mouse: cellular composition and specificity as determined by heterochronic and heterotopic transplantation. *J Comp Neurol* 371:376-396.
- Jirik-Babb P, Manaker S, Tucker AM, Hofer MA (1984) The role of the accessory and main olfactory systems in maternal behavior of the primiparous rat. *Behav Neural Biol* 40:170-178.
- KARLSON P, LUSCHER M (1959) Pheromones: a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183:55-56.
- Kaut KP, Bunsey MD (2001) The effects of lesions to the rat hippocampus or rhinal cortex on olfactory and spatial memory: retrograde and anterograde findings. *Cogn Affect Behav Neurosci* 1:270-286.
- Kee N, Teixeira CM, Wang AH, Frankland PW (2007) Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. *Nat Neurosci* 10:355-362.
- Keller M, Douhard Q, Baum MJ, Bakker J (2006a) Destruction of the main olfactory epithelium reduces female sexual behavior and olfactory investigation in female mice. *Chem Senses* 31:315-323.
- Keller M, Douhard Q, Baum MJ, Bakker J (2006b) Sexual experience does not compensate for the disruptive effects of zinc sulfate-lesioning of the main olfactory epithelium on sexual behavior in male mice. *Chem Senses* 31:753-762.
- Keller M, Meurisse M, Levy F (2004) Mapping the neural substrates involved in maternal responsiveness and lamb olfactory memory in parturient ewes using Fos imaging. *Behav Neurosci* 118:1274-1284.
- Keller M, Meurisse M, Levy F (2005) Mapping of brain networks involved in consolidation of lamb recognition memory. *Neuroscience* 133:359-369.
- Keller M, Pierman S, Douhard Q, Baum MJ, Bakker J (2006c) The vomeronasal organ is required for the expression of lordosis behaviour, but not sex discrimination in female mice. *Eur J Neurosci* 23:521-530.
- Kelsch W, Lin CW, Lois C (2008) Sequential development of synapses in dendritic domains during adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:16803-16808.
- Kelsch W, Mosley CP, Lin CW, Lois C (2007) Distinct mammalian precursors are committed to generate neurons with defined dendritic projection patterns. *PLoS Biol* 5:e300.
- Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G (2004) Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* 27:447-452.

- Kendrick KM, Da Costa AP, Broad KD, Ohkura S, Guevara R, Levy F, Keverne EB (1997a) Neural control of maternal behaviour and olfactory recognition of offspring. *Brain Res Bull* 44:383-395.
- Kendrick KM, Guevara-Guzman R, Zorrilla J, Hinton MR, Broad KD, Mimmack M, Ohkura S (1997b) Formation of olfactory memories mediated by nitric oxide. *Nature* 388:670-674.
- Kendrick KM, Keverne EB, Baldwin BA, Sharman DF (1986) Cerebrospinal fluid levels of acetylcholinesterase, monoamines and oxytocin during labour, parturition, vaginocervical stimulation, lamb separation and suckling in sheep. *Neuroendocrinology* 44:149-156.
- Kendrick KM, Keverne EB, Hinton MR, Goode JA (1992a) Oxytocin, amino acid and monoamine release in the region of the medial preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis of the sheep during parturition and suckling. *Brain Res* 569:199-209.
- Kendrick KM, Levy F, Keverne EB (1991) Importance of vaginocervical stimulation for the formation of maternal bonding in primiparous and multiparous parturient ewes. *Physiol Behav* 50:595-600.
- Kendrick KM, Levy F, Keverne EB (1992b) Changes in the sensory processing of olfactory signals induced by birth in sheep. *Science* 256:833-836.
- Kendrick KM (1994) Neurobiological correlates of visual and olfactory recognition in sheep. *Behavioural Process* 33:89-111.
- Kiernan BW, Gotz B, Faissner A, French-Constant C (1996) Tenascin-C inhibits oligodendrocyte precursor cell migration by both adhesion-dependent and adhesion-independent mechanisms. *Mol Cell Neurosci* 7:322-335.
- Kim WR, Kim Y, Eun B, Park OH, Kim H, Kim K, Park CH, Vinsant S, Oppenheim RW, Sun W (2007) Impaired migration in the rostral migratory stream but spared olfactory function after the elimination of programmed cell death in Bax knock-out mice. *J Neurosci* 27:14392-14403.
- Kimchi T, Xu J, Dulac C (2007) A functional circuit underlying male sexual behaviour in the female mouse brain. *Nature* 448:1009-1014.
- Kinsley CH, Madonia L, Gifford GW, Tureski K, Griffin GR, Lowry C, Williams J, Collins J, McLearie H, Lambert KG (1999) Motherhood improves learning and memory. *Nature* 402:137-138.
- Kinsley CH, Trainer R, Stafisso-Sandoz G, Quadros P, Marcus LK, Hearon C, Meyer EA, Hester N, Morgan M, Kozub FJ, Lambert KG (2006) Motherhood and the hormones of pregnancy modify concentrations of hippocampal neuronal dendritic spines. *Horm Behav* 49:131-142.
- Knudson CM, Tung KS, Tourtellotte WG, Brown GA, Korsmeyer SJ (1995) Bax-deficient mice with lymphoid hyperplasia and male germ cell death. *Science* 270:96-99.
- Koehl M, Darnaudery M, Dulluc J, Van RO, Le MM, Maccari S (1999) Prenatal stress alters circadian activity of hypothalamo-pituitary-adrenal axis and hippocampal corticosteroid receptors in adult rats of both gender. *J Neurobiol* 40:302-315.
- Kohwi M, Osumi N, Rubenstein JL, Alvarez-Buylla A (2005) Pax6 is required for making specific subpopulations of granule and periglomerular neurons in the olfactory bulb. *J Neurosci* 25:6997-7003.
- Kohwi M, Petryniak MA, Long JE, Ekker M, Obata K, Yanagawa Y, Rubenstein JL, Alvarez-Buylla A (2007) A subpopulation of olfactory bulb GABAergic interneurons is derived from Emx1- and Dlx5/6-expressing progenitors. *J Neurosci* 27:6878-6891.

- Kolonie JM, Stern JM (1995) Maternal aggression in rats: effects of olfactory bulbectomy, ZnSO<sub>4</sub>-induced anosmia, and vomeronasal organ removal. *Horm Behav* 29:492-518.
- Koo JW, Duman RS (2008) IL-1 $\beta$  is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:751-756.
- Kornack DR, Rakic P (2001) The generation, migration, and differentiation of olfactory neurons in the adult primate brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:4752-4757.
- Kosaka K, Kosaka T (2005) synaptic organization of the glomerulus in the main olfactory bulb: compartments of the glomerulus and heterogeneity of the periglomerular cells. *Anat Sci Int* 80:80-90.
- Kristal MB, Graber GC (1976) Placentophagia in nonpregnant rats: influence of estrous cycle stage and birthplace. *Physiol Behav* 17:599-605.
- Larrazolo-Lopez A, Kendrick KM, Aburto-Arciniega M, Arriaga-Avila V, Morimoto S, Frias M, Guevara-Guzman R (2008) Vaginal stimulation enhances social recognition memory in rats via oxytocin release in the olfactory bulb. *Neuroscience* 152:585-593.
- Larsen CM, Kokay IC, Grattan DR (2008) Male pheromones initiate prolactin-induced neurogenesis and advance maternal behavior in female mice. *Horm Behav* 53:509-517.
- Lau WM, Qiu G, Helmeste DM, Lee TM, Tang SW, So KF, Tang SW (2007) Corticosteroid decreases subventricular zone cell proliferation, which could be reversed by paroxetine. *Restor Neurol Neurosci* 25:17-23.
- Lazarini F, Mouthon MA, Gheusi G, de CF, Olivo-Marin JC, Lamarque S, Abrous DN, Boussin FD, Lledo PM (2009) Cellular and behavioral effects of cranial irradiation of the subventricular zone in adult mice. *PLoS ONE* 4:e7017.
- Lemaire V, Billard JM, Dutar P, George O, Piazza PV, Epelbaum J, Le MM, Mayo W (2006) Motherhood-induced memory improvement persists across lifespan in rats but is abolished by a gestational stress. *Eur J Neurosci* 23:3368-3374.
- Lemaire V, Koehl M, Le MM, Abrous DN (2000) Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:11032-11037.
- Lepri JJ, Wysocki CJ, Vandenbergh JG (1985) Mouse vomeronasal organ: effects on chemosignal production and maternal behavior. *Physiol Behav* 35:809-814.
- Leuner B, Glasper ER, Gould E (2009) Thymidine analog methods for studies of adult neurogenesis are not equally sensitive. *J Comp Neurol* 517:123-133.
- Leuner B, Shors TJ (2006) Learning during motherhood: A resistance to stress. *Horm Behav* 50:38-51.
- Levy F., Poindron P (1984) The importance of amniotic fluids for the establishment of maternal behaviour in experienced and inexperienced ewes. *Animal Behaviour* 35:1188-1192.
- Levy F (2002) Neurobiological mechanisms involved in recognition of olfactory signature of the young in sheep. *J Soc Biol* 196:77-83.
- Levy F, Gervais R, Kindermann U, Orgeur P, Piketty V (1990) Importance of beta-noradrenergic receptors in the olfactory bulb of sheep for recognition of lambs. *Behav Neurosci* 104:464-469.

- Levy F, Guevara-Guzman R, Hinton MR, Kendrick KM, Keverne EB (1993) Effects of parturition and maternal experience on noradrenaline and acetylcholine release in the olfactory bulb of sheep. *Behav Neurosci* 107:662-668.
- Levy F, Keller M (2009) Olfactory mediation of maternal behavior in selected mammalian species. *Behav Brain Res* 200:336-345.
- Levy F, Keller M, Poindron P (2004) Olfactory regulation of maternal behavior in mammals. *Horm Behav* 46:284-302.
- Levy F, Kendrick KM, Goode JA, Guevara-Guzman R, Keverne EB (1995a) Oxytocin and vasopressin release in the olfactory bulb of parturient ewes: changes with maternal experience and effects on acetylcholine, gamma-aminobutyric acid, glutamate and noradrenaline release. *Brain Res* 669:197-206.
- Levy F, Kendrick KM, Keverne EB, Piketty V, Poindron P (1992) Intracerebral oxytocin is important for the onset of maternal behavior in inexperienced ewes delivered under peridural anesthesia. *Behav Neurosci* 106:427-432.
- Levy F, Locatelli A, Piketty V, Tillet Y, Poindron P (1995b) Involvement of the main but not the accessory olfactory system in maternal behavior of primiparous and multiparous ewes. *Physiol Behav* 57:97-104.
- Levy F, Poindron P, Le NP (1983) Attraction and repulsion by amniotic fluids and their olfactory control in the ewe around parturition. *Physiol Behav* 31:687-692.
- Leypold BG, Yu CR, Leinders-Zufall T, Kim MM, Zufall F, Axel R (2002) Altered sexual and social behaviors in *trp2* mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:6376-6381.
- Lim DA, Alvarez-Buylla A (1999) Interaction between astrocytes and adult subventricular zone precursors stimulates neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:7526-7531.
- Lim DA, Tramontin AD, Trevejo JM, Herrera DG, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A (2000) Noggin antagonizes BMP signaling to create a niche for adult neurogenesis. *Neuron* 28:713-726.
- Lin DY, Zhang SZ, Block E, Katz LC (2005) Encoding social signals in the mouse main olfactory bulb. *Nature* 434:470-477.
- Livneh Y, Feinstein N, Klein M, Mizrahi A (2009) Sensory input enhances synaptogenesis of adult-born neurons. *J Neurosci* 29:86-97.
- Lledo PM, Alonso M, Grubb MS (2006) Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nat Rev Neurosci* 7:179-193.
- Lloyd-Thomas A, Keverne EB (1982) Role of the brain and accessory olfactory system in the block to pregnancy in mice. *Neuroscience* 7:907-913.
- Lois C, Alvarez-Buylla A (1994) Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* 264:1145-1148.
- Lois C, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A (1996) Chain migration of neuronal precursors. *Science* 271:978-981.
- Luskin MB (1993) Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron* 11:173-189.

- Ma M (2007) Encoding olfactory signals via multiple chemosensory systems. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 42:463-480.
- Macrides F, Schneider SP (1982) Laminar organization of mitral and tufted cells in the main olfactory bulb of the adult hamster. *J Comp Neurol* 208:419-430.
- Magavi SS, Mitchell BD, Szentirmai O, Carter BS, Macklis JD (2005) Adult-born and preexisting olfactory granule neurons undergo distinct experience-dependent modifications of their olfactory responses in vivo. *J Neurosci* 25:10729-10739.
- Mak GK, Enwere EK, Gregg C, Pakarainen T, Poutanen M, Huhtaniemi I, Weiss S (2007) Male pheromone-stimulated neurogenesis in the adult female brain: possible role in mating behavior. *Nat Neurosci* 10:1003-1011.
- Malnic B, Hirono J, Sato T, Buck LB (1999) Combinatorial receptor codes for odors. *Cell* 96:713-723.
- Mandairon N, Didier A, Linster C (2008) Odor enrichment increases interneurons responsiveness in spatially defined regions of the olfactory bulb correlated with perception. *Neurobiol Learn Mem* 90:178-184.
- Mandairon N, Sacquet J, Garcia S, Ravel N, Jourdan F, Didier A (2006a) Neurogenic correlates of an olfactory discrimination task in the adult olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 24:3578-3588.
- Mandairon N, Sacquet J, Jourdan F, Didier A (2006b) Long-term fate and distribution of newborn cells in the adult mouse olfactory bulb: Influences of olfactory deprivation. *Neuroscience* 141:443-451.
- Mandiyani VS, Coats JK, Shah NM (2005) Deficits in sexual and aggressive behaviors in *Cnga2* mutant mice. *Nat Neurosci* 8:1660-1662.
- Marillat V, Cases O, Nguyen-Ba-Charvet KT, Tessier-Lavigne M, Sotelo C, Chedotal A (2002) Spatiotemporal expression patterns of slit and robo genes in the rat brain. *J Comp Neurol* 442:130-155.
- Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G, Wu C (2004) Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci* 5:793-807.
- Martin C, Beshel J, Kay LM (2007) An olfacto-hippocampal network is dynamically involved in odor-discrimination learning. *J Neurophysiol* 98:2196-2205.
- Matsutani S, Yamamoto N (2008) Centrifugal innervation of the mammalian olfactory bulb. *Anat Sci Int* 83:218-227.
- Mayford M, Abel T, Kandel ER (1995) Transgenic approaches to cognition. *Curr Opin Neurobiol* 5:141-148.
- McLean JH, Shipley MT (1991) Postnatal development of the noradrenergic projection from locus coeruleus to the olfactory bulb in the rat. *J Comp Neurol* 304:467-477.
- Meaney MJ (2001) Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annu Rev Neurosci* 24:1161-1192.
- Mechawar N, Saghatelian A, Grailhe R, Scoriels L, Gheusi G, Gabellec MM, Lledo PM, Changeux JP (2004) Nicotinic receptors regulate the survival of newborn neurons in the adult olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:9822-9826.
- Merkle FT, Mirzadeh Z, Alvarez-Buylla A (2007) Mosaic organization of neural stem cells in the adult brain. *Science* 317:381-384.

- Mineur YS, Belzung C, Crusio WE (2007) Functional implications of decreases in neurogenesis following chronic mild stress in mice. *Neuroscience* 150:251-259.
- Ming GL, Song H (2005) Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 28:223-250.
- Mirescu C, Peters JD, Gould E (2004) Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. *Nat Neurosci* 7:841-846.
- Miwa N, Storm DR (2005) Odorant-induced activation of extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase in the olfactory bulb promotes survival of newly formed granule cells. *J Neurosci* 25:5404-5412.
- Mizrahi A, Katz LC (2003) Dendritic stability in the adult olfactory bulb. *Nat Neurosci* 6:1201-1207.
- Moreno MM, Linster C, Escanilla O, Sacquet J, Didier A, Mandairon N (2009) Olfactory perceptual learning requires adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
- Morgan HD, Watchus JA, Milgram NW, Fleming AS (1999) The long lasting effects of electrical stimulation of the medial preoptic area and medial amygdala on maternal behavior in female rats. *Behav Brain Res* 99:61-73.
- Mori K, Nagao H, Yoshihara Y (1999) The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science* 286:711-715.
- Moriizumi T, Tsukatani T, Sakashita H, Miwa T (1994) Olfactory disturbance induced by deafferentation of serotonergic fibers in the olfactory bulb. *Neuroscience* 61:733-738.
- Mouret A, Gheusi G, Gabellec MM, de CF, Olivo-Marin JC, Lledo PM (2008) Learning and survival of newly generated neurons: when time matters. *J Neurosci* 28:11511-11516.
- Mouret A, Lepousez G, Gras J, Gabellec MM, Lledo PM (2009a) Turnover of newborn olfactory bulb neurons optimizes olfaction. *J Neurosci* 29:12302-12314.
- Mouret A, Murray K, Lledo PM (2009b) Centrifugal drive onto local inhibitory interneurons of the olfactory bulb. *Ann N Y Acad Sci* 1170:239-254.
- Murase S, Cho C, White JM, Horwitz AF (2008) ADAM2 promotes migration of neuroblasts in the rostral migratory stream to the olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 27:1585-1595.
- Murase S, Horwitz AF (2004) Directions in cell migration along the rostral migratory stream: the pathway for migration in the brain. *Curr Top Dev Biol* 61:135-152.
- Nagayama S, Takahashi YK, Yoshihara Y, Mori K (2004) Mitral and tufted cells differ in the decoding manner of odor maps in the rat olfactory bulb. *J Neurophysiol* 91:2532-2540.
- Neville KR, Haberly LB (2003) Beta and gamma oscillations in the olfactory system of the urethane-anesthetized rat. *J Neurophysiol* 90:3921-3930.
- Nguyen-Ba-Charvet KT, Picard-Riera N, Tessier-Lavigne M, Baron-Van Evercooren A, Sotelo C, Chedotal A (2004) Multiple roles for slits in the control of cell migration in the rostral migratory stream. *J Neurosci* 24:1497-1506.
- Nissant A, Bardy C, Katagiri H, Murray K, Lledo PM (2009) Adult neurogenesis promotes synaptic plasticity in the olfactory bulb. *Nat Neurosci* 12:728-730.

- Novak A, Guo C, Yang W, Nagy A, Lobe CG (2000) Z/EG, a double reporter mouse line that expresses enhanced green fluorescent protein upon Cre-mediated excision. *Genesis* 28:147-155.
- Numan M (2006) Hypothalamic neural circuits regulating maternal responsiveness toward infants. *Behav Cogn Neurosci Rev* 5:163-190.
- Nyby J, Kay E, Bean NJ, Dahinden Z, Kerchner M (1985) Male mouse (*Mus musculus*) attraction to airborne urinary odors of conspecifics and to food odors: Effects of food deprivation. *Journal of Comparative Psychology* 99:479-490.
- O'Rourke NA (1996) Neuronal chain gangs: homotypic contacts support migration into the olfactory bulb. *Neuron* 16:1061-1064.
- Ono K, Tomasiewicz H, Magnuson T, Rutishauser U (1994) N-CAM mutation inhibits tangential neuronal migration and is phenocopied by enzymatic removal of polysialic acid. *Neuron* 13:595-609.
- Oppenheim RW (1991) Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 14:453-501.
- Otto T, Schottler F, Staubli U, Eichenbaum H, Lynch G (1991) Hippocampus and olfactory discrimination learning: effects of entorhinal cortex lesions on olfactory learning and memory in a successive-cue, go-no-go task. *Behav Neurosci* 105:111-119.
- Pankevich DE, Baum MJ, Cherry JA (2004) Olfactory sex discrimination persists, whereas the preference for urinary odorants from estrous females disappears in male mice after vomeronasal organ removal. *J Neurosci* 24:9451-9457.
- Parras CM, Galli R, Britz O, Soares S, Galichet C, Battiste J, Johnson JE, Nakafuku M, Vescovi A, Guillemot F (2004) *Mash1* specifies neurons and oligodendrocytes in the postnatal brain. *EMBO J* 23:4495-4505.
- Pawluski JL, Galea LA (2006) Hippocampal morphology is differentially affected by reproductive experience in the mother. *J Neurobiol* 66:71-81.
- Peretto P, Merighi A, Fasolo A, Bonfanti L (1997) Glial tubes in the rostral migratory stream of the adult rat. *Brain Res Bull* 42:9-21.
- Petreau L, Alvarez-Buylla A (2002) Maturation and death of adult-born olfactory bulb granule neurons: role of olfaction. *J Neurosci* 22:6106-6113.
- Pissonnier D, Thiery JC, Fabre-Nys C, Poindron P, Keverne EB (1985) The importance of olfactory bulb noradrenalin for maternal recognition in sheep. *Physiol Behav* 35:361-363.
- Popik P, Vetulani J, Bisaga A, van Ree JM (1991) Recognition cue in the rat's social memory paradigm. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2:315-327.
- Porter RH (1998) Olfaction and human kin recognition. *Genetica* 104:259-263.
- Pressler RT, Strowbridge BW (2006) Blanes cells mediate persistent feedforward inhibition onto granule cells in the olfactory bulb. *Neuron* 49:889-904.
- Preti G, Wysocki CJ, Barnhart KT, Sondheimer SJ, Leyden JJ (2003) Male axillary extracts contain pheromones that affect pulsatile secretion of luteinizing hormone and mood in women recipients. *Biol Reprod* 68:2107-2113.



- Ramirez-Amaya V, Marrone DF, Gage FH, Worley PF, Barnes CA (2006) Integration of new neurons into functional neural networks. *J Neurosci* 26:12237-12241.
- Ramon y Cajal (1911) *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Paris:Maloine.
- Ravel N, Chabaud P, Martin C, Gaveau V, Hugues E, Tallon-Baudry C, Bertrand O, Gervais R (2003) Olfactory learning modifies the expression of odour-induced oscillatory responses in the gamma (60-90 Hz) and beta (15-40 Hz) bands in the rat olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 17:350-358.
- Ravel N, Elaagouby A, Gervais R (1994) Scopolamine injection into the olfactory bulb impairs short-term olfactory memory in rats. *Behav Neurosci* 108:317-324.
- Restrepo D, Lin W, Salcedo E, Yamazaki K, Beauchamp G (2006) Odortypes and MHC peptides: Complementary chemosignals of MHC haplotype? *Trends Neurosci* 29:604-609.
- Ribak CE, Vaughn JE, Saito K, Barber R, Roberts E (1977) Glutamate decarboxylase localization in neurons of the olfactory bulb. *Brain Res* 126:1-18.
- Richter K, Wolf G, Engelmann M (2005) Social recognition memory requires two stages of protein synthesis in mice. *Learn Mem* 12:407-413.
- Rochefort C, Gheusi G, Vincent JD, Lledo PM (2002) Enriched odor exposure increases the number of newborn neurons in the adult olfactory bulb and improves odor memory. *J Neurosci* 22:2679-2689.
- Rochefort C, Lledo PM (2005) Short-term survival of newborn neurons in the adult olfactory bulb after exposure to a complex odor environment. *Eur J Neurosci* 22:2863-2870.
- Rolls ET (2004) The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain Cogn* 55:11-29.
- Romero-Grimaldi C, Gheusi G, Lledo PM, Estrada C (2006) Chronic inhibition of nitric oxide synthesis enhances both subventricular zone neurogenesis and olfactory learning in adult mice. *Eur J Neurosci* 24:2461-2470.
- Romeyer A, Poindron P, Orgeur P (1994) Olfaction mediates the establishment of selective bonding in goats. *Physiol Behav* 56:693-700.
- Saghatelian A, Carleton A, Lagier S, de Chevigny A, Lledo PM (2003) Local neurons play key roles in the mammalian olfactory bulb. *J Physiol Paris* 97:517-528.
- Saghatelian A, de Chevigny A, Schachner M, Lledo PM (2004) Tenascin-R mediates activity-dependent recruitment of neuroblasts in the adult mouse forebrain. *Nat Neurosci* 7:347-356.
- Saghatelian A, Roux P, Migliore M, Rochefort C, Desmaisons D, Charneau P, Shepherd GM, Lledo PM (2005) Activity-dependent adjustments of the inhibitory network in the olfactory bulb following early postnatal deprivation. *Neuron* 46:103-116.
- Sanai N, Tramontin AD, Quinones-Hinojosa A, Barbaro NM, Gupta N, Kunwar S, Lawton MT, McDermott MW, Parsa AT, Manuel-Garcia VJ, Berger MS, Alvarez-Buylla A (2004) Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature* 427:740-744.
- Sanchez-Andrade G, Kendrick KM (2009) The main olfactory system and social learning in mammals. *Behav Brain Res* 200:323-335.
- Sawamoto K, Wichterle H, Gonzalez-Perez O, Cholfin JA, Yamada M, Spassky N, Murcia NS, Garcia-Verdugo JM, Marin O, Rubenstein JL, Tessier-Lavigne M, Okano H, Alvarez-Buylla A (2006) New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. *Science* 311:629-632.

- Schaal B, Coureaud G, Langlois D, Ginies C, Semon E, Perrier G (2003) Chemical and behavioural characterization of the rabbit mammary pheromone. *Nature* 424:68-72.
- Schneider SP, Macrides F (1978) Laminar distributions of interneurons in the main olfactory bulb of the adult hamster. *Brain Res Bull* 3:73-82.
- Schoenfeld TA, Macrides F (1984) Topographic organization of connections between the main olfactory bulb and pars externa of the anterior olfactory nucleus in the hamster. *J Comp Neurol* 227:121-135.
- Scott JW, McBride RL, Schneider SP (1980) The organization of projections from the olfactory bulb to the piriform cortex and olfactory tubercle in the rat. *J Comp Neurol* 194:519-534.
- Seegal RF, Denenberg VH (1974) Maternal experience prevents pup-killing in mice induced by peripheral anosmia. *Physiol Behav* 13:339-341.
- Serguera C, Triaca V, Kelly-Barrett J, Banachaabouchi MA, Minichiello L (2008) Increased dopamine after mating impairs olfaction and prevents odor interference with pregnancy. *Nat Neurosci* 11:949-956.
- Shepherd GM, Chen WR, Willhite D, Migliore M, Greer CA (2007) The olfactory granule cell: from classical enigma to central role in olfactory processing. *Brain Res Rev* 55:373-382.
- Shingo T, Gregg C, Enwere E, Fujikawa H, Hassam R, Geary C, Cross JC, Weiss S (2003) Pregnancy-stimulated neurogenesis in the adult female forebrain mediated by prolactin. *Science* 299:117-120.
- Shiple MT, Ennis M (1996) Functional organization of olfactory system. *J Neurobiol* 30:123-176.
- Shiple MT, Halloran FJ, de la Torre J (1985) Surprisingly rich projection from locus coeruleus to the olfactory bulb in the rat. *Brain Res* 329:294-299.
- Slotnick B (2001) Animal cognition and the rat olfactory system. *Trends Cogn Sci* 5:216-222.
- Smith FV, Van-Toller C, Boyes T (1966) The "critical period" in the attachment of lambs and ewes. *Anim Behav* 14:120-125.
- Smith JW, Seckl JR, Evans AT, Costall B, Smythe JW (2004) Gestational stress induces post-partum depression-like behaviour and alters maternal care in rats. *Psychoneuroendocrinology* 29:227-244.
- Smith MT, Pencea V, Wang Z, Luskin MB, Insel TR (2001) Increased number of BrdU-labeled neurons in the rostral migratory stream of the estrous prairie vole. *Horm Behav* 39:11-21.
- Smith TD, Siegel MI, Burrows AM, Mooney MP, Burdi AR, Fabrizio PA, Clemente FR (1998) Searching for the vomeronasal organ of adult humans: preliminary findings on location, structure, and size. *Microsc Res Tech* 41:483-491.
- Solecki DJ, Govek EE, Tomoda T, Hatten ME (2006) Neuronal polarity in CNS development. *Genes Dev* 20:2639-2647.
- Spehr M, Spehr J, Ukhanov K, Kelliher KR, Leinders-Zufall T, Zufall F (2006) Parallel processing of social signals by the mammalian main and accessory olfactory systems. *Cell Mol Life Sci* 63:1476-1484.
- Staubli U, Ivy G, Lynch G (1984) Hippocampal denervation causes rapid forgetting of olfactory information in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81:5885-5887.
- Staubli U, Schottler F, Nejat-Bina D (1987) Role of dorsomedial thalamic nucleus and piriform cortex in processing olfactory information. *Behav Brain Res* 25:117-129.

- Stenman J, Toresson H, Campbell K (2003a) Identification of two distinct progenitor populations in the lateral ganglionic eminence: implications for striatal and olfactory bulb neurogenesis. *J Neurosci* 23:167-174.
- Stenman J, Toresson H, Campbell K (2003b) Identification of two distinct progenitor populations in the lateral ganglionic eminence: implications for striatal and olfactory bulb neurogenesis. *J Neurosci* 23:167-174.
- Stern K, McClintock MK (1998) Regulation of ovulation by human pheromones. *Nature* 392:177-179.
- Stowers L, Holy TE, Meister M, Dulac C, Koentges G (2002) Loss of sex discrimination and male-male aggression in mice deficient for TRP2. *Science* 295:1493-1500.
- Sullivan RM, Wilson DA (2003) Molecular biology of early olfactory memory. *Learn Mem* 10:1-4.
- Swaney WT, Keverne EB (2009) The evolution of pheromonal communication. *Behav Brain Res* 200:239-247.
- Tashiro A, Makino H, Gage FH (2007) Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. *J Neurosci* 27:3252-3259.
- Thanos PK, Slotnick BM (1997) Short-term odor memory: effects of posterior transection of the lateral olfactory tract in the rat. *Physiol Behav* 61:903-906.
- Theodosis DT, Poulain DA (2001) Maternity leads to morphological synaptic plasticity in the oxytocin system. *Prog Brain Res* 133:49-58.
- Thompson ML, Edwards DA (1972) Olfactory bulb ablation and hormonally induced mating in spayed female mice. *Physiol Behav* 8:1141-1146.
- Toida K (2008) Synaptic organization of the olfactory bulb based on chemical coding of neurons. *Anat Sci Int* 83:207-217.
- Tomasiewicz H, Ono K, Yee D, Thompson C, Goridis C, Rutishauser U, Magnuson T (1993) Genetic deletion of a neural cell adhesion molecule variant (N-CAM-180) produces distinct defects in the central nervous system. *Neuron* 11:1163-1174.
- Tomizawa K, Iga N, Lu YF, Moriwaki A, Matsushita M, Li ST, Miyamoto O, Itano T, Matsui H (2003) Oxytocin improves long-lasting spatial memory during motherhood through MAP kinase cascade. *Nat Neurosci* 6:384-390.
- Trinh K, Storm DR (2003) Vomeronasal organ detects odorants in absence of signaling through main olfactory epithelium. *Nat Neurosci* 6:519-525.
- Trombley PQ, Shepherd GM (1992) Noradrenergic inhibition of synaptic transmission between mitral and granule cells in mammalian olfactory bulb cultures. *J Neurosci* 12:3985-3991.
- Trouche S, Bontempi B, Roullet P, Rampon C (2009) Recruitment of adult-generated neurons into functional hippocampal networks contributes to updating and strengthening of spatial memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:5919-5924.
- Vandenbergh JG (1973) Effects of central and peripheral anosmia on reproduction of female mice. *Physiol Behav* 10:257-261.
- Ventura RE, Goldman JE (2007) Dorsal radial glia generate olfactory bulb interneurons in the postnatal murine brain. *J Neurosci* 27:4297-4302.

- Veyrac A, Sacquet J, Nguyen V, Marien M, Jourdan F, Didier A (2009) Novelty determines the effects of olfactory enrichment on memory and neurogenesis through noradrenergic mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 34:786-795.
- Waclaw RR, Allen ZJ, Bell SM, Erdelyi F, Szabo G, Potter SS, Campbell K (2006) The zinc finger transcription factor Sp8 regulates the generation and diversity of olfactory bulb interneurons. *Neuron* 49:503-516.
- Weinstock M (2008) The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci Biobehav Rev* 32:1073-1086.
- Whitman MC, Greer CA (2007a) Adult-generated neurons exhibit diverse developmental fates. *Dev Neurobiol* 67:1079-1093.
- Whitman MC, Greer CA (2007b) Synaptic integration of adult-generated olfactory bulb granule cells: basal axodendritic centrifugal input precedes apical dendrodendritic local circuits. *J Neurosci* 27:9951-9961.
- Whitman MC, Greer CA (2009) Adult neurogenesis and the olfactory system. *Prog Neurobiol* 89:162-175.
- Wichterle H, Turnbull DH, Nery S, Fishell G, Alvarez-Buylla A (2001) In utero fate mapping reveals distinct migratory pathways and fates of neurons born in the mammalian basal forebrain. *Development* 128:3759-3771.
- Wilson DA (2001) Receptive fields in the rat piriform cortex. *Chem Senses* 26:577-584.
- Wilson DA, Best AR, Sullivan RM (2004) Plasticity in the olfactory system: lessons for the neurobiology of memory. *Neuroscientist* 10:513-524.
- Wilson DA, Stevenson RJ (2003) Olfactory perceptual learning: the critical role of memory in odor discrimination. *Neurosci Biobehav Rev* 27:307-328.
- Wilson RI, Mainen ZF (2006) Early events in olfactory processing. *Annu Rev Neurosci* 29:163-201.
- Winner B, Cooper-Kuhn CM, Aigner R, Winkler J, Kuhn HG (2002) Long-term survival and cell death of newly generated neurons in the adult rat olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 16:1681-1689.
- Wu W, Wong K, Chen J, Jiang Z, Dupuis S, Wu JY, Rao Y (1999) Directional guidance of neuronal migration in the olfactory system by the protein Slit. *Nature* 400:331-336.
- Xu F, Schaefer M, Kida I, Schaefer J, Liu N, Rothman DL, Hyder F, Restrepo D, Shepherd GM (2005) Simultaneous activation of mouse main and accessory olfactory bulbs by odors or pheromones. *J Comp Neurol* 489:491-500.
- Yamaguchi M, Mori K (2005) Critical period for sensory experience-dependent survival of newly generated granule cells in the adult mouse olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:9697-9702.
- Yamazaki K, Beauchamp GK, Curran M, Bard J, Boyse EA (2000) Parent-progeny recognition as a function of MHC odortype identity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:10500-10502.
- Yamazaki K, Beauchamp GK, Imai Y, Bard J, Boyse EA (1992) Expression of urinary H-2 odortypes by infant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:2756-2758.

Yamazaki K, Boyse EA, Mike V, Thaler HT, Mathieson BJ, Abbott J, Boyse J, Zayas ZA, Thomas L (1976) Control of mating preferences in mice by genes in the major histocompatibility complex. *J Exp Med* 144:1324-1335.

Yoon H, Enquist LW, Dulac C (2005) Olfactory inputs to hypothalamic neurons controlling reproduction and fertility. *Cell* 123:669-682.

Yoshihara S, Omichi K, Yanazawa M, Kitamura K, Yoshihara Y (2005) *Arx* homeobox gene is essential for development of mouse olfactory system. *Development* 132:751-762.

Young KM, Fogarty M, Kessaris N, Richardson WD (2007) Subventricular zone stem cells are heterogeneous with respect to their embryonic origins and neurogenic fates in the adult olfactory bulb. *J Neurosci* 27:8286-8296.

Yuan Q, Harley CW, McLean JH (2003) Mitral cell beta1 and 5-HT2A receptor colocalization and cAMP coregulation: a new model of norepinephrine-induced learning in the olfactory bulb. *Learn Mem* 10:5-15.

Zou Z, Horowitz LF, Montmayeur JP, Snapper S, Buck LB (2001) Genetic tracing reveals a stereotyped sensory map in the olfactory cortex. *Nature* 414:173-179.