

## Génétique et physiologie cellulaire

M<sup>me</sup> Christine PETIT, membre de l'Institut  
(Académie des Sciences), professeure

### TRAITEMENT DES SIGNAUX ACOUSTIQUES : DE LA CELLULE SENSORIELLE AUDITIVE AU COMPLEXE OLIVAIRE SUPÉRIEUR

Le cours de l'année 2008 a présenté les avancées réalisées sur la transduction mécano-électrique auditive depuis 2002, date du précédent cours, suivies d'une introduction au cours de l'année 2009, qui portera sur la localisation de la source sonore.

Les quatre cours ont traité des questions suivantes :

1<sup>er</sup> cours : faut-il repenser l'amplificateur cochléaire ?

2<sup>e</sup> cours : la transduction mécano-électrique : données physiologiques et moléculaires récentes ;

3<sup>e</sup> cours : l'environnement moléculaire de la transduction mécano-électrique, les fonctions de transfert (*a*) dépolarisation membranaire-exocytose synaptique et (*b*) exocytose synaptique-stimulation des neurones auditifs ;

4<sup>e</sup> cours : éléments du traitement du signal sonore par les neurones auditifs du ganglion cochléaire et des neurones des noyaux auditifs du tronc cérébral.

#### **1<sup>er</sup> cours : Faut-il repenser l'amplificateur cochléaire ?**

Le cours a débuté par un rappel des caractéristiques physiques du son, son pur et son complexe : hauteur du son (fréquence : notion introduite par Galilée, *définition de la fréquence caractéristique d'une corde vibrante* ou fréquence fondamentale, et de ses harmoniques ou multiples entiers de la fréquence fondamentale), et intensité sonore (amplitude) avec pour unité de mesure, le décibel (dB) (en référence à Graham Bell). A ces grandeurs physiques qui caractérisent la source sonore, s'ajoutent celles de la perception définies par la

psychophysique et la psychoacoustique : tonie (sensation de la hauteur sonore, qui n'est pas la simple traduction de la fréquence sonore ; s'y rapporte le *pitch* anglo-saxon, que certaines définitions restreignent cependant à la sensation de hauteur pour des sons mélodiques, musique, prosodie et langues tonales), sonie (perception de l'intensité sonore ; *loudness* en anglais) et timbre (perception sonore qui s'appuie sur le spectre fréquentiel, l'amplitude de chaque composante fréquentielle, et les caractéristiques temporelles des sons, temps d'installation de l'amplitude de l'enveloppe sonore, par exemple (McAdams et al, 1995).

L'histoire du décibel est intimement liée à celle du téléphone. L'introduction du décibel répondait à la nécessité de disposer d'une mesure de la baisse de la puissance du son véhiculé par les câbles du téléphone. Son expression logarithmique repose sur la perception sensorielle, et « sa loi », connue sous le nom de loi de Fechner ou Weber-Fechner, selon laquelle la sensation d'intensité du son varie proportionnellement avec le logarithme de l'intensité sonore physique, exprimée en watts/m<sup>2</sup> ( $R = C \log(S)$ , relation dans laquelle R représente la sensation d'intensité sonore, S l'intensité du son et C une constante). Le décibel correspond approximativement au plus petit changement d'intensité sonore qu'un individu peut percevoir. Le décibel (dB) est un nombre sans dimension. L'intensité d'un son « IL » ( $IL = \textit{intensity level}$ ) s'exprime en dB par la relation  $IL = 10 \log_{10}(I/I_r)$  dB, soit le logarithme décimal du rapport de l'intensité du son, I (en watts/m<sup>2</sup>), à celle d'un son de référence, I<sub>r</sub> (le facteur 10 traduisant l'expression en dB et non en Bel). En raison de la relation  $I = p^2/Z_c$  (où Z<sub>c</sub> est l'impédance caractéristique), la pression p, d'un son « SPL » ( $SPL = \textit{sound pressure level}$ ) en dB est donnée par,  $SPL = 10 \log_{10}(p/p_r)^2 = 20 \log_{10}(p/p_r)$ , soit le logarithme décimal du rapport de la pression du son incident, p (en newtons/m<sup>2</sup> ou pascal : 1 N/m<sup>2</sup> = 1 pascal (Pa)), à celle du son de référence, p<sub>r</sub>. Le son de référence a une intensité, I<sub>r</sub>, de 10<sup>-12</sup> W/m<sup>2</sup>, et une pression, p<sub>r</sub>, de 2 · 10<sup>-5</sup> N/m<sup>2</sup> (20 µPa ou 2 · 10<sup>-5</sup> Pa). Il correspond à la plus petite intensité (et pression) décelée par l'oreille humaine, soit 0 dB (l'intensité du mouvement brownien est de -20 dB). Pour un son donné, les valeurs en dB IL et en dB SPL sont identiques. L'élévation d'un seuil de perception auditive de 60 dB correspond au fait que la pression seuil perçue est 10<sup>3</sup> fois supérieure à la pression de référence et l'intensité seuil perçue est 10<sup>6</sup> fois l'intensité de référence; une variation de 20 dB correspond à une variation d'un ordre de grandeur de la pression acoustique et de deux ordres de grandeur de l'intensité acoustique. En clinique, on utilise le décibel « hearing level » HL, rapport du seuil de pression auditive observé chez le patient à celui d'un individu dont l'audition est normale.

Il a été rappelé que le milieu affecte la vitesse de propagation et l'intensité du son qui le traverse, mais ne modifie pas sa fréquence. La densité du milieu (ρ) et son module d'élasticité (κ) (changement de la pression d'un milieu sous l'effet d'une force qui lui est appliquée, ou rigidité) modifient la vitesse de propagation (c) du son, en raison de la relation  $c = (\kappa/\rho)^{1/2}$ . Plus le module d'élasticité est élevé, plus le son se propage vite ; plus la densité du milieu est élevée, moins le son se propage rapidement. Cependant, le son se propage plus vite dans l'eau que dans l'air car le

module d'élasticité de l'eau est beaucoup plus élevé que celui de l'air. Enfin, l'impédance caractéristique du milieu,  $Z_c$  (mesurée en rayls), module à la fois l'intensité et la vitesse de propagation du son. L'impédance est l'inertie opposée par un système au passage d'un signal périodique (la grandeur inverse est l'admittance). La relation entre l'impédance caractéristique et l'intensité sonore sus-mentionnée ( $I = p^2/Z_c$ ) montre que plus l'impédance caractéristique du milieu traversé est forte, plus l'intensité sonore diminue ; la relation entre impédance caractéristique et vitesse de propagation du son,  $Z_c = r_0 c$ , montre que plus l'impédance caractéristique d'un milieu est élevée, plus la vitesse de propagation du son est grande. Par ailleurs, dans un milieu donné, l'intensité sonore varie en relation inverse avec le carré de la distance à la source sonore.

L'anatomie et l'histologie cochléaires ont été brièvement rappelées. Les trois fonctions de la cochlée, organe sensoriel auditif des mammifères, ont ensuite été évoquées : analyse spectrale, amplification de la stimulation sonore, et transduction mécano-électrique. Celles-ci rendent compte de ses performances exceptionnelles : une discrimination fréquentielle qui atteint 0,2 % à 1 000 Hz chez l'homme dans les expériences psychoacoustiques, une détection de sons dont l'énergie est proche de celle du bruit thermique, et une précision temporelle de réponse de l'ordre de la dizaine de microsecondes.

Le cours s'est ensuite concentré sur la question de l'amplificateur cochléaire.

### **L'amplificateur cochléaire**

Les vagues de pression qui atteignent le tympan sont transmises à la périlymphe de la rampe vestibulaire (scala vestibuli) de la cochlée par les osselets de l'oreille moyenne dont le dernier, l'étrier, vient frapper la membrane de la fenêtre ovale qui obture cette rampe. Une différence de pression est créée entre les différentes rampes de la cochlée, qui est transmise au canal membraneux cochléaire abritant le neuroépithélium auditif (organe de Corti). Il s'ensuit un déplacement, selon l'axe transverse, de la membrane basilaire sur laquelle repose l'organe de Corti. En examinant, par illumination stroboscopique au microscope, le mouvement de la membrane basilaire de cochlées humaines prélevées *post mortem*, von Békésy avait observé que les pics de déplacement de cette membrane étaient distribués le long de l'axe longitudinal de la cochlée en fonction de la fréquence du son incident. Pour chaque fréquence, il existait un emplacement spécifique le long de l'axe longitudinal de la cochlée où le déplacement de la membrane basilaire était maximal. Von Békésy avait ainsi découvert l'existence d'une carte fréquentielle de long de l'axe longitudinal de la cochlée (Von Békésy, 1956). Cette relation entre la fréquence du son et l'emplacement où la vibration de la membrane basilaire est maximale, est appelée transformation tonopique. Von Békésy reçut en 1961 le prix Nobel pour cette découverte.

Bien vite, ces données suscitèrent des interrogations. Les pics de déplacement de la membrane basilaire étaient très larges en regard de la discrimination fréquentielle mise en évidence par les expériences psychoacoustiques. Ces dernières avaient, dès 1954, trouvé une traduction physiologique par les travaux de Ichiji Tasaki (Tasaki, 1954), qui montraient que chaque neurone auditif répond préférentiellement à une fréquence particulière. Ces courbes de réponse neuronale, dite courbes d'accord (seuil de la décharge neuronale en dB en fonction de la fréquence sonore), très pointues, plaidaient en faveur de l'existence d'un mécanisme additionnel de sélectivité fréquentielle. L'introduction de l'interférométrie-laser, qui autorisait des mesures beaucoup plus précises du mouvement de la membrane basilaire que les analyses stroboscopiques, couplée à l'enregistrement des réponses électriques neuronales, allait de fait montrer qu'*in vivo*, les vibrations maximales de la membrane basilaire étaient d'une part beaucoup plus amples, et d'autre part limitées à un emplacement plus restreint de la membrane basilaire pour une fréquence du son donnée. A la sélectivité « passive », grossière, de la membrane basilaire (en rapport avec ses propriétés physiques), s'ajoutait donc une sélectivité « active » qui amplifiait le mouvement passif. Or l'existence d'un amplificateur cochléaire actif avait été prédite par Thomas Gold (Gold, 1948). En 1948, Gold avait souligné que la cochlée, remplie de liquide, ne pouvait pas être le site d'une résonance mécanique passive d'amplitude suffisante pour permettre la détection de sons dont l'énergie est proche de celle du bruit thermique, et, qui plus est, avec une bonne sélectivité fréquentielle. Il conclut à la nécessité d'une source d'énergie interne pour compenser la perte d'énergie par dissipation visqueuse.

L'amplification du déplacement de la membrane basilaire varie de manière non linéaire avec l'intensité du stimulus. Le facteur d'amplification a trois régimes : il est maximal pour les intensités du son les plus faibles, décroît de manière non linéaire pour des intensités croissantes, et est quasiment nul au-delà de 60 dB. Au total, pour les 6 ordres de grandeur de la pression sonore auxquels la cochlée humaine est sensible, de 0 à 120 dB SPL, l'amplitude des vibrations de la membrane basilaire varie d'un facteur 100 (le déplacement au seuil auditif est de 0,1 nm ; son maximum est de 10 nm à 120 dB). L'amplification, non linéaire, est donc aussi compressive, puisque le gain de deux ordres de grandeur du déplacement de la membrane basilaire correspond à six ordres de grandeur pour la pression du son correspondant. Cette amplification est restreinte à la région de la cochlée où les cellules sensorielles ont une fréquence caractéristique proche de celle du son incident. En effet, chaque cellule sensorielle, dite cellule ciliée, répond préférentiellement à une fréquence particulière. L'amplification augmente donc aussi la sélectivité en fréquence de la réponse cochléaire. L'amplificateur, pour être efficace, doit imprimer une force sur la membrane basilaire en synchronie avec son déplacement cyclique provoqué par l'onde sonore. Cet amplificateur a aussi pour action, pense-t-on, de permettre de détecter des sons de haute fréquence, dont l'énergie dissipée par l'amortissement visqueux dans la cochlée est plus importante que pour les sons de basse fréquence.

En 1978, Peter Dallos (Dallos et Harris, 1978) montrait que les cellules ciliées externes (CCE) sont indispensables à la fonction d'amplification. La découverte de l'électromotilité de ces cellules il y a bientôt 25 ans (Brownell et al, 1985) (le phénomène avait cependant été évoqué dès 1967 par Goldstein et Mizukoshi (Goldstein et Mizukoshi, 1967), cf. cours 2002), paraissait avoir résolu l'origine de l'amplification. William Brownell découvrait que si on applique une dépolarisation à une CCE, elle se contracte ; la longueur de sa paroi latérale diminue, cette réduction pouvant atteindre 4 % de la longueur totale. Puis, il observait qu'un courant alternatif, qui mime en quelque sorte le cycle de dépolarisation-repolarisation de la CCE induit par le son, augmente la longueur de la CCE durant sa phase hyperpolarisante et la raccourcit durant sa phase dépolarisante. Il y a donc variation de longueur en fonction du voltage, et réciproquement, si on étire la cellule, elle s'hyperpolarise. Ces propriétés répondent à la définition d'un composant piézoélectrique. En réalité, ce n'est pas tant le changement de longueur que la force développée en parallèle avec ce changement de longueur qui est le paramètre physiologique à prendre en compte.

Les caractéristiques de l'électromotilité des CCE répondent-elles à celles de l'amplificateur cochléaire ? La force produite par l'électromotilité est d'environ 100 pN/mV. La dépolarisation de la CCE peut atteindre 20 mV ; la force produite peut donc atteindre environ 2 nN ; elle est du même ordre de grandeur que celle que les CCE appliquent sur la membrane basilaire. En revanche, cette force varie quasi linéairement avec le potentiel électrique de membrane pour des valeurs physiologiques de ce potentiel. La rigidité du corps cellulaire varie aussi avec le voltage, de 1 à 25 nN/mm, et cette variation est, elle aussi, presque linéaire. Ceci ne constitue pas un argument contre le fait que l'électromotilité soit à l'origine de l'amplification. En effet, la stimulation de la touffe ciliaire par le son engendre une variation non-linéaire du potentiel de membrane qui confèrera une variation non-linéaire aux paramètres de l'électromotilité qui dépendent du voltage. L'idée qui prévaut est que l'amplificateur doit injecter de l'énergie, cycle par cycle, jusqu'à de très hautes fréquences, plus de 100 kHz chez la chauve-souris. Il n'est cependant pas démontré qu'une amplification à chaque cycle existe effectivement pour des fréquences très élevées du son. L'électromotilité peut-elle aussi opérer à des fréquences très élevées ? Quand des CCE sont soumises à un courant alternatif atteignant 70 kHz, leurs parois se contractent et se décontractent bien cycle par cycle. On notera toutefois qu'à ce jour, aucune vibration de la membrane basilaire excédant 13 kHz n'a été rapportée. Enfin, un composant piézoélectrique a bien été identifié dans les parois des CCE. Il s'agit d'une protéine intégrale de membrane, qui a été nommée prestine, en référence à son aptitude de réponse à des sons de haute fréquence.

Pourtant, une interrogation demeure, qui a conduit certains à remettre en question l'électromotilité comme mécanisme de l'amplification. La dépolarisation de la touffe ciliaire (structure de réception de la stimulation sonore et site de la transduction) doit se propager aux parois latérales de la CCE. Or la constante électrique de temps de la membrane (produit de sa résistance électrique et de sa

capacité) fait que cette membrane se comporte comme un filtre « passe-bas », c'est-à-dire qu'elle ne laisse passer sans déformation que des fréquences électriques inférieures à 1 kHz. Il y a là un véritable paradoxe, puisque l'électromotilité apparaît durant l'évolution chez les mammifères, quand l'organe auditif devient sensible aux sons de haute fréquence. Or, elle ne pourrait agir qu'à basse fréquence, à cause de la contrainte imposée par la constante électrique de temps de la membrane. Soit il y a un maillon manquant dans la caractérisation de l'amplification ou la compréhension du mode de stimulation électrique de la membrane plasmique conduisant à l'électromotilité, soit l'amplificateur ne se situe pas dans la paroi des CCE. De surcroît, il faut souligner que les vertébrés inférieurs, qui n'ont pas de CCE, ont cependant un seuil auditif très bas et une bonne sélectivité de leur réponse fréquentielle. C'est ainsi qu'au cours des dernières années, une hypothèse alternative a été proposée, qui place l'amplificateur dans la touffe ciliaire. En parallèle, d'autres fonctions ont été proposées pour l'électromotilité. Ainsi, elle pourrait positionner la touffe ciliaire des CCE dans sa zone de sensibilité maximale à la stimulation sonore.

L'hypothèse alternative repose sur l'existence de mouvements spontanés de la touffe ciliaire et de mouvements déclenchés par l'adaptation. Des oscillations spontanées de la touffe ciliaire ont été observées chez des vertébrés inférieurs, d'abord la tortue (Crawford et Fettplice, 1985), puis la grenouille (Martin et Hudspeth, 1999). Elles démontrent l'existence de mouvements actifs de la touffe ciliaire (Martin et Hudspeth, 1999). Les touffes ciliaires du saccule de grenouille (qui sont sensibles à des fréquences allant de 5 à 130 Hz) ont des oscillations spontanées bruitées, dont la fréquence va de 5 à 50 Hz, et l'amplitude de 25 à 100 nm. Leur stimulation par une fibre flexible à une fréquence donnée, conduit à une amplitude plus grande de leur mouvement lorsque la fréquence du stimulateur est proche de la fréquence caractéristique de leur oscillation spontanée. Il y a donc bien amplification de la stimulation par la touffe ciliaire. De plus, cette amplification a les caractéristiques de celle observée chez les mammifères. Elle possède une spécificité fréquentielle, et opère de façon non linéaire. Cependant, le facteur d'amplification que produit la résonance de la touffe ciliaire est de l'ordre de 5 à 10, et non de 100, comme attendu chez les mammifères. Il faut cependant noter qu'il s'agit ici de la réponse d'une cellule unique chez la grenouille, alors que l'amplification mesurée chez les mammifères est le résultat de l'activité de plusieurs cellules. Ces oscillations spontanées cessent si l'on bloque le canal de transduction mécano-électrique par la gentamicine. Autre élément à l'appui du rôle du canal dans ces oscillations : elles sont dépendantes des ions  $\text{Ca}^{2+}$ , comme l'est la cinétique de ce canal (*voir ci-dessous*). Si, par iontophorèse, on augmente la concentration des ions  $\text{Ca}^{2+}$  à la pointe des stéréocils, on accélère le mouvement de la touffe ciliaire et on diminue son amplitude. Si on chélate les ions  $\text{Ca}^{2+}$ , on observe l'effet inverse. Des déplacements de la touffe ciliaire des CCI induits par un courant alternatif transépithélial ont récemment été observés aussi chez la gerbille, dans un dispositif expérimental qui, comme celui utilisé précédemment pour la grenouille, préserve l'intégrité des deux compartiments

liquidiens, endolymphatique et périlymphatique, de la cochlée (Chan et Hudspeth, 2005). Les déplacements induits de la touffe ciliaire persistaient quand les ions  $K^+$  de l'endolymphe étaient remplacés par les cations monovalents NMDG (N-méthyl-D-glutamate), qui ne traversent pas le canal de transduction mécano-électrique et le bloquent, tout en laissant passer les ions  $Ca^{2+}$ . Dans ces conditions, c'est-à-dire en l'absence de dépolarisation (et donc d'électromotilité) mais en présence d'entrée d'ions  $Ca^{2+}$ , les mouvements de la touffe ciliaire étaient encore observés. Si la stimulation était acoustique, l'amplitude du déplacement des stéréocils des CCI augmentait de manière non-linéaire et compressive (modérément) avec l'intensité de la stimulation, tout comme les potentiels microphoniques, potentiels électriques extracellulaires provenant pour l'essentiel de l'activité électrique des CCE. La dépendance de ces mouvements à l'égard des ions  $Ca^{2+}$  renvoie aux deux cibles calciques de la transduction mécano-électrique qui ont été proposées comme acteurs de l'adaptation (*voir ci-dessous*), les myosines pour l'adaptation lente, et le canal de transduction lui-même, pour l'adaptation rapide.

L'autre considération à l'appui de la présence d'un amplificateur logé dans la touffe ciliaire est celle qui lie étroitement adaptation et mouvements de la touffe ciliaire. S'y ajoute un travail récent qui suggère l'existence d'une force produite par la touffe ciliaire des CCE. La discussion de ces travaux ne peut se faire sans un rappel de quelques éléments concernant la transduction mécano-électrique.

Dès les premiers enregistrements du courant de transduction mécano-électrique, il est apparu que ce courant n'est pas nul lorsque la cellule sensorielle est dans une position de repos. Un certain pourcentage des canaux de transduction mécano-électrique sont donc ouverts lorsque la touffe ciliaire est dans sa position de repos. Lorsque la touffe ciliaire est soumise par le son à un mouvement sinusoïdal autour de sa position de repos, ou défléchie par une fibre de verre rigide, son déplacement en direction des stéréocils les plus longs se traduit par une augmentation brutale du courant, liée à l'ouverture des canaux de transduction. Défléchie dans le sens opposé, ces canaux se ferment, le courant diminue. Leur ouverture conduit à l'entrée d'ions  $K^+$  et  $Ca^{2+}$ , qui dépolarisent la cellule. Le seuil de déplacement de la touffe ciliaire qui conduit à une dépolarisation est d'environ 1 nm. En termes de pression, la pression la plus faible perçue par le système auditif est de 20  $\mu Pa$ . Des mesures récentes effectuées chez le cobaye ont permis d'évaluer qu'en réponse à un déplacement de la membrane basilaire de 100 nm, l'apex de la touffe ciliaire des CCE de cobaye se déplaçait d'environ 30 nm (Fridberger et de Monvel, 2003 ; Fridberger et al, 2006).

En 1984, Pickles découvre le lien apical des stéréocils (Pickles et al, 1984). D'emblée, son implication dans la transduction mécano-électrique est proposée. La transduction mécano-électrique auditive a alors été déjà bien explorée par le groupe de Jim Hudspeth qui, compte tenu du temps très bref entre stimulation mécanique et enregistrement du courant, avait proposé un an plus tôt, un modèle pour cette transduction, connu sous le nom de *gating spring model*, que l'on peut

traduire par modèle du « ressort d'ouverture » (Corey et Hudspeth, 1983). Ce modèle stipule que l'ouverture du canal de transduction mécano-électrique est en rapport avec la tension qu'exercent sur lui des éléments élastiques qui lui sont couplés. Ces éléments élastiques se comportent comme un ressort (ressort de transduction). Si la tension dans ce ressort vient à baisser, les canaux se ferment. Le modèle associe donc la tension du ressort de transduction à la probabilité d'ouverture des canaux de transduction. Il faut une tension mécanique pour ouvrir le canal, et réciproquement, l'ouverture du canal produit une force (Howard et Hudspeth, 1988).

La raideur de la touffe ciliaire a été mesurée dans le saccule de grenouille en 1988 (Howard et Hudspeth, 1988), et estimée à environ 1 mN/m (dans ces mesures, les liens latéraux qui unissent les stéréocils avaient sans doute été éliminés par le traitement enzymatique effectué au préalable). La moitié de la raideur avait alors été attribuée au canal de transduction mécano-électrique lui-même, et l'autre aux pivots des stéréocils. L'ouverture des canaux est par ailleurs associée à une baisse de rigidité de la touffe ciliaire, qui n'apparaît pas si le canal est bloqué alors que la touffe ciliaire est défléchie. Cet assouplissement lié à l'ouverture des canaux a reçu le nom de *gating compliance* (assouplissement d'ouverture).

En 1991, Assad et Corey montraient qu'en présence de BAPTA, un chélateur des ions  $Ca^{2+}$ , les liens apicaux étaient détruits et la transduction abolie ; les liens apicaux autorisés à régénérer, la transduction retrouvait sa valeur initiale (Assad et al, 1991). Ces auteurs produisirent alors un schéma de la transduction qui désignait le lien apical comme le ressort de transduction. En traitant les touffes ciliaires par le BAPTA, seul persiste 50 % de la raideur de la touffe ciliaire (tout comme après le blocage du canal de transduction mécano-électrique). Les calculs retrouvaient une raideur du *gating spring*,  $K_{gs}$ , d'une valeur de 0,5 à 1 mN/m.

En 2000, des études en microscopie électronique conduites par Bechara Kachar (Kachar et al, 2000) révélèrent que le lien apical est composé de deux protofilaments enroulés en une hélice dextrogyre, dont la périodicité est d'environ 20 nm et le diamètre compris entre 5 et 10 nm, avec deux insertions apicales et trois basales. Cette structure du lien apical suggérait qu'il pouvait être, non pas élastique, mais rigide. Sa nature moléculaire, discutée dans le cadre du second cours, n'évoque pas, de fait, celle d'un lien élastique. L'idée prévaut aujourd'hui selon laquelle le *gating spring* est une structure intra-stéréociliaire associée directement ou indirectement au canal de transduction mécano-électrique.

Comme mentionné précédemment, une relation a été établie au cours des dernières années entre adaptation de la transduction mécano-électrique et mouvement de la touffe ciliaire. L'adaptation permet à tout système sensoriel de restaurer sa sensibilité à de petites stimulations transitoires, alors même qu'une forte stimulation statique se maintient. Si l'on prend l'exemple du saccule de la grenouille, organe vestibulaire très semblable, dans son fonctionnement, à la cochlée, il peut déceler des accélérations verticales du sol un million de fois plus

petites que celle du champ de gravitation terrestre (Narins et Lewis, 1984). Le processus d'adaptation consiste en la restauration de la probabilité d'ouverture des canaux de transduction mécano-électrique à une valeur proche de sa valeur de repos. En d'autres termes, il y aurait restauration de la tension du ressort de transduction, que la touffe ciliaire ait été défléchie en direction des grands stéréocils (ouverture des canaux) ou dans le sens opposé (fermeture des canaux). C'est ce que traduisent les courbes courant-déplacement établies à l'issue de l'adaptation, simples translations de la courbe initiale le long de l'axe des déplacements. La diminution du courant au cours de l'adaptation a un caractère bimodal. Chaque mode a des constantes de temps distinctes. Le premier a une constante de temps de l'ordre de la milliseconde ou moins (adaptation dite rapide), et le second, une constante de temps dix fois plus longue (adaptation dite lente). L'adaptation rapide a été étudiée en fonction de la fréquence caractéristique des cellules sensorielles auditives chez la tortue. Plus ces cellules ont une fréquence caractéristique élevée, plus leur constante de temps d'adaptation est petite. Cette observation a été étendue aux CCE de rat. D'où l'idée proposée selon laquelle c'est la cinétique d'adaptation rapide qui détermine la fréquence caractéristique de la cellule.

**Dans le 2<sup>e</sup> et le 3<sup>e</sup> cours**, ont été présentées des avancées récentes portant sur la physiologie moléculaire des cellules sensorielles de la cochlée. L'implication de la cadhérine-23 et de la protocadherine-15 dans la formation de liens transitoires de la touffe ciliaire en développement et du lien apical (*tip link*) a été discutée.

Les molécules proposées pour entrer dans la composition du canal de transduction mécano-électrique ont été examinées à la lumière des propriétés biophysiques de ce canal. C'est un canal cationique non sélectif qui a une forte perméabilité pour les ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Sa perméabilité aux ions  $\text{Ca}^{2+}$  est 5 fois plus importante qu'aux ions  $\text{Na}^+$ , aussi bien chez la grenouille, que chez la tortue et les mammifères. Sa perméabilité aux cations monovalents s'ordonne comme suit : elle est plus élevée pour le  $\text{Cs}^+$  que pour le  $\text{K}^+$ , que pour le  $\text{Na}^+$ , que pour le  $\text{Li}^+$ . Bloqué par le  $\text{Ca}^{2+}$ , ce canal l'est aussi par de fortes concentrations de magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), par de très faibles concentrations de lanthanum ( $\text{La}^{3+}$ ) ou de gadolinium ( $\text{Gd}^{3+}$ ) ou d'amiloride, ou par la dihydrostreptomycine, 50 à 100  $\mu\text{M}$ . Il n'est pas sensible au voltage.

Bien que les canaux de type TRP puissent encore être considérés comme d'excellents candidats, les deux qui ont été proposés à ce jour, TRPN1 et TRPA1, ont été éliminés.

La nature moléculaire du moteur d'adaptation a fait l'objet d'une présentation, et les arguments en faveur d'un rôle central de la myosine 1c ont été examinés. Les éléments qui plaident en faveur de l'implication d'une autre myosine, la myosine VIIa, ont été discutés. Le rôle de la pompe calcique Pmca2 dans le rejet des ions  $\text{Ca}^{2+}$  hors de la touffe ciliaire a été rappelé, et son mode d'action examiné, en tenant compte de données génétiques obtenues chez l'homme et la souris, qui établissent son couplage fonctionnel avec la cadhérine-23.

#### **4<sup>e</sup> cours : éléments du traitement du signal sonore par les neurones auditifs du ganglion cochléaire et les neurones des noyaux auditifs du tronc cérébral.**

Ont été brièvement abordés, le traitement des signaux acoustiques (fréquence, intensité et caractéristiques temporelles) dans les neurones du ganglion cochléaire, du noyau cochléaire, et les autres noyaux auditifs du tronc cérébral, complexe olivaire et noyaux du corps trapézoïde. Quelques éléments ont été introduits sur la localisation des sources sonores de basse fréquence dans le plan horizontal, avec les rebondissements récents qui remettent en cause un modèle bien établi, que l'on croyait généralisable à l'ensemble des espèces.

#### **Les neurones auditifs primaires: diversité et physiologie**

Dans le ganglion cochléaire, les neurones afférents, neurones de type I, sont dix fois plus nombreux que les CCI. Ce sont des neurones bipolaires, qui ne contactent qu'une seule CCI et ne forment qu'une seule synapse. Au niveau de chaque ruban synaptique, n'existe qu'une seule synapse (rubans synaptiques et neurones auditifs sont dans un rapport de 1). Ces neurones sont myélinisés et, curieusement, cette myélinisation s'étend au corps cellulaire, et même à la racine de la dendrite.

Ont été introduites, les notions de fréquence caractéristique (fréquence de stimulation sonore pour laquelle le seuil de réponse est le plus bas) et de courbe d'accord (seuil de réponse à différentes fréquences) de ces neurones, et la mesure de leur sélectivité fréquentielle par le facteur de qualité  $Q_{10\text{ dB}}$  (rapport entre la fréquence caractéristique du neurone et la différence des fréquences pour lesquelles les seuils de réponse du neurone sont supérieurs de 10 dB au seuil minimal). Cette valeur croît avec la sélectivité fréquentielle de la réponse. La courbe d'accord en fréquence de la membrane basilaire (définie pour une valeur donnée du déplacement) et celle des CCE (définie pour une valeur donnée du potentiel de récepteur) à un même emplacement cochléaire sont superposables. Les courbes d'accord en fréquence des CCI et de leurs neurones afférents sont également semblables.

Tandis que les CCE répondent de manière synchrone au déplacement de la membrane basilaire, les CCI répondent de manière synchrone à sa vitesse de déplacement. Dans les situations pathologiques où la touffe ciliaire des CCE perd son ancrage dans la membrane tectoriale, les CCE répondent alors, non plus au déplacement de la membrane basilaire, mais à sa vitesse de déplacement (Legan et al, 2000). Le mécanisme de la stimulation des CCI est assez mal connu ; il implique la dynamique de la membrane tectoriale, et sans doute aussi celle de la lame réticulée (structure rigide formée par les régions apicales des cellules sensorielles et de leurs cellules de soutien, ainsi que par les jonctions entre ces cellules).

Quelques éléments de la fonction de transfert mécano-électrique des CCI ont été rappelés. La dépolarisation de la CCI sous l'effet d'une stimulation sonore est au maximum de 20 mV (son potentiel de membrane passe ainsi d'environ -60 mV à -40 mV). Elle comporte deux composantes : une composante alternative (AC),

et une composante continue, ou directe (DC). La composante AC, dont la fréquence est la même que celle du son, n'existe que pour des fréquences inférieures à 4 ou 5 kHz ; sa part ne cesse de décroître, au profit de celle de la composante DC, à partir d'environ 1 kHz. Plus l'intensité du son augmente, jusqu'à 60 dB, plus, dans les CCI comme dans les CCE, les composantes DC et AC augmentent. Des données récentes indiquent qu'au delà de 60 dB, la composante DC augmente davantage que la composante AC. La constante de temps électrique de la membrane détermine une limite de fréquence, au delà de laquelle le potentiel de membrane cesse progressivement d'osciller. Les canaux BK, canaux potassiques de large conductance dépendant à la fois des ions  $\text{Ca}^{2+}$  et du voltage (Oliver et al, 2003 ; Marcotti et al, 2004), sont responsables d'un courant potassique sortant de cinétique rapide (courant  $I_{K,p}$ ). Lorsqu'on supprime ces canaux chez des souris génétiquement modifiées, la constante de temps électrique de la membrane des CCI augmente. La dépolarisation maximale de la CCI augmente considérablement (de 20 mV, elle passe à 80 mV). La dépolarisation est très retardée, créant un délai dans la réponse du neurone auditif, et la repolarisation est très incomplète. La composante AC diminue, tandis que la composante DC augmente.

La dépolarisation rapide des CCI stimule les canaux calciques dépendant du voltage, de type L (Cav1.3) ; ils sont au nombre de 1 700 environ par CCI. La présence de 10 à 30 rubans synaptiques par CCI indique qu'une centaine de canaux calciques dépendant du voltage sont associés, en moyenne, à chaque ruban synaptique (leur répartition pourrait être très hétérogène).

Les CCI matures ne sont innervées que par des neurones afférents, ou neurones de type I. Chez le chat, Charles Liberman (Liberman, 1982) a pu diviser ces neurones en trois sous-populations en fonction de leur taux de décharge spontanée (de 0 à 100 potentiels d'action par seconde) et de leur morphologie : neurones à taux de décharge spontanée faible (inférieur à 0,5 potentiel d'action par seconde) et de très petit diamètre, neurones à taux moyen de décharge spontanée (0,5 à 17 potentiels d'action par seconde) et de diamètre plus grand, neurones à taux élevé de décharge spontanée (supérieur à 17,5 potentiels d'action par seconde) et de grand diamètre. Ces propriétés sont corrélées avec des seuils de réponse distincts pour chacun des groupes. Plus le taux de décharge spontanée est élevé, plus le seuil de réponse du neurone est bas. Une CCI donnée paraît être innervée par plusieurs neurones de chacun des sous-types. Ces neurones ont une répartition topologique particulière. Les neurones à haut taux de décharge spontanée (bas seuil) sont localisés dans la région de la CCI qui se situe à proximité des cellules piliers internes. Il semble qu'ils établissent des synapses avec des rubans qui ont une taille plus petite que les autres, et un nombre plus faible de vésicules associées. Les projections centrales de ces différents sous-groupes de neurones sont elles aussi différentes. Tous ces neurones se projettent sur le noyau cochléaire, mais les neurones à taux de décharge spontanée faible ou moyen ont un beaucoup plus grand nombre de terminaisons nerveuses destinées à une innervation préférentielle de la région périphérique des petites cellules (*voir ci-dessous*). Ils sont à l'origine de

réseaux neuronaux distincts au niveau du tronc cérébral, aussi, semble-t-il. Ces différents sous-groupes de neurones de type I sous-tendent donc un traitement distinct de l'information, qui concerne principalement l'intensité de la stimulation sonore. Ils ont aussi une dynamique de réponse différente d'un neurone à l'autre. Enfin, pour certains, leur seuil de réponse dépendrait de la durée de stimulation.

Quelle est l'origine de leur hétérogénéité fonctionnelle ? La question sous-jacente est celle de la participation de la présynapse aux caractéristiques de la réponse neuronale. Comment ces neurones assurent-ils le codage en intensité et en fréquence ? Le codage en fréquence dans les neurones auditifs est différent pour les basses et les hautes fréquences. Les neurones auditifs ont des fréquences de décharge de potentiels d'action qui, comme pour tout neurone, ne peuvent excéder 600 Hz à 1 kHz en raison de la période réfractaire qui suit le potentiel d'action. En réponse à une stimulation sonore de basse fréquence, 300 Hz par exemple, les pics de potentiel d'action peuvent atteindre cette fréquence si l'intensité du son est forte. En tout état de cause, ces pics se situent tous précisément dans la même phase de l'onde sonore. Plus le son est de faible intensité, plus ces décharges sont rares. C'est collectivement que ces neurones peuvent reconstituer une fréquence de décharge identique et synchrone à celle de la stimulation sonore. Ceci s'applique aussi pour le traitement des sons jusqu'à 4 ou 5 kHz chez l'homme (peut-être jusqu'à 10 kHz). Chaque neurone décharge strictement dans la même phase de l'onde sonore, mais c'est seulement collectivement que les neurones reconstituent une fréquence de décharge de quelques kHz. Ce code temporel de l'information fréquentielle est fondé sur le « principe de la volée », par analogie avec une rangée de soldats qui, en tirant à différents moments, feraient un barrage de tir continu. Le codage fréquentiel pour les hautes fréquences repose exclusivement sur une information de position. La carte tonotopique cochléaire en est le socle. Elle est reproduite à chacun des différents étages du système auditif (*voir ci-dessous*).

Comment s'effectue le codage en intensité des diverses fréquences ? On sait par les travaux de Rose (Rose et al, 1967) que l'intensité du son ne modifie ni la synchronisation au son de la réponse des neurones de type I à basse fréquence, ni leur délai de réponse. C'est parce que le délai synaptique n'est pas modulable par l'intensité de stimulation que le codage temporel des signaux sonores est extrêmement robuste. Sa haute précision est mise à profit pour localiser les sources sonores de basse fréquence (*voir ci-dessous*). A la question des mécanismes qui sous-tendent une synchronisation de décharges à l'identique quelle que soit l'importance de la dépolarisation de la CCI, les travaux d'Elisabeth Glowatzki (Glowatzki et Fuchs, 2002) apportent des éléments de réponse. En enregistrant les courants postsynaptiques au niveau des boutons dendritiques des neurones auditifs, elle a pu montrer que la fusion des vésicules synaptiques de la CCI à la membrane plasmique concerne en moyenne 4 à 7 vésicules en même temps, et que ces événements de fusion multivésiculaire sont les mêmes qu'il s'agisse des décharges spontanées ou des décharges provoquées, d'une faible ou d'une forte stimulation. Chaque événement de fusion est constant, il n'y a pas d'avance de phase lorsque l'intensité augmente (comme observé dans les autres

systèmes neuronaux). Seule varie, en fonction de l'intensité sonore, la probabilité d'apparition de l'événement. Ces études ont également permis de conclure que 90 % de l'adaptation observée dans la réponse neuronale provient de la machinerie présynaptique. Quant aux neurones auditifs, c'est encore collectivement qu'ils reconstitueraient une réponse à un large spectre d'intensité.

A partir de ces données, on est amené à penser que l'exocytose de la CCI est d'une extrême précision temporelle, que la cochlée traite le paramètre d'intensité sonore en termes de probabilité d'événements d'exocytose dans la CCI, et que conjointement, les neurones auditifs auraient une diversité de seuils de réponse.

### **Les noyaux auditifs du tronc cérébral et du mésencéphale**

Cellules sensorielles cochléaires et neurones auditifs ont une même origine embryologique, la placode otique, et constituent le système auditif périphérique. Au-delà, les voies auditives ascendantes appartiennent au système nerveux central. Le premier relais central est situé dans le noyau cochléaire. Ses projections sont principalement contralatérales. Au-delà du noyau cochléaire, les voies auditives ascendantes, d'ipsilatérales deviennent contralatérales.

Le noyau cochléaire est situé dans la partie caudale du tronc cérébral. Il est divisé en trois grandes régions ou noyaux : noyau ventral antérieur (NVA), noyau ventral postérieur (NVP) et noyau dorsal (ND). Tout axone des neurones auditifs de type I qui pénètre dans le noyau cochléaire se divise en deux branches, une branche antérieure (ou ascendante) et une branche postérieure (ou descendante). La branche antérieure innerve le NVA. La branche postérieure innerve le NVP et le ND. Les projections des neurones auditifs sont ordonnées en fonction de la fréquence caractéristique de ces neurones, et constituent une carte tonopique dans laquelle, comme dans la cochlée, les basses fréquences sont traitées à l'apex du noyau (région antérieure) et les hautes fréquences à sa base (région postérieure). Ainsi, on peut considérer qu'il existe trois cartes tonotopiques distinctes au niveau du noyau cochléaire. Elles reçoivent une information semblable, et doivent donc en extraire des informations différentes.

La population neuronale du noyau cochléaire est hétérogène. On distingue huit types de neurones qui diffèrent par leur morphologie et leur réponse électrique. Dans le NVA prédominent les neurones « en buisson », que la coloration de Nissl permet de séparer en neurones « sphériques » et neurones « globulaires ». Dans le NVP dominent des neurones « pieuvre » (*octopus cells*) et des neurones « multipolaires » (en coloration de Nissl) ou « étoilés » (en coloration de Golgi). Dans le ND, qui a un aspect lamellaire, prédominent des neurones fusiformes ou pyramidaux. Cette région comporte deux autres types de neurones de plus petite taille, petits neurones et neurones granulaires. Dans la profondeur du noyau cochléaire, se logent des neurones « géants ».

Ces neurones ont des réponses électriques très diverses : réponse voisine de celle des neurones auditifs primaires, réponse avec une périodicité en rapport avec la stimulation sonore mais comportant une encoche au démarrage, réponse dite « en hachoir » avec des pics qui ne sont pas synchrones au son, réponse restreinte à la mise en place de la stimulation (comme celle des cellules « pieuvre »)...

Des cellules peuvent appartenir à un même type et décharger selon plusieurs modes. Ainsi, les neurones en buisson déchargent selon trois modes : soit comme les neurones auditifs primaires, soit à la mise en place du signal acoustique, soit encore comme les neurones auditifs primaires, mais avec une encoche. Les neurones étoilés ou multipolaires ont deux modes de réponse : l'un « en hachoir », l'autre lors de la mise en place du signal acoustique. Les cellules « pieuvre » déchargent à la mise en place du signal, et les cellules fusiformes ou pyramidales ont divers profils de réponse électrique. Ces réponses électriques distinctes traduisent l'extraction de différentes informations à partir de la réponse des neurones auditifs primaires.

Au-delà du noyau cochléaire, en raison des projections axonales bilatérales, chaque structure relais comporte une organisation tonotopique, et reçoit des informations provenant des deux oreilles.

Le second relais central du système auditif, le complexe olivaire supérieur (COS), est aussi situé dans le tronc cérébral. Il comporte trois noyaux principaux, l'olive supérieure latérale (OSL), l'olive supérieure médiane (OSM), le corps trapézoïde et ses trois noyaux, latéral, ventral, et médian (noyau médian du corps trapézoïde ou NMCT), ainsi qu'un ensemble de noyaux de petite taille (noyaux périolivaires). Ces structures ont toutes une organisation tonotopique. Du noyau cochléaire, émergent trois voies majeures : les stries acoustiques ventrale, intermédiaire, et dorsale. La strie acoustique ventrale, ou corps trapézoïde, est formée par les axones qui proviennent des neurones en buisson du NCVA, et des neurones stellaires et « pieuvre » du NCVP. L'axone des cellules « en buisson » se termine essentiellement sur les trois principaux noyaux du COS, tandis que certains de ces axones continuent leur route à travers le lemnisque latéral jusqu'au colliculus inférieur. Celui des cellules sphériques en buisson se projette de façon bilatérale sur l'OSM, et ipsilatérale sur l'OSL, celui des cellules globulaires en buisson se projette en contralatéral sur les neurones du NMCT venant inhiber l'activité de l'OSL déclenchée par les cellules sphériques en buisson. La strie acoustique intermédiaire, ou strie de Held, inclut les axones des cellules « pieuvre » du NVP qui se terminent dans les noyaux périolivaires et, plus loin, dans le lemnisque latéral et le colliculus inférieur. Enfin, la « strie acoustique dorsale » contient les axones des neurones du NCD. Elle n'envoie aucune projection sur le complexe olivaire supérieur, et se termine, comme la strie acoustique intermédiaire, sur le colliculus inférieur et les noyaux du lemnisque latéral. Enfin, il existe bon nombre de projections internes au sein du noyau cochléaire.

Les neurones du NMCT comportent les synapses géantes, ou calices de Held, qui sont considérées comme les plus grandes terminaisons synaptiques du cerveau des mammifères. L'extrémité axonale des cellules globulaires présentes dans le

noyau cochléaire opposé forme la région présynaptique des calices de Held. Les neurones du NMCT qui forment la post-synapse, sont des neurones inhibiteurs glycinergiques, et se projettent sur divers noyaux du COS.

Les axones des neurones du noyau cochléaire et du COS se projettent principalement vers le colliculus inférieur en formant un faisceau de fibres que l'on appelle le lemnisque latéral. Il existe aussi des noyaux du lemnisque latéral qui sont situés à l'intérieur du faisceau des fibres du lemnisque, et reçoivent des afférences du noyau cochléaire et du complexe olivaire. Le noyau du lemnisque latéral comporte deux zones, une zone dorsale et une zone ventrale.

Le mésencéphale auditif se compose du colliculus inférieur. Il comporte quatre noyaux : central, dorsomédian, latéral, et dorsal. C'est un carrefour de voies auditives ascendantes et descendantes. Le noyau central a une structure lamellaire, et ne reçoit que des afférences provenant des centres auditifs inférieurs. Il est le siège d'une tonotopie stricte et comporte des cartes de représentation de plusieurs paramètres de la stimulation sonore, comme une carte des latences, une carte des courbes d'accord (« carte des  $Q_{10dB}$  »), une carte de résolution temporelle, une carte de localisation spatiale... De nombreux facteurs indépendants du système auditif modulent l'activité électrique du colliculus inférieur : stimuli visuels et tactiles par exemple.

### **Localisation de la source sonore**

Pour terminer, quelques éléments introductifs au cours de l'année suivante sur la localisation de la source sonore ont été présentés. La capacité de localiser la source sonore, parce qu'elle permet de localiser proies et prédateurs, contribue bien évidemment à la survie des animaux entendants. Orienter le pavillon de l'oreille ou tourner la tête pour déceler au mieux la localisation d'une proie, par exemple, permet d'élaborer une stratégie d'attaque sans être vu.

La vague sonore, produite par une source externe, est diffractée par son interaction avec le pavillon de l'oreille et l'ensemble de la tête. Ce sont les caractéristiques temporelles et d'intensité du son ainsi diffracté qui vont fournir les substrats de la localisation de la source sonore. Dans leur description, désormais classique, de la localisation de la source sonore en champ libre chez l'homme, Stevens et Newman, en 1936 (Stevens et Newman, 1936), observèrent que l'homme localisait au mieux la source sonore dans le plan horizontal pour des fréquences du son, soit inférieures à 1 kHz, soit supérieures à 5 kHz. Ceci suggérait l'existence de deux mécanismes distincts de localisation de la source sonore dans le plan horizontal, l'un pour les basses fréquences, et l'autre pour les hautes fréquences.

Cette dichotomie faisait écho à la théorie, dite théorie duplex, de l'écoute binaurale, proposée par Lord Rayleigh en 1907 (Strutt, 1907), et dont les premiers éléments avaient été apportés par Thomson en 1882. Selon Rayleigh, la tête peut créer une ombre acoustique pour l'oreille la plus distante de la source sonore, de

sorte que l'intensité du son qui lui parvient est plus faible que celle du son qui parvient à l'autre oreille. Ces différences de niveau sonore sont dites différences d'intensité inter-auriculaires ou binaurales (en anglais *interaural level difference*, ILD en abrégé). Cependant, l'importance de la différence d'intensité inter-auriculaire dépend du contenu spectral de la stimulation. En effet, la tête se comporte comme un filtre passe-bas. Elle laisse passer les fréquences basses qui la contournent en raison de leur grande longueur d'onde, et qui par conséquent contribuent fort peu à la différence d'intensité interauriculaire. Avant Rayleigh, le temps qui sépare l'arrivée d'une onde sonore à une oreille et à l'autre, estimé à quelques centaines de microsecondes, avait été considéré comme trop bref pour être décelable par un système biologique. Rayleigh conclut au contraire que cette différence temporelle interauriculaire est décelable, et il propose qu'elle soit le fondement du principe de localisation des sons de basse fréquence (en anglais *interaural time difference*, ITD en abrégé). L'idée d'un double système de localisation de la source sonore s'est imposée. L'un, dédié aux hautes fréquences mis en oeuvre dans l'OSL, est fondé sur les différences d'intensité, et l'autre, dédié aux basses fréquences, mis en oeuvre dans le noyau laminaire chez les oiseaux et dans l'OSM chez les mammifères, est fondé sur les différences temporelles.

L'intérêt majeur de l'écoute binaurale réside dans la localisation de la source sonore dans l'espace. Toutefois, un son sera perçu comme légèrement plus intense s'il est présenté aux deux oreilles (gain d'environ 3 décibels). De cette vision très schématique, il s'en suit que pour un patient qui a une surdité unilatérale, si le locuteur est situé du côté de l'oreille défaillante, l'oreille normale percevra correctement les basses fréquences, mais mal les hautes fréquences, en raison de l'ombre de la tête. Cette théorie vaut pour les sons purs. Pour la localisation de sources sonores complexes, la composante temporelle, même pour des sons de haute fréquence, est importante. Interviennent aussi les modulations fréquentielles et les modulations en amplitude.

Seule a été discutée plus en détail la localisation dans le plan horizontal des sources sonores de basse fréquence. Soit une onde sonore située sur l'azimut  $90^\circ$  par rapport à la ligne médiane. L'onde sonore va parcourir le chemin d'une oreille à l'autre soit une distance égale au rayon de la tête plus une distance égale au quart de la circonférence de la tête. Le rayon de la tête est estimé à 9 cm, le quart de la circonférence de la tête à environ 14 cm, soit une distance totale à parcourir de 23 cm. Compte tenu de la vitesse du son dans l'air (343 m/s), la différence de temps entre l'arrivée du son à l'une et l'autre oreille est 670  $\mu\text{s}$ . C'est le temps maximum du parcours. En effet, quand la source se rapproche de la position médiane, le délai entre l'arrivée des signaux sonores à l'une et l'autre oreille est toujours plus petit. Ce temps de 670  $\mu\text{s}$  est égal à la période d'un son de 1 500 Hz. Il fixe la limite supérieure de la fréquence sonore d'une source qui pourra être localisée en se fondant sur la disparité temporelle binaurale. Pour des fréquences plus élevées, la localisation de la source sonore fait appel à la différence d'intensité (ILD).

Chez l'homme, le système auditif identifie deux sons comme provenant de deux sources distinctes si, l'une étant située dans le plan médian ( $0^\circ$  azimutal), l'autre en est séparée d'au moins deux degrés. Ceci signifie que le système auditif distingue deux sons qui parviennent à l'une et l'autre oreille avec un décalage temporel de moins de  $20 \mu\text{s}$ . C'est cet élément qui a permis de conclure à l'extrême précision temporelle du système auditif (au moins jusqu'à ses relais du tronc cérébral). Plus on s'éloigne de l'axe médian dans le plan horizontal, plus la capacité de résolution diminue. L'angle audible minimal varie avec la position azimutale et la fréquence de la source sonore. Sa valeur augmente quand la fréquence s'élève et que la source sonore s'approche du  $90^\circ$  azimutal. Pour toutes les fréquences, la perception de la directionalité est plus précise quand l'auditeur fait face à la source sonore. En l'absence de mobilité du pavillon de l'oreille, c'est la tête qui bouge pour optimiser la perception de la localisation des sources sonores.

Nous avons ensuite brièvement considéré les bases neurales de la localisation azimutale des sources sonores de basse fréquence. Durant les cinquante dernières années, un seul modèle a servi d'explication à la façon dont le cerveau détermine la position de la source sonore de basse fréquence dans le plan horizontal : le modèle de coïncidence proposé par Lloyd Jeffress en 1948 (Jeffress, 1948). Il stipule que le cerveau transforme l'information du délai de temps relatif de l'arrivée du son à chacune des deux oreilles en une carte, dite carte spatiale auditive ou « carte ITD ». Ce modèle pose l'existence de neurones détecteurs de coïncidence. Leur décharge est maximale quand les potentiels d'action qui leur parviennent, à partir de chaque oreille, arrivent simultanément. Dans ce modèle, ces détecteurs de coïncidence reçoivent des informations excitatrices, qui leur parviennent *via* des axones qui véhiculent des signaux électriques provenant de chacune des deux oreilles. Ce modèle repose sur trois hypothèses : 1) il existe des neurones détecteurs de coïncidence ; ceux-ci reçoivent une information temporelle très précise venant de l'une et l'autre oreille ; ils ne peuvent interpréter qu'une information de décharge neuronale organisée en volée (*voir ci-dessus*), c'est-à-dire synchronisée au son ; 2) ils répondent de façon maximale lorsque les potentiels d'action venus de l'une et l'autre oreille arrivent simultanément ; ils sont très sensibles à de toutes petites disparités dans le temps d'arrivée des potentiels d'action provenant de l'une et de l'autre oreille ; 3) ce sont des projections afférentes excitatrices venues de chaque oreille qui les stimulent, et c'est le temps cumulé des chemins acoustique et électrique parcourus depuis la source sonore jusqu'au détecteur (controlatéral par rapport à la source) qui est pris en compte. En ce qui concerne le chemin électrique, le modèle stipule que la détection de coïncidence est fondée sur le fait que les axones des neurones excitateurs ont des longueurs différentes, qui introduisent des délais électriques (« délais de ligne »). Le détecteur de coïncidence sera stimulé par des neurones dont la longueur axonale va permettre une décharge synchrone des neurones afférents issus de chacune des deux oreilles. Dans ce modèle, chaque neurone détecteur de coïncidence répond à un temps inter-auriculaire différent et spécifique, dit temps caractéristique de la détection temporelle. Les divers neurones dont le temps caractéristique de détection

temporelle est différent sont organisés en une carte de temps caractéristique graduellement croissant. Un neurone détecteur signale la position de la source sonore par son taux de décharge maximal.

Ce modèle a eu un impact considérable sur la recherche dans ce domaine. Il s'est révélé fécond pour interpréter la localisation des sources de basse fréquence chez l'oiseau. Les travaux élégants réalisés par Mazakazu Konishi et de Eric Knudsen [voir revue, (Knudsen, 2002)] à partir de 1978 sur la chouette effraie, qui chasse la nuit en utilisant exclusivement son audition pour localiser ses proies, paraissent valider ce modèle. Cette chouette se dirige vers ses proies grâce à une reconnaissance des vibrations qu'elles émettent. Celle-ci est fondée, dans le plan horizontal, sur les différences temporelles, et est particulièrement efficace pour des fréquences allant jusqu'à 7 ou 8 kHz. De fait, les décharges des neurones afférents sont en phase avec le son jusqu'à ces valeurs de fréquence. Les neurones détecteurs de coïncidence se situent dans le noyau laminaire. Pour lever toute ambiguïté dans l'interprétation des délais de réponse, cette carte est couplée à une carte fréquentielle, qui a une orientation perpendiculaire. Ainsi, chaque fréquence est en quelque sorte équipée de son détecteur d'ITD. Une « carte ITD » est le code de représentation de toutes les localisations des sources sonores dans le plan horizontal. L'ITD zéro, toujours représenté par un maximum de neurones, est l'ITD pour lequel la décharge maximale correspond à la position médiane de la source. Beaucoup de données électrophysiologiques obtenues chez la chouette effraie sont en accord avec ce modèle, et des axones de longueur hétérogène ont bien été mis en évidence dans le noyau laminaire.

Chez les mammifères, des détecteurs de coïncidence sont situés dans l'OSM, mais leur mode d'activation paraît moins clair. Chez le chat, un substrat anatomique pour un mécanisme du type « délai de lignes » (différentes longueurs axonales) a été observé. Cependant, des travaux menés chez la gerbille (Brand et al, 2002 ; Kapfer et al, 2002) indiquent le rôle indispensable de neurones inhibiteurs glycinergiques du NMCT dans la réponse à un délai caractéristique des neurones de l'OSM. Ces neurones inhibiteurs, dont la décharge est aussi en phase avec le son, et non des longueurs d'axones différentes d'un neurone excitateur à l'autre, seraient le substrat des « cartes ITD » des mammifères.

## Références

- Assad J.A., Shepherd G.M., Corey D.P. (1991) Tip-link integrity and mechanical transduction in vertebrate hair cells. *Neuron*, 7, 985-994.
- Brand A., Behrend O., Marquardt T., McAlpine D., Grothe B. (2002) Precise inhibition is essential for microsecond interaural time difference coding. *Nature*, 417, 543-547.
- Brownell W.E., Bader C.R., Bertrand D., de Ribaupierre Y. (1985) Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells. *Science*, 227, 194-196.
- Chan D.K., Hudspeth A.J. (2005) Ca<sup>2+</sup> current-driven nonlinear amplification by the mammalian cochlea *in vitro*. *Nat Neurosci*, 8, 149-155.

- Corey D.P., Hudspeth A.J. (1983) Kinetics of the receptor current in bullfrog saccular hair cells. *J Neurosci*, 3, 962-976.
- Crawford A.C., Fettiplace R. (1985) The mechanical properties of ciliary bundles of turtle cochlear hair cells. *J Physiol*, 364, 359-379.
- Dallos P., Harris D. (1978) Properties of auditory nerve responses in absence of outer hair cells. *J Neurophysiol*, 41, 365-383.
- Fridberger A., de Monvel J.B. (2003) Sound-induced differential motion within the hearing organ. *Nat Neurosci*, 6, 446-448.
- Fridberger A., Tomo I., Ulfendahl M., Boutet de Monvel J. (2006) Imaging hair cell transduction at the speed of sound : dynamic behavior of mammalian stereocilia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103, 1918-23.
- Glowatzki E., Fuchs P.A. (2002) Transmitter release at the hair cell ribbon synapse. *Nat Neurosci*, 5, 147-154.
- Gold T. (1948) Hearing. II. The physical basis of the action of the cochlea. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 135, 492-498.
- Goldstein A.J., Mizukoshi O. (1967) Separation of the organ of Corti into its component cells. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 76, 414-426.
- Howard J., Hudspeth A.J. (1988) Compliance of the hair bundle associated with gating of mechano-electrical transduction channels in the Bullfrog's saccular hair cell. *Neuron*, 1, 189-199.
- Jeffress L.A. (1948) A place theory of sound localization. *J Comp Physiol Psychol*, 41, 35-39.
- Kachar B., Parakkal M., Kurc M., Zhao Y., Gillespie P.G. (2000) High-resolution structure of hair-cell tip links. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97, 13336-13341.
- Kapfer C., Seidl A.H., Schweizer H., Grothe B. (2002) Experience-dependent refinement of inhibitory inputs to auditory coincidence-detector neurons. *Nat Neurosci*, 5, 247-253.
- Knudsen E.I. (2002) Instructed learning in the auditory localization pathway of the barn owl. *Nature*, 417, 322-328.
- Legan P.K., Lukashkina V.A., Goodyear R.J., Kossi M., Russell I.J., Richardson G.P. (2000) A targeted deletion in alpha-tectorin reveals that the tectorial membrane is required for the gain and timing of cochlear feedback. *Neuron*, 28, 273-285.
- Lieberman M.C. (1982) Single-neuron labeling in the cat auditory nerve. *Science*, 216, 1239-1241.
- Marcotti W., Johnson S.L., Kros C.J. (2004) Effects of intracellular stores and extracellular  $Ca^{2+}$  on  $Ca^{2+}$ -activated  $K^{+}$  currents in mature mouse inner hair cells. *J Physiol*, 557, 613-633.
- Martin P., Hudspeth A.J. (1999) Active hair-bundle movements can amplify a hair cell's response to oscillatory mechanical stimuli. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96, 14306-14311.
- McAdams S., Winsberg S., Donnadieu S., De Soete G., Krimphoff J. (1995) Perceptual scaling of synthesized musical timbres : common dimensions, specificities, and latent subject classes. *Psychol Res*, 58, 177-192.
- Narins P.M., Lewis E.R. (1984) The vertebrate ear as an exquisite seismic sensor. *J Acoust Soc Am*, 76, 1384-1387.
- Oliver D., Knipper M., Derst C., Fakler B. (2003) Resting potential and submembrane calcium concentration of inner hair cells in the isolated mouse cochlea are set by KCNQ-type potassium channels. *J Neurosci*, 23, 2141-2149.
- Pickles J.O., Comis S.D., Osborne M.P. (1984) Cross-links between stereocilia in the guinea pig organ of Corti, and their possible relation to sensory transduction. *Hear Res*, 15, 103-112.

Rose J.E., Brugge J.F., Anderson D.J., Hind J.E. (1967) Phase-locked response to low-frequency tones in single auditory nerve fibers of the squirrel monkey. *J Neurophysiol*, 30, 769-793.

Stevens S.S., Newman E.B. (1936) On the Nature of Aural Harmonics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 22, 668-672.

Strutt J.W., Lord Rayleigh (1907) On our perception of sound direction. *Phil. Mag*, 13, 214-232.

Tasaki I. (1954) Nerve impulses in individual auditory nerve fibers of guinea pig. *J Neurophysiol*, 17, 97-122.

Von Bekesy G. (1956) Current status of theories of hearing. *Science*, 123, 779-783.

### **Activité de recherche du laboratoire (2007-2008)**

Les avancées les plus significatives au cours de l'année 2007-2008 ont été :

1. la découverte de l'origine des distorsions acoustiques par les cellules ciliées externes (Verpy et al, 2008),
2. la mise en évidence d'un nouveau mécanisme responsable de la surdité liée à l'exposition au bruit (soumis pour publication),
3. la mise en évidence de l'harmonine, protéine à domaines PDZ, au sein de la machinerie de transduction mécano-électrique et de son rôle dans l'adaptation,
4. l'identification d'un gène responsable de presbyacousie.

Nous avons également contribué à élucider le rôle du kinocilium dans la formation de la touffe ciliaire (Jones et al, 2008), et avons apporté les premiers éléments de la pathogénie de la surdité liée à un déficit en adénylate kinase-2 (Lagresle-Peyrou et al, 2008).

#### **1. Origine des distorsions acoustiques dans l'oreille interne**

(Elisabeth Verpy, Dominique Weil, Michel Leibovici, Carine Houdon, Jean-Pierre Hardelin, Christine Petit ; en collaboration avec Paul Avan, Richard J. Goodyear, Guy P. Richardson, Ghislaine Hamard) (Verpy et al, 2008)

C'est dans la cochlée que les messages sonores sont convertis par les cellules sensorielles auditives en dépolarisations qui libèrent le neurotransmetteur, créant une activation des neurones auditifs qui se propage jusqu'au cortex. Pour ce faire, les cellules ciliées externes amplifient les vibrations sonores tout en les filtrant pour éliminer les sons parasites. Toutefois, le traitement ainsi appliqué au son engendre des distorsions des ondes acoustiques considérables, au point d'être audibles sous forme de sons supplémentaires connus sous le nom de sons de Tartini, du nom du violoniste du XVII<sup>e</sup> siècle qui les décrivit. Parce que l'oreille les réémet, ces sons de Tartini servent à dépister les surdités dès la naissance. En effet, leur absence traduit la lésion des cellules ciliées externes, presque toujours accompagnée de celle des cellules ciliées internes, authentiques cellules sensorielles.

Jusqu'ici on pensait que toutes les performances des cellules ciliées externes, amplification, filtrage des sons parasites, et distorsion, étaient dues à leurs canaux de transduction mécano-électrique pour lesquels la courbe courant/déplacement est sigmoïde. Nous avons montré, dans un travail mené en collaboration avec le Pr Paul Avan (Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand), que ce n'est probablement pas exact. Chez des souris dont le gène qui code la stéréociline a été inactivé, il existe, avant l'apparition du déficit de l'acuité auditive, une courte période durant laquelle les cellules ciliées externes amplifient et filtrent normalement le son ; leurs canaux de transduction sont donc normaux, et pourtant elles ne distordent plus le son. Toute marque de distorsion des ondes a disparu : un son pur ne produit plus d'harmoniques ; aucune distorsion, électrique ou acoustique, n'est décelable. Chez ces souris mutantes, l'effet de masquage sonore est très diminué : en présence d'un mélange de sons, les diverses composantes du mélange coexistent alors que normalement, les plus intenses empêchent les plus faibles d'être perçues par le système auditif. La perception des sons complexes chez ces souris mutantes est sans doute gravement perturbée.

Nous avons observé que la stéréociline est un composant de liens latéraux apicaux de la touffe ciliaire des cellules ciliées externes. Ces liens, dits *top connectors*, sont, avec le *tip link*, les seuls présents dans la touffe ciliaire adulte. Ceci nous a conduit à proposer que l'origine des distorsions acoustiques se tient dans les contraintes que ces liens latéraux imposent à la touffe ciliaire. Ils permettraient à une rigidité non-linéaire de la touffe ciliaire, autre que celle du canal de transduction mécano-électrique, de se manifester sous la forme de distorsions d'ondes. Une explication alternative serait que l'absence de ces liens déplace le « point d'opération » de la touffe ciliaire dans une zone de fonctionnement linéaire.

## **2. Un nouveau mécanisme responsable de la surdité liée à l'exposition au bruit**

(Amel Bahloul, Vincent Michel, Michel Leibovici, Jean-Pierre Hardelin, Dominique Weil, Christine Petit ; en collaboration avec Paul Avan)  
(Bahloul et al, soumis pour publication)

Nous avons découvert, il y a quelques années, une nouvelle protéine des jonctions d'adhérence, la vézatine (Küssel-Andermann et al, 2000). Nous venons de définir sa topologie par une analyse biochimique. Elle comporte deux domaines transmembranaires très proches l'un de l'autre, et ses régions N- et C-terminales sont cytoplasmiques. Dans la cochlée, l'immunoréactivité de la vézatine aux jonctions entre les cellules ciliées et les cellules de soutien augmente entre le 4<sup>e</sup> et le 16<sup>e</sup> jour après la naissance, chez la souris. Nous avons observé, par immunomarquage de cellules MDCK, que la vézatine ne participe pas à la formation de leurs jonctions ; elle n'est recrutée aux jonctions que tardivement. Des doubles marquages réalisés sur des cochlées matures ont montré une colocalisation de la vézatine avec la radixine, la  $\beta$ -caténine et la caténine p120, aux jonctions entre cellules ciliées externes et cellules de Deiters. Vézatine et radixine

co-précipitent dans des extraits protéiques cochléaires. Cependant, lorsque la radixine porte une mutation qui l'empêche de se lier aux filaments d'actine en raison d'un changement de conformation, la radixine ne co-précipite plus avec la vézatine. La vézatine interagit donc directement avec la forme « active » de la radixine. Cette dernière pourrait donc permettre de lier la vézatine aux filaments d'actine des jonctions cellulaires.

Pour étudier le rôle de la vézatine aux jonctions entre les cellules ciliées cochléaires et leurs cellules de soutien, nous avons généré des souris mutantes chez lesquelles le gène est délété uniquement dans les cellules sensorielles (la délétion ubiquitaire est létale). Chez les souris mutantes, les seuils auditifs ne sont pas différents de ceux des animaux témoins jusqu'à la 7<sup>e</sup> semaine. L'étude morphologique de la cochlée ne détecte aucune anomalie jusqu'à cet âge. Cependant, après une exposition d'une minute à un son de 105 dB, les souris mutantes deviennent irréversiblement sourdes. Les souris sauvages, soumises à cette même stimulation sonore, ont une altération de leur seuil auditif de l'ordre de 10 dB, suivie d'un retour à une audition normale. Diverses anomalies de la touffe ciliaire apparaissent chez les souris mutantes, accompagnées d'une perte massive de cellules ciliées, qui touche principalement les cellules ciliées externes. Les cellules de l'apex de la cochlée sont peu atteintes par la perte cellulaire induite par l'exposition au bruit. Les souris mutantes non exposées au bruit développent, après 7 semaines, une surdité progressive spontanée, qui augmente jusqu'à atteindre une perte de 110 dB à 24 semaines. Cette surdité est due à une mort cellulaire touchant les cellules ciliées, d'abord les cellules ciliées externes, qui disparaissent de la base de la cochlée (en accord avec la perte auditive qui porte sur les hautes fréquences), puis de l'ensemble de la cochlée (24 semaines).

Ce travail a dévoilé le rôle des jonctions cellulaires des cellules sensorielles dans la surdité induite par le bruit, et le rôle de la vézatine dans la résistance au stress mécanique. De surcroît, nous avons observé que les produits de distorsion ont un seuil qui est affecté avant celui de l'audition. Ceci est une autre manifestation de la dissociation qui peut exister entre amplification et distorsion.

### **3. Rôle de l'harmonine dans la transduction mécano-électrique auditive**

(Nicolas Michalski, Vincent Michel, Gaele Lefèvre, Dominique Weil, Christine Petit ; en collaboration avec Pascal Martin, Institut Curie)  
(Michalski et al., soumis pour publication)

Nous avons montré chez la souris qu'à partir du jour 5 après la naissance (P5), l'harmonine-b est localisée au niveau du point supérieur d'insertion du lien apical dans le stéréocil (Lefèvre et al, 2008). De plus, l'harmonine peut interagir directement *in vitro* avec la protocadhérine-15 et la cadhérine-23, qui constitueraient le lien apical. Nous avons étudié le rôle de l'harmonine, et plus particulièrement des isoformes b, dans la transduction mécanoélectrique et l'adaptation en mettant à profit deux modèles murins : une souris dont le gène de l'harmonine a été inactivé

(*Hmn*<sup>-/-</sup>), et une souris mutante *Dfcr-2J/Dfcr-2J*, défectueuse uniquement pour les isoformes b de l'harmonine. Les résultats obtenus, et leur modélisation effectuée en collaboration avec Pascal Martin (Institut Curie), nous ont permis de conclure que l'harmonine-b se comporte comme le ressort dont l'existence a été postulée pour rendre compte des limites de l'étendue de l'adaptation. Ces données prédisent de plus une liaison de l'harmonine-b aux moteurs d'adaptation. Or, nous avons mis en évidence une interaction directe entre l'harmonine et la myosine VIIa, moteur moléculaire que des expériences antérieures ont impliqué dans l'adaptation.

#### 4. Identification d'un gène responsable de la presbyacousie

(Dominique Weil, Anne Auboïs, Anne-Laure Roudevitch, Christine Petit)

L'étude de formes familiales de presbyacousie, par analyse de liaison génétique portant sur l'ensemble du génome (en collaboration avec le Centre National de Génotypage) nous a permis d'identifier un locus impliqué. Par séquençage des gènes de cette région, nous avons trouvé des mutations dans l'un d'eux. Alors que tout paraissait indiquer que cette surdité devait être mise sur le compte d'un désordre métabolique, des résultats récents nous incitent à penser que, contre toute attente, cette surdité est à mettre en rapport avec une synthèse *in situ* de ce métabolite par les cellules sensorielles elles-mêmes. Elles en expriment également le récepteur, ce qui indique l'existence d'un mécanisme autocrine.

#### Références

Bahloul A., Simmler M.-C., Michel V., Leibovici M., Perfettini I., Roux I., Weil D., Nouaille S., Zuo J., Avan P., Hardelin J.-P., Petit C. Vezatin, an integral membrane protein of adherens junctions, is required for sound-resilience of cochlear hair cells. *EMBO Mol Med* (submitted).

Küssel-Andermann P., El-Amraoui A., Safieddine S., Nouaille S., Perfettini I., Lecuit M., Cossart P., Wolfrum U., Petit C. (2000) Vezatin, a novel transmembrane protein, bridges myosin VIIA to the cadherin-catenins complex. *EMBO J.*, 19, 6020-6029.

Lefèvre G., Michel V., Weil D., Lepelletier L., Bizard E., Wolfrum U., Hardelin J.-P., Petit C. (2008) A core cochlear phenotype in USH1 mouse mutants implicates fibrous links of the hair bundle in its cohesion, orientation and differential growth. *Development*, 135, 1427-1437.

Verpy E., Weil D., Leibovici M., Goodyear R.J., Hamard G., Houdon C., Hardelin J.-P., Richardson G.P., Avan P., Petit C. (2008) Stereocilin-deficient mice reveal the origin of cochlear waveform distortions *Nature*, 456, 255-258.

Michalski N., Michel V., Lefèvre G., Caberlotto E., Tinevez J.-Y., Bizard E., Weil D., Martin P., Petit C. The adaptation process of mechano-electrical transduction in hair cells involves harmonin-b, an actin-binding scaffold protein. *Nature Neurosci.* (submitted).

## PUBLICATIONS DU LABORATOIRE (2007-2008)

**2008**

Lagresle-Peyrou C., Six E.M., Picard C., Rieux-Laucat F., Michel V., Ditadi A., Demerens-de Chappedelaine C., Morillon E., Valensi F., Simon-Stoos K.L., Mullikin J.C., Noroski L.M., Besse C., Wulffraat N., Ferster A., Abecasis M.M., Calvo F., Petit C., Candotti F., Abel L., Fischer A. et Cavazzana-Calvo M. (2008) Human adenylate kinase 2 deficiency causes a profound haematopoietic defect. *Nature Genet* (sous presse).

Legendre K., Safieddine S., Küssel-Andermann P., Petit C. et El-Amraoui A. (2008)  $\alpha$ II $\beta$ V spectrin bridges the plasma membrane and cortical lattice in the lateral wall of the auditory outer hair cells. *J Cell Sci* 121, 3347-3356.

Verpy E., Weil D., Leibovici M., Goodyear R.J., Hamard G., Houdon C., Hardelin J.-P., Richardson G.P., Avan P. et Petit C. (2008) Stereocilin-deficient mice reveal the origin of cochlear waveform distortions *Nature*, 456, 255-258.

Bourg M., Safieddine S, Roux I, Bouleau Y, Petit C et Dulon D (2008) Calcium- and otoferlin-dependent exocytosis by immature outer hair cells. *J Neurosci* 28, 1798-803.

Hilgert N., Alasti F., Dieltjens N., Pawlik B., Wollnik B., Uyguner O., Delmaghani S., Weil D., Petit C., Danis E., Yang T., Pandelia E., Petersen M., Goossens D., Favero J., Sanati M., Smith R. et Van Camp G. (2008) Mutation analysis of TMC1 identifies four new mutations and suggests an additional deafness gene at loci DFNA36 and DFNB7/11. *Clin Genet* 74, 223-32.

Jones C., Roper V.C., Foucher I., Qian D., Banizs B., Petit C., Yoder B. et Chen P. (2008) Ciliary proteins link basal body polarization to planar cell polarity regulation. *Nature Genet* 40, 69-77.

Lefèvre G., Michel V., Weil D., Lepelletier L., Bizard E., Wolfrum U., Hardelin J.-P. et Petit C. (2008) A cochlear core phenotype in USH1 mouse mutants implicates fibrous links of the hair bundle in its cohesion, orientation, and differential growth. *Development* 135, 1427-37.

Yanicostas C., Ernest S., Dayraud C., Petit C. et Soussi-Yanicostas N. (2008) Essential requirement for zebrafish anosmin-1a in the migration of the posterior lateral line primordium. *Dev Biol* 320, 469-79.

El-Amraoui A., Bahloul A. et Petit C. (2008) Myosin VII. In *Myosins: A Superfamily of Molecular Motors*, ed. Coluccio LM, pp. 353-73. New York : Springer.

**2007**

Cohen-Salmon M., Regnault B., Cayet N, Caille D., Demuth K., Hardelin J.-P., Janel N., Meda P. et Petit C. (2007) Connexin30 deficiency causes intrastrial fluid-blood barrier disruption within the cochlear stria vascularis. *Proc Natl Acad Sci USA* 104, 6229-6234.

Etournay R., Zwaenepoel I., Perfettini I., Legrain P., Petit C. et El-Amraoui A. (2007) Shroom2, a myosin-VIIa- and actin-binding protein, directly interacts with ZO-1 at tight junctions. *J Cell Sci* 120, 2838-50.

Hoskins B.E., Cramer C.H., Silvius D., Zou D., Raymond R.M., Orten D.J., Kimberling W.J., Smith R.J., Weil D., Petit C., Otto E.A., Xu P.X. et Hildebrandt F. (2007) Transcription factor SIX5 is mutated in patients with Branchio-Oto-Renal syndrome. *Am J Hum Genet* 80, 800-804.

Hyenne V., Souilhol C., Cohen-Tannoudji M., Cereghini S., Petit C., Langa F., Maro B. et Simmler M.C. (2007) Conditional knock-out reveals that zygotic vezatin-null mouse embryos die at implantation. *Mech Dev* 124, 449-462.

Michalski N., Michel V., Bahloul A., Lefèvre G., Barral J., Yagi H., Chardenoux S., Weil D., Martin P., Hardelin J.-P., Sato M. et Petit C. (2007) Molecular characterization of the ankle link complex in cochlear hair cells and its role in the hair bundle functioning. *J Neurosci* 27, 6478-6488.

## ENSEIGNEMENT

### *Enseignement au titre du Collège de France*

#### 1.a. Cours au Collège de France (6 heures)

Les jeudis 14 février, 13, 20 et 27 mars 2008 :

**Traitement des signaux acoustiques : de la cellule sensorielle auditive au complexe olivaire supérieur**

Jeudi 14 février 2008

Cours : **Physiologie moléculaire de la transduction mécano-électrique auditive : actualités**

Séminaire : **Pascal Martin** (Laboratoire PCC-CNRS UMR 168, Institut Curie, Paris) : **Mouvements actifs de la touffe ciliaire des cellules mécano-sensorielles ciliées de l'oreille interne**

Jeudi 13 mars

Cours : **Les voies auditives afférentes et leurs relais**

Séminaire : **Paul Avan** (Laboratoire de Biophysique Sensorielle, Clermont-Ferrand) : **Les distorsions cochléaires : essentielles à la perception auditive, mais de quelles origines ?**

Jeudi 20 mars

Cours : **Le codage de la stimulation sonore en fréquence et en intensité**

Séminaire : **Paul Fuchs** (Johns Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, USA) : **Time and intensity coding by the hair cell's ribbon synapse**

Jeudi 27 mars

Cours : **Plasticité synaptique dans les voies auditives**

Séminaire : **Christian Lorenzi** (Psychologie de la Perception-Audition, Ecole Normale Supérieure, Paris) : **Effets de lésions cochléaires sur la perception de la parole**

#### 1.b. Cours en province

Professeur invité : **Jean-Louis Mandel** (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, IGBMC, Strasbourg).

Faculté de Médecine, 29 mai 2008 : **Surdités héréditaires: qu'avons-nous appris par l'identification des gènes impliqués ?**

IGBMC, 30 mai 2008 : **Understanding molecular and cellular mechanisms of hearing: what can deafness genes teach us.**

### 1.c. Cours à l'étranger :

Uppsala - Suède (1 heure), 10 juin 2008 ; Professeur invitante : Ulf Pettersson (Rudbeck laboratory, University, Uppsala, Suède) : **Human hereditary deafness: beyond the genes, the path to the mechanisms of hearing.**

### 2. Enseignements autres

**M2 Génétique Humaine et Neurobiologie (Erasmus)**, Université Paris 7, déc 2007 : « Hereditary sensory defects ».

### Thèses

Raphaël Étournay, Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, 12-12-2007 : « Surdités héréditaires : rôles de la myosine VIIa dans le développement de la cellule sensorielle auditive ».

Nicolas Michalski, Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, 4-7-2008 : « Cochlear mechano-electrical transduction : identification and functional characterisation of its components ».

### PRINCIPAUX SÉMINAIRES ET CONFÉRENCES SUR INVITATION 2007-2008

*From Molecules to Cognition - a tribute to Jean-Pierre Changeux*, International congress. Institut Pasteur, Paris, 15-17 Sept 2007 : « Hereditary deafness and molecular physiology of hearing ».

Canadian College of Medical Geneticists Congress. Vancouver, Canada, 16 Nov 2007: « Human hereditary deafness: from genes to pathogenesis ».

*Force-Gated Ion Channels: From Structure to Sensation*. HHMI Janelia Farm Research Campus, Ashburn, USA, 18-21 May 2008 : « Fibrous links of the hair bundle : structure and function enlightened by human deafness genes ».

International Symposium on Biotechnology. Sfax, Tunisia, 4-8 May 2008 : « From human hereditary deafness to the cellular and molecular mechanisms of hearing ».

Faculté de Médecine, Strasbourg, 29 mai 2008 : « Surdités héréditaires : qu'avons-nous appris par l'identification des gènes impliqués ? ».

IGBMC, Strasbourg, 30 May 2008 : « Understanding molecular and cellular mechanisms of hearing : what can deafness genes teach us ».

Rudbeck laboratory - Faculty of Medicine, University Uppsala, Sweden, 10 June 2008. Invited by Pr Ulf Pettersson : « Human hereditary deafness: beyond the genes, the path to the mechanisms of hearing ».

Karolinska Institutet, Stockholm, 12 June 2008, Invited by Pr Mats Ulfendahl : « Human hereditary deafness : From genes to the mechanisms of hearing ».

NHS2008 Conference, *Beyond Newborn Hearing Screening : Infant and Childhood Hearing in Science and Clinical Practice*. Cernobbio (Como), Italy, 19-21 June 2008 : « Hereditary auditory neuropathies : from the genes to the pathogenesis ».

International Congress on Systems Biology, *Systems biology of Hearing*, Göteborg, Sweden, 27 August 2008 : « Multidisciplinary experimental approaches and modelling of sensory hair bundle functioning ».

Centre de Recherche des Cordeliers, Université Pierre-et-Marie Curie, Paris, 5 sept 2008 : « Surdités héréditaires : comment les gènes impliqués éclairent la physiologie auditive ».

Institut interdisciplinaire des Sciences du Vivant des Saints-Pères, Université Paris Descartes, Paris, 15 sept 2008 : « Comment les surdités héréditaires humaines éclairent la physiologie moléculaire du système auditif ».

### **Organisation de symposia et colloques**

« *From Molecules to Cognition - a tribute to Jean-Pierre Changeux* », International congress. Institut Pasteur, Paris, 15-17 sept 2007.

Colloque Institut de la Vision-département de Neurosciences de l'Institut Pasteur, Paris, 16 oct 2007.

Réunion RTRS (Réseau Thématique de Recherche et de Soins), Audition, Paris, 29 oct 2007.

International Congress on Systems Biology, *Systems biology of Hearing*, Göteborg, Sweden, 27 August 2008 : « Multidisciplinary experimental approaches and modelling of sensory hair bundle functioning ».

### **Conférences « Grand public »**

« *Mystères de la science biomédicale* », Institut Pasteur, Paris, 6 nov 2007.

« Surdité héréditaire : quelles avancées ? quelles perspectives ? ».

### **Colloques-débats**

Femmes d'Histoire - Femmes de sciences, Palais des Congrès et de la Culture, Le Mans, 27 jan 2008 : « Des femmes à la tête de la recherche ».

### **Conférences de presse**

Appear « From Lab to Life », European Parliament, Bruxelles, 27 June 2007, Bringing the results of European research to the society.

Fondation pour la Recherche Médicale, Paris, 25 sept 2007.