

## **Génétique et physiologie cellulaire**

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

### **COURS : AUDITION ET BRUIT, DE LA PHYSIOLOGIE À LA PATHOLOGIE**

Le thème des cours de l'année 2009-2010 « Audition et bruit, de la physiologie à la pathologie » a porté sur le fonctionnement du système auditif dans des conditions qui sont celles des environnements naturels des diverses espèces, conditions souvent contraignantes, voire adverses, qu'il s'agisse de l'expression simultanée de plusieurs locuteurs ou du bruit associé à l'activité professionnelle, à certains loisirs, et à la densité croissante des populations dans les mégapoles urbaines. Le cours s'est ensuite intéressé aux atteintes de l'audition liées au bruit.

### **Sons de parole et bruit : masquage et débruitage des signaux acoustiques par le système auditif**

Le premier cours s'est intéressé aux bases physiologiques du traitement du signal auditif dans les voies afférentes (de la cochlée au cortex auditif), dans les conditions sus-citées. Le terme « bruit » a été utilisé pour désigner tout son qui contrarie la perception d'un message sonore. Il a été rappelé qu'un « bruit blanc » provient d'un processus aléatoire de combinaison d'un très grand nombre de fréquences de même puissance moyenne (tout comme la lumière blanche). Le problème de l'écoute dans des environnements sonores contraignants n'est pas spécifique à l'espèce humaine ; quantité d'autres espèces animales y sont confrontées. Comment est-il résolu ? Certaines solutions sont apportées par l'émetteur, l'appareil phonatoire, d'autres par le récepteur, le système auditif.

La contribution de l'appareil phonatoire a été discutée. Dans de nombreuses espèces, la communication acoustique occupe une place essentielle : dans les rapports de domination (marquage du territoire par la proclamation du chant

territorial chez certains oiseaux), dans l'appel sexuel (le chant nuptial), dans la communication du jeune avec ses parents ou entre individus de l'espèce. Ceci inclut la communication des divers états émotionnels.

Beaucoup d'animaux vivent en colonies : grenouilles, otaries, manchots... Dans le laboratoire CNRS de Thierry Aubin à la faculté des sciences d'Orsay, des travaux particulièrement intéressants ont été effectués sur les grands manchots, le manchot empereur et le manchot royal, qui vivent au sein de colonies de plusieurs milliers d'individus, dans lesquelles le niveau sonore excède en moyenne 70 dB. Comment le membre du couple parti à la recherche de nourriture parvient-il, exclusivement par reconnaissance vocale du « chant de cour » émis par son partenaire, à le retrouver dans une telle cacophonie, tandis que ce dernier incube leur œuf ou élève leur poussin ? L'identification des paramètres des messages sonores qui portent la signature de l'identité vocale individuelle se fonde sur des études comportementales qui mettent en jeu la reconnaissance vocale. Le « chant de cour » enregistré est ré-émis en « *play back* » après en avoir ou non modifié une ou plusieurs caractéristiques. Les spectrogrammes de ces chants font apparaître leur modulation en intensité (amplitude des sons) et en fréquence, au cours du temps. La propagation de ces sons dans le milieu est également analysée. Ce « chant de cour », véritable empreinte vocale, à l'origine d'une reconnaissance infailible, ne comporte que cinq à six syllabes, séquences sonores d'environ une demi-seconde, riches en harmoniques (multiples entiers de la fréquence fondamentale). Leur spectrogramme montre que toutes les bandes de fréquence sont doublées : on parle de phénomène de « double voix ». Cette « double voix » augmente considérablement le nombre des combinaisons possibles des signaux fréquentiels, et diminue donc la probabilité de l'existence de deux signatures vocales identiques. Ces deux voix tiennent aux particularités de l'appareil phonatoire des oiseaux, le syrinx. Il se situe à la base de la trachée, et non à son sommet comme le larynx des mammifères. Dans cet organe vibratoire, comme dans le larynx, la pression de l'air venu des poumons est modulée par la vibration de membranes, créant ainsi des ondes de pression sonores. Or, chez certains oiseaux, la forme du syrinx est telle que sa partie droite et sa partie gauche peuvent vibrer indépendamment, et donc à des fréquences distinctes, d'où le phénomène de « double voix », présent chez les manchots empereurs et royaux. La signature vocale tient aussi à la modulation en fréquence (basses fréquences) des sons émis, qui est caractéristique de chaque individu. Une signature vocale unique est donc obtenue par la combinaison de la modulation en fréquence et de la double voix. Chez les manchots, la résistance au masquage produit par un bruit ambiant est telle qu'ils sont capables de discriminer un chant dont l'intensité est de 6 dB inférieure à celle du bruit environnant. Cette possibilité tient essentiellement à la redondance de l'information qui existe dans le message sonore ; les différentes syllabes sont répétées un grand nombre de fois. De plus, la localisation de la source émettrice est facilitée par la modulation en amplitude du message sonore. Si ces caractéristiques du son émis représentent une adaptation évolutive, d'autres types d'adaptation peuvent être observés lors d'un changement d'environnement, créant par exemple des bruits anthropogéniques. L'adaptation est

alors très rapide. Ainsi, le chant des mésanges charbonnières, oiseaux chanteurs (c'est-à-dire qui font l'apprentissage de vocalisations) se modifie en fonction du bruit environnant. Une étude effectuée en Hollande à Leiden (Slabbekoorn & Peet, 2003), a montré qu'il existe une corrélation entre la fréquence des sons émis par les mésanges et l'amplitude du bruit environnemental, qui est composé de sons de basse fréquence (la fréquence des sons émis par ces oiseaux s'élève avec l'intensité du bruit environnant). Les changements environnementaux pèsent considérablement sur la communication des oiseaux entre eux. Lorsqu'une région d'habitation se trouve morcelée par l'urbanisation, le chant des oiseaux s'appauvrit.

L'écoute dans les milieux absorbants ou au contraire réverbérants, tout comme l'écoute dans les milieux bruités sont de véritables défis pour le système auditif. La détection des signaux sonores dans le bruit assourdissant de la colonie des manchots est une situation que l'on retrouve chez l'homme sous le nom d'effet « *cocktail party* ». L'intensité sonore d'une conversation normale est de l'ordre 40 dB SPL et celle d'une conversation animée de l'ordre de 60 dB. Les caractéristiques des sons de parole sont dictées par celles de l'appareil phonatoire humain. Les sons de parole proviennent d'une source, le flux d'air passant à travers les cordes vocales vibrantes. Les cordes vocales produisent une fréquence fondamentale et des harmoniques. Les sons produits par la vibration des cordes vocales passent ensuite à travers le tractus vocal, qui s'étend de la glotte aux lèvres. Ce dernier comporte 17 points d'articulation, susceptibles de former des cavités qui se comportent comme les résonateurs de Helmholtz. La fréquence du spectre qui correspond à la fréquence caractéristique d'une cavité est amplifiée (théorie « source-filtres » de la production de la parole). Le spectre des phonèmes provient de la mobilité des diverses articulations du tractus vocal, qui ne cesse de modifier la géométrie des cavités. La langue, particulièrement mobile, vient se coller régulièrement au palais, et crée aussitôt une variation très importante de la géométrie de la cavité buccale. Les voyelles phonétiques sont au nombre de seize. À l'exception du *i*, les voyelles ont des spectres riches en basses fréquences, car elles sont produites par un tractus vocal ouvert (comportement d'un tuyau ouvert). Les consonnes, au contraire, ont en règle générale des composantes fréquentielles plus élevées ; elles sont formées par un tractus vocal plus fermé, qui amplifie certaines fréquences aux dépens d'autres. La rapidité de la production des phonèmes n'est égalée par aucun instrument de musique dans la production de notes.

La reconnaissance des phonèmes s'appuie sur la reconnaissance de leurs formants, qui sont les harmoniques de la fréquence fondamentale dont l'intensité est la plus forte. La difficulté d'élaborer des algorithmes de reconnaissance des phonèmes et des syllabes indique que les fondements de leur reconnaissance sont encore mal compris. En 1995, Robert Shannon, s'appuyant sur le fait que la reconnaissance des phonèmes et des syllabes à travers les implants cochléaires dans un environnement silencieux est très bonne, alors même que la composante spectrale de la parole est considérablement appauvrie, a examiné systématiquement l'importance des composantes spectrale et temporelle dans la compréhension des sons de parole. Il a conclu au rôle majeur de la composante temporelle (variation

de l'amplitude des sons en fonction du temps, ou enveloppe sonore). Plus le spectre de parole est découpé en filtres fréquentiels nombreux, dont les fréquences sont à chaque instant moyennées avec assignation d'une amplitude qui correspond à la moyenne des amplitudes de chaque fréquence, meilleure est l'intelligibilité de la parole. Mais, de façon surprenante, si le spectrogramme des sons de parole est découpé par quatre filtres fréquentiels, et que de contenu spectral de chaque filtre est remplacé par un bruit « blanc » couvrant toute la largeur du filtre et modulé en amplitude comme l'est en moyenne la bande spectrale d'origine, presque toutes les consonnes et les voyelles sont encore reconnues. La reconnaissance de la parole dans les environnements silencieux est donc peu exigeante, et dans cette reconnaissance, la composante temporelle est essentielle.

Le problème de l'écoute de la parole dans le bruit a été posé dès 1937 par Fletcher. Le problème du masquage d'un son-test par un autre son s'apparente en fait à l'écoute des sons complexes (dans laquelle des composantes fréquentielles de forte intensité peuvent masquer celles de plus faible intensité). Fletcher soulignait la nécessité d'élaborer une « théorie du masquage » pour comprendre la façon dont les stimulations auditives complexes sont traitées. Cette théorie globale du masquage n'existe toujours pas. On dispose cependant d'informations quant à la façon dont les sons sont démasqués. Des mécanismes s'exercent à divers niveaux du système auditif. En 1953, Colin Cherry a repris ce problème sous le nom d'« effet *cocktail party* », désignant ainsi l'aptitude du système auditif à entendre dans le bruit. Comprendre les fondements de cette aptitude devait permettre d'élaborer des algorithmes de reconnaissance vocale performants dans les milieux naturels.

La question de l'écoute dans le bruit, ou de l'écoute d'un locuteur en présence de plusieurs autres, a amené les psychoacousticiens à rechercher quels sont les indices dans les messages sonores qui vont conduire à assigner un ensemble de sons à une même source, c'est-à-dire à les intégrer dans un même message, et à séparer cette source des autres sources sonores. Le bruit est alors considéré comme provenant lui aussi d'une source qui doit être distinguée des sources sonores d'intérêt. Comme le souligne Bregman dans son ouvrage portant sur l'analyse de scènes sonores, le système auditif opère des intégrations séquentielles et des intégrations simultanées. Ces dernières réfèrent au groupement des différentes composantes du spectre fréquentiel qui peuvent être assignées à une même source. Le premier élément de l'intégration simultanée est l'harmonicité. Elle est fondée sur la sensation de hauteur sonore (en anglais, *pitch*). Qu'il s'agisse de la parole ou de la musique, la sensation de hauteur sonore repose sur la perception de la fréquence fondamentale. La détection de la fréquence fondamentale repose elle-même sur le regroupement des harmoniques qui est effectué au niveau du système auditif central. Des fréquences sonores différentes peuvent conduire à la perception d'une même hauteur sonore. Ainsi, la fréquence fondamentale qui est extraite d'un son harmonique composé des fréquences 100, 200, et 300 Hz, est 100 Hz. Si une bande de bruit, de fréquences voisines de 100 Hz, remplace la fréquence 100 Hz dans ce spectre, c'est aussi un son de fréquence 100 Hz qui est perçu (son timbre est cependant différent de celui du son précédent). Si le son est composé de deux

fréquences, 300 Hz et 400 Hz, la fondamentale perçue est encore de 100 Hz, bien qu'elle soit absente du signal. Cette détection de la fondamentale manquante est sollicitée dans les échanges téléphoniques. En effet, les fréquences fondamentales de la voix humaine, principalement masculine, ne sont pas transmises par le téléphone. L'interlocuteur les perçoit cependant par reconstruction de la fréquence manquante. Cependant, seules les fréquences fondamentales inférieures à 800 Hz peuvent être extraites. Cette propriété du système auditif est très robuste. Elle demeure notamment lorsqu'on supprime une des harmoniques du spectre. La fonction d'extraction de la fréquence fondamentale est ancestrale : on peut la tracer jusque chez le poisson rouge. Dans les milieux naturels, l'identification de la fréquence fondamentale a un rôle essentiel ; elle donne par exemple une idée du gabarit de l'agresseur : un gros animal a de longues cordes vocales et émet donc des fréquences basses. De plus, lorsque deux locuteurs sont proches, si les fréquences fondamentales de leurs voix sont éloignées, on peut facilement les distinguer. Ainsi, il est plus aisé de distinguer deux locuteurs qui s'expriment en même temps s'ils sont de sexe différent. L'ensemble des fréquences multiples de la fréquence fondamentale donne l'harmonicité des sons. L'indice d'harmonicité fait partie des éléments d'inférence inconsciente qui conduisent à attribuer ou non diverses fréquences à une même source sonore. La synchronie est un autre indice sur lequel se fondent regroupement et ségrégation des sons. Les fréquences dont l'apparition est simultanée sont groupées par le système auditif. Christopher Darwin et ses collaborateurs ont mis en évidence le rôle de la synchronie dans le regroupement des signaux auditifs. Ils ont montré que l'identité d'un phonème, d'une voyelle synthétique par exemple, pouvait être altérée lorsque l'une des harmoniques proches du pic du formant était présentée avant les autres. Quand une des composantes harmoniques est décalée dans le temps, elle est perçue comme détachée du spectre du formant.

La co-modulation en amplitude est un autre indice de regroupement des sons. Les sons naturels sont souvent des sons harmoniques à large bande qui fluctuent en intensité. Ces fluctuations de l'enveloppe sonore sont mises à profit pour écouter dans le bruit. Le phénomène de masquage par co-modulation fait intervenir la largeur de la bande fréquentielle du son masquant. Lorsque cette bande est large, la fluctuation simultanée en amplitude de toutes les fréquences masquantes permet de les intégrer dans un même objet sonore, et ainsi, de percevoir le son test.

La ségrégation des sons s'appuie aussi sur la localisation des sources sonores, qui a fait l'objet du cours de l'année précédente. Pourtant, il faut que la distance angulaire entre les locuteurs soit considérable pour que ce paramètre ait un effet sur l'écoute différentielle de deux locuteurs. Ceci s'expliquerait par le fait que le processus de localisation de la source sonore est peu rapide par rapport aux processus de « capture » de la synchronie et de l'harmonicité. Enfin, la notion de flux acoustique, qui avait été discutée par Daniel Pressnitzer dans sa conférence l'an dernier, a été rappelée pour illustrer un autre aspect du processus de groupement/ségrégation des sons. Soit deux sons A et B, de fréquences distinctes, émis successivement. Lorsque la différence de fréquence entre ces sons est faible

(un demi-ton par exemple), et que la vitesse de répétition du motif (ABA) qu'ils forment est lente, on entend comme un bruit de galop, et on a la sensation d'un seul flux acoustique cohérent. Si la différence de fréquence entre les sons A et B est importante (une dizaine de demi-tons, par exemple), et que la vitesse de répétition du motif est plus rapide, on a alors la perception de deux séquences acoustiques véritablement distinctes, de deux flux acoustiques, un phénomène perceptif dont on peut identifier la trace dès le noyau cochléaire. Un autre mécanisme de l'écoute dans les milieux bruités, l'écoute hors fréquence, n'a pas fait l'objet d'une analyse détaillée dans ce cours.

Après avoir examiné, en se fondant sur des tests psychoacoustiques, comment le système auditif central lève l'effet masquant des sons en utilisant plusieurs indices permettant le regroupement ou la ségrégation de leurs composantes fréquentielles, nous nous sommes intéressés au phénomène du masquage au niveau du système auditif périphérique, et à ses bases physiologiques. Les tests consistent en des évaluations objectives de la fonction auditive. Tandis que la plupart des effets centraux discutés reposent sur le traitement de sons complexes, les études qui portent sur le système auditif périphérique sont au contraire menées pour la plupart avec des sons purs. Ici, on ne considère pas les opérations de démasquage, mais plutôt comment le système auditif périphérique gère la réponse à différents sons reçus simultanément. Si l'un des sons est fait de bruit, la persistance de la réponse au son test s'apparente à un démasquage. De fait en « gommant » la réponse au bruit (ou à tout autre son faible), on accentue les contrastes entre les composantes du message sonore. Les mécanismes centraux servent de sentinelles dans l'étape suivante pour ségréger les intrus qui ont réussi à passer l'étape de filtrage du système auditif périphérique. Bernard Delgutte, en se fondant sur des enregistrements de réponses des neurones auditifs, distingue deux types de masquage : masquage « ligne occupée » (en anglais, « *line busy* »), et masquage « suppressif ». Dans les deux cas, le son test et le son masquant sont présentés simultanément. Dans le cadre expérimental de la mise en évidence du phénomène de « ligne occupée », le son masquant est excitateur : à lui seul, il produit des décharges de potentiels d'action sur les neurones auditifs. L'effet de « ligne occupée » s'observe lorsque la fréquence du son test et celle du son masquant sont proches, et que le son masquant est suffisamment intense par rapport au son test. Le son masquant va alors produire une réponse du neurone auditif dont la fréquence ne correspond pas à sa fréquence caractéristique, et les périodes réfractaires de la décharge neuronale sont alors responsables d'une désynchronisation de la réponse du neurone par rapport au son test. En quelque sorte, le son masquant « occupe la ligne » des neurones auditifs dont la fréquence caractéristique correspond à celle du son test. Dans le « masquage suppressif », le son masquant ne produit pas de réponse des neurones auditifs. Les bandes de fréquence occupées par le son test et le son masquant sont différentes. Le son masquant est intense et de très basse fréquence, hors des fréquences audibles, tandis que la fréquence du son test est, au contraire, audible. Le masquage suppressif est mal compris, et les explications proposées restent assez vagues : il pourrait être en rapport avec une violente agitation de la partition cochléaire créée par le son masquant, qui aurait pour conséquence

une modification de la sensibilité de l'ensemble de la cochlée au son test. Ce phénomène met de surcroît en évidence le fait que des sons intenses de basse fréquence, non audibles, peuvent perturber la réponse à des sons audibles.

Pour finir, nous avons discuté la participation des cellules sensorielles à deux phénomènes liés, celui de la production des distorsions acoustiques et celui du masquage suppressif qui permet à un son de masquer l'effet d'un son de plus faible intensité. Nous avons analysé un travail récent qui a permis d'identifier un mécanisme, lié à la présence de certains liens fibreux unissant les régions apicales des stéréocils de la touffe ciliaire des cellules ciliées externes (Verpy, *Nature*, 2008). En solidarissant les stéréocils de la touffe ciliaire, ces liens permettraient un travail collectif des canaux de transduction mécanoélectrique, comportant une coopérativité positive, qui distordrait le courant de transduction. L'exposé de Richard Chadwick qui a suivi a permis de discuter distorsion et masquage cochléaires.

### **Le système efférent : rôle dans le masquage et la protection contre le stress sonore**

Le deuxième cours a porté sur le système auditif efférent, son rôle dans le masquage sonore et la protection contre le stress sonore. En 1942 Grant L. Rasmussen découvre le système efférent auditif (dit aussi descendant), qu'il documente en 1946 par des travaux menés chez le chat. C'est dans cette espèce que la plupart des travaux pionniers seront ensuite effectués. En 1956, Robert Galambos rapporte les premiers éléments concernant le rôle physiologique du système efférent. Des avancées majeures seront ensuite réalisées par John Guinan, puis par Charles Liberman, sur le système efférent olivo-cochléaire médian. Robert Fettiplace étudiera ce système chez la tortue et le cochon d'Inde. Depuis une dizaine d'années, une approche génétique des propriétés de ce système est développée chez la souris par Paul Fuchs et Ana Belen Elgoyhen. Enfin, chez l'homme, le système efférent est principalement étudié par Lionel Collet à Lyon.

#### *Neuroanatomie du système auditif efférent*

Le système auditif efférent contrôle les informations transmises par les voies afférentes auditives, suite à une stimulation sonore. Ce contrôle s'exerce à différents niveaux le long des voies afférentes. Les effets de la plasticité du cortex auditif s'impriment ainsi jusque dans le traitement des signaux acoustiques par le système auditif périphérique (cochlée et neurones auditifs primaires). Le système auditif efférent comporte le système efférent olivocochléaire, qui s'inscrit dans une boucle courte, dont le trajet va de la cochlée au noyau cochléaire puis au complexe olivaire supérieur, puis, par le système efférent olivo-cochléaire, retourne à la cochlée. Le système auditif efférent comprend par ailleurs les efférences venues du cortex qui, directement ou indirectement (*via* le colliculus inférieur), modulent l'activité du système efférent olivo-cochléaire. S'y ajoutent des projections corticales qui modulent, pour certaines, l'activité du thalamus auditif, et pour d'autres, celle du noyau cochléaire.

Le système efférent olivo-cochléaire est composé de neurones dont les corps cellulaires se situent au niveau du complexe olivaire supérieur dans le tronc cérébral, et qui se projettent sur le système auditif périphérique. Le complexe olivaire supérieur est formé de noyaux majeurs, l'olive supérieure latérale, l'olive supérieure médiane et le noyau médian du corps trapézoïde, et d'autres noyaux de plus petite taille. La localisation des sources sonores de basse fréquence dans le plan horizontal met en jeu un circuit neuronal qui passe par l'olive supérieure médiane, lieu de l'intégration du délai temporel des ondes parvenant à l'une et l'autre oreille. Quant à l'olive supérieure latérale, elle est le lieu de l'intégration de l'intensité des signaux sonores parvenant à l'une et l'autre oreille, sur laquelle repose la localisation des sources sonores de haute fréquence dans le plan horizontal.

Le système efférent olivo-cochléaire se divise en un système olivo-cochléaire médian, ou système efférent médian, et en un système olivo-cochléaire latéral, ou système efférent latéral. Ils sont composés de 500 à 2 500 neurones selon les espèces. Ils diffèrent par le type des neurones qui les composent, leur taille, leurs trajectoires et leurs projections. Les corps cellulaires des neurones du système efférent médian sont de grande taille, multipolaires, localisés dans l'olive supérieure médiane, pour beaucoup dans le noyau ventral du corps trapézoïde, et pour d'autres dans les noyaux péri-olivaires, dorso-médians, ventro-médians. Leurs axones sont de très gros diamètre et myélinisés. Chez le chat, on estime à environ 500 le nombre de ces neurones. Les axones des trois quarts d'entre eux croisent la ligne médiane au niveau du plancher du 4<sup>e</sup> ventricule, cheminent dans le nerf vestibulaire (avec les axones du complexe olivo-cochléaire latéral) et se projettent sur la cochlée controlatérale où ils se terminent, au stade adulte, en formant de larges synapses (elles s'étendent sur environ trois micromètres) avec les cellules ciliées externes (CCE) (et durant l'embryogenèse sur la cellule ciliée interne, CCI). La distribution des fibres croisées et non croisées du système efférent médian n'est pas homogène le long de la cochlée, et varie d'une espèce à l'autre. Chez la souris, les fibres croisées innervent surtout une région qui répond aux fréquences de l'ordre de 10 kHz, et chez le chat, elles innervent la base de la cochlée, où les cellules répondent aux hautes fréquences. Leurs axones se divisent, à leur extrémité, en un grand nombre de branches, jusqu'à 80, qui forment des contacts synaptiques avec un grand nombre de CCE. Chaque neurone contrôle donc l'activité de CCE couvrant environ une octave, avec des variations d'une espèce à l'autre. Il existe de surcroît une hétérogénéité de taille des synapses formées dans certaines espèces : ainsi chez le chat, elles sont beaucoup plus larges sur la première que sur la troisième rangée des CCE. La signification de cette hétérogénéité est inconnue.

Le système olivo-cochléaire latéral comporte davantage de neurones que le système olivo-cochléaire médian. La plupart de ses neurones sont localisés dans l'olive supérieure latérale (neurones intrinsèques), et ont un corps cellulaire de petite taille. D'autres neurones (neurones en coquillage) sont situés dans les noyaux autour de l'olive supérieure latérale, les noyaux péri-olivaires dorsaux ou le noyau latéral du corps trapézoïde, et ont des corps cellulaires de grande taille. Les neurones intrinsèques n'ont quasiment pas d'extension dendritique hors de l'olive supérieure



latérale, alors que les neurones péri-olivaires ont des extensions vers d'autres noyaux du complexe olivaire. Les axones du système olivaire latéral ne sont pas myélinisés. Ils sont de petite taille, et leur activité électrique est difficile à enregistrer. Les fibres du système efférent latéral se projettent, pour 90 % d'entre elles, du côté ipsilatéral. Les axones des neurones intrinsèques, à leur entrée dans la cochlée, forment des branches dispersées qui se projettent sur les neurones afférents des CCI (afférences de type I). Ceux des neurones péri-olivaires entrent dans la cochlée, se dirigent vers la base ou l'apex de la cochlée, et forment de très grandes arborisations diffuses sur les neurones afférents des CCI. Le nombre des projections sur une fibre unique est très variable, et peut atteindre une cinquantaine. Il semble que cette innervation diffuse porte surtout sur les neurones afférents qui ont un taux élevé de décharge spontanée (bas seuil de réponse). Au total, le son entrant dans une oreille exerce principalement un rétro-contrôle sur l'activité de l'oreille ipsilatérale : on parle de réflexe ipsilatéral. En effet, dans le système efférent médian, c'est principalement l'olive supérieure médiane controlatérale à l'oreille réceptrice du son qui est stimulée ; et la majorité de ses fibres efférentes ont elles aussi une trajectoire croisée. Dans le système efférent latéral, c'est l'olive supérieure latérale ipsilatérale à l'oreille réceptrice du son qui est majoritairement stimulée, et ses fibres efférentes ont presque toutes une projection ipsilatérale. Chez l'homme, le fonctionnement du système efférent est apprécié par la modification de la réponse à un son que produit la présentation d'un autre son à l'oreille controlatérale (réponse neuronale et otoémissions acoustiques). Ces tests explorent donc le réflexe controlatéral, c'est-à-dire, dans le système efférent médian, le circuit qui, de la cochlée, se projette sur l'olive supérieure médiane controlatérale, puis *via* les fibres efférentes non croisées de ce système, sur la cochlée controlatérale.

Le neuromédiateur du système efférent médian est l'acétylcholine, qui stimule des récepteurs situés à la base des CCE. Certains neurones de ce système libèrent aussi du GABA (qui se lie à un récepteur de type A sur les CCE et les neurones auditifs afférents) et un peptide dit CGRP (*calcitonin gene-related peptide*). Des données suggèrent cependant que certaines terminaisons axonales pourraient libérer les trois types de neurotransmetteurs/neuromodulateurs. Quant au système efférent latéral, ses neurones intrinsèques libèrent de l'acétylcholine ainsi qu'un grand nombre d'autres neuromédiateurs (GABA, enképhalines, CGRP, dynorphine) ; les neurones en coquillage (qui contrôlèrent surtout l'activité des neurones auditifs afférents de type I répondant aux fréquences élevées) libèrent de la dopamine.

Le cours s'est concentré sur le système olivo-cochléaire. Il convient cependant de souligner que le contrôle cortical de ce système est bien établi, chez l'animal comme chez l'homme, par les modifications de la réponse des CCE (otoémissions acoustiques) obtenues par la stimulation du cortex auditif, la latéralisation fonctionnelle de ce système (plus actif chez les droitiers sur l'oreille droite, et sans asymétrie fonctionnelle, ou plus actif sur l'oreille gauche chez les gauchers), et la modulation de la réponse des neurones auditifs et des CCE bien plus prononcée chez les musiciens que chez les non-musiciens. Si le contrôle cortical direct ou indirect (*via* le colliculus inférieur) du système efférent médian est bien établi, celui du système efférent latéral est en revanche peu documenté.

*Physiologie du système efférent olivo-cochléaire médian et bases moléculaires de son fonctionnement*

Le rôle du système efférent olivo-cochléaire médian est bien mieux compris que celui du système efférent olivo-cochléaire latéral. En 1956, Robert Galambos montre que la stimulation électrique du système efférent au niveau du plancher du quatrième ventricule modifie la réponse des neurones afférents auditifs : les potentiels d'action composites (PAC), ou potentiels d'action globaux, qui correspondent à la réponse synchronisée de l'ensemble des neurones auditifs, ont une amplitude réduite. En 1970, avec la même approche expérimentale, une élévation du seuil de réponse de ces neurones après la même stimulation est décrite. Puis il est observé que l'accord en fréquence de la réponse neuronale se détériore après stimulation du système efférent, toujours selon le même protocole expérimental. Ces conclusions ont été étendues à la tortue (Crawford & Fettiplace en 1980 et Art & Fettiplace en 1984). La stimulation du plancher du 4<sup>e</sup> ventricule porte à la fois sur les fibres croisées du système efférent médian et sur celles du système efférent latéral, majoritaires pour les premières et minoritaires pour les secondes dans leurs systèmes respectifs. À partir de 1987, la dissociation des effets du système efférent médian et du système efférent latéral est entreprise. Dans une démarche pionnière, Gifford & Guinan (1987, 1988) comparent la réponse obtenue après stimulation des fibres efférentes au plancher du 4<sup>e</sup> ventricule ou après stimulation directe des noyaux supérieurs olivaires médians. Ils montrent que les effets obtenus par l'une ou l'autre stimulation sont les mêmes : baisse du taux de décharge des neurones afférents, qu'elle soit spontanée ou induite par le son, baisse de la sensibilité de la réponse neuronale, baisse de la sélectivité fréquentielle. De ce fait, l'idée que les effets que l'on détectait par la stimulation du plancher du 4<sup>e</sup> ventricule étaient à rapporter au système efférent médian s'est progressivement imposée.

Comme le système efférent médian innerve les CCE, tous les effets observés sur les neurones afférents reflètent donc la modulation de l'activité de ces cellules. La stimulation du système efférent médian seul, modifie de fait le seuil de détection des produits de distorsion acoustique et leur amplitude. Cette baisse d'amplitude correspond à une baisse de l'intensité sonore de stimulation d'environ 4 dB. Quant à la baisse de fréquence des décharges de potentiels d'action sur le nerf auditif, observée dans les mêmes conditions, elle correspond à une baisse d'intensité sonore de l'ordre de 10 dB. La stimulation du système efférent médian diminue également l'amplitude du déplacement de la membrane basilaire, qui est directement liée à l'activité des CCE. Cette réduction est surtout importante à l'emplacement dont la fréquence caractéristique correspond à la fréquence du son incident. La stimulation du système efférent médian diminue donc le gain de l'amplificateur cochléaire, d'où la baisse de la finesse de l'accord en fréquence de la réponse neuronale. Avec un temps de réponse de l'ordre de 100 millisecondes, le système efférent médian modifie l'activité d'amplification des CCE.

Ce système olivo-cochléaire médian a un autre effet, découvert par Charles Liberman il y a une dizaine d'années. Cet effet apparaît après 25 à 50 secondes de

stimulation, sa constante de temps est donc de 3 à 4 ordres de grandeur supérieure à celle de l'effet rapide décrit ci-dessus. Cet effet lent est identique à l'effet rapide : réduction de l'amplitude des produits de distorsion, inhibition de la décharge spontanée des neurones afférents de type I, inhibition de leur décharge provoquée, et modification de leur courbe d'accord en fréquence. Cependant, la réponse de la membrane basilaire est différente. Sa réponse rapide à la stimulation du système efférent présente une avance de phase par rapport à la stimulation sonore, et sa réponse lente, un retard de phase. Il convient donc d'intégrer le rôle potentiel du système efférent dans les propriétés du système auditif qui mettent en jeu la détection de la phase.

Les effets du système efférent médian sur les CCE ont été reproduits chez le poulet par application d'acétylcholine sur leurs petites cellules sensorielles. L'organe sensoriel auditif de poulet, la papille basilaire, comporte deux types de cellules sensorielles, grandes et petites : les premières sont apparentées aux CCI, les secondes aux CCE. L'application d'acétylcholine se traduit par un courant électrique biphasique : un courant entrant suivi d'un courant sortant. Le courant sortant disparaît si on injecte du BAPTA (un chélateur des ions  $\text{Ca}^{2+}$ ) dans la cellule ; il est donc dépendant des ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Le sens de ce courant s'inverse quand le potentiel de membrane est inférieur au potentiel d'équilibre du  $\text{K}^+$ , ce qui indique que ce courant est porté par le potassium. On sait aujourd'hui qu'il est médié par un canal potassique de faible conductance (canal SK). C'est le cas aussi chez les mammifères. Quant au courant calcique entrant, il est médié par un récepteur de l'acétylcholine. La pharmacologie de ce récepteur-canal est particulière. Il est bloqué par des antagonistes des récepteurs muscariniques ou nicotiques de l'acétylcholine. De plus, la nicotine a elle-même un effet antagoniste sur ce récepteur. L'acétylcholine hyperpolarise la CCE et inhibe l'amplification qu'elle produit : elle inhibe en particulier l'électromotilité de cette cellule. Le récepteur de l'acétylcholine impliqué est pentamérique, composé exclusivement de sous-unités de type  $\alpha$  : les deux types de sous-unités  $\alpha$  qui le composent sont sensibles à la bungarotoxine. Phylogénétiquement, elles sont apparues les premières durant l'évolution. Les expériences menées dans l'ovocyte de xénope ont montré que la sous-unité  $\alpha 9$ , la première identifiée en 1999, ne pouvait pas reproduire à elle seule l'ensemble des propriétés du récepteur observées dans les CCE. Une autre sous-unité a alors été identifiée :  $\alpha 10$ . Trois sous-unités  $\alpha 10$  et deux sous-unités  $\alpha 9$  composent ce canal. Lorsque ces sous-unités sont produites dans l'ovocyte de xénope, les caractéristiques des courants enregistrés reproduisent fidèlement celles des courants enregistrés dans les CCE. Le système efférent olivo-cochléaire médian est donc un système cholinergique aux propriétés tout à fait particulières, puisqu'il est inhibé par la nicotine, et que son récepteur est composé uniquement de sous-unités  $\alpha 9$  et  $\alpha 10$ . Autre singularité, cette innervation de type cholinergique se manifeste par un effet inhibiteur. Cet effet inhibiteur est attribuable à la sortie d'ions  $\text{K}^+$  à travers le canal de type SK, que déclenche l'entrée d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  par le récepteur de l'acétylcholine. La validation fonctionnelle du rôle de ce récepteur *in vivo* appelait l'inactivation des gènes correspondants. Chez les souris dont le gène qui code la sous-unité  $\alpha 9$  a été

inactivé, aucun phénotype auditif n'est observé. Les potentiels d'action composites des neurones afférents ne sont pas modifiés. Toutefois, l'innervation des CCE est anormale : tandis que chaque CCE est normalement innervée par plusieurs fibres efférentes, elle n'en reçoit plus qu'une seule chez les souris mutantes. De plus, une stimulation électrique au niveau du plancher du 4<sup>e</sup> ventricule ne produit pas les effets observés chez les animaux non-mutants. Pourtant, chez ces souris mutantes, on n'observe ni sensibilité particulière au traumatisme sonore, ni difficulté à l'écoute dans le bruit, contrairement à ce qui était attendu. Si ceci pouvait s'expliquer par le fait que l'inactivation génique avait été réalisée dans une lignée de souris particulièrement résistantes au bruit, la démonstration par voie génétique du rôle protecteur du système efférent médian contre le traumatisme sonore, et de son rôle dans l'écoute dans le bruit, restait donc à établir. Des souris porteuses de copies supplémentaires du gène qui code pour la sous-unité  $\alpha 9$  du récepteur de l'acétylcholine ont été produites. La fonction auditive de ces souris n'était en rien modifiée, mais elles étaient protégées contre les effets d'un stress sonore. Des modifications géniques ont ensuite été réalisées par introduction de mutations particulières, visant à bloquer le récepteur dans la configuration ouverte de son pore, ou du moins, à favoriser sa configuration ouverte. Dans ce modèle murin, il y avait un nombre accru d'efférences se terminant sur les CCE. L'amplitude des otoémissions acoustiques était réduite, un effet de protection contre le traumatisme acoustique était décelé, surtout net lorsque la stimulation acoustique était prolongée.

On dispose de beaucoup moins d'informations concernant la sous-unité  $\alpha 10$ . Chez la souris dont le gène correspondant a été inactivé, la baisse d'amplitude des otoémissions acoustiques et la protection contre le traumatisme acoustique ne sont plus observées. En 2002, un travail a été mené chez la souris, dont l'objectif était de tester l'existence de corrélations entre la susceptibilité au stress sonore et l'efficacité du système efférent médian (Foster, 2002). De fait, une très bonne corrélation a été observée entre le taux d'expression de la sous-unité  $\alpha 9$  et l'aptitude du système efférent médian à supprimer les otoémissions acoustiques et à assurer une protection contre les effets d'un stress sonore. La boucle « entrée du  $\text{Ca}^{2+}$  par le récepteur de l'acétylcholine, sortie du  $\text{K}^+$  par le canal SK » est une boucle de réponse rapide. Comment à l'inverse, le système efférent produit-il ses effets lents ? Beaucoup veulent faire jouer dans ce processus un rôle essentiel à des « citernes » localisées à la base des CCE. Ces citernes sont remplies de  $\text{Ca}^{2+}$ , et l'ouverture de leurs récepteurs ryanodine en présence d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  conduirait à une libération massive de cet ion, et à une sortie accrue d'ions  $\text{K}^+$  hors de la cellule, donc à une hyperpolarisation inhibitrice de la CCE. *Via* l'identification du récepteur de l'acétylcholine des CCE et de ses sous-unités  $\alpha 9$  et  $\alpha 10$ , une approche thérapeutique visant à prévenir la surdité liée à l'exposition aux bruits excessifs en activant ce récepteur est envisagée. Cette piste intéressante fait appel à une pharmacologie qui ne cesse de se développer. Subsiste le problème de la délivrance au long cours d'agents thérapeutiques dans la cochlée.

Paradoxalement, alors que le système efférent latéral est plus développé que le système efférent médian, son rôle est beaucoup moins bien compris. Les premières données ont été publiées en 2007 par le groupe de Charles Liberman. En pratiquant

une lésion stéréotaxique de l'olive supérieure latérale, où se trouvent la majorité des neurones intrinsèques, par une drogue cytotoxique, la mélittine, et en enregistrant les réponses des neurones auditifs afférents, ces chercheurs ont obtenu des effets qui ne deviennent significatifs que si l'on compare chez un même animal, les réponses du côté lésé et non lésé. Dans ces conditions, on peut mettre en évidence le fait que la destruction du système efférent latéral augmente l'excitabilité des neurones afférents de type I (ceux qui innervent les CCI). Le système efférent latéral a donc, comme le système efférent médian, un effet inhibiteur. Cet effet se manifeste également dans la sensibilité au stress sonore. Les animaux qui ont été soumis à une lésion de l'olive supérieure latérale ont une sensibilité accrue au stress sonore.

On peut résumer ainsi les fonctions du système auditif efférent :

1) protection de la cochlée contre les atteintes qui surviennent lors de l'exposition à des bruits forts (les effets décelés sont cependant modestes) ;

2) amélioration de l'écoute dans le bruit. Cette conclusion se fonde en particulier sur les expériences de section du faisceau olivaire au niveau du plancher du 4<sup>e</sup> ventricule qui montrent que, testée en présence de bruit masquant, la discrimination de l'intensité des sons, la discrimination des sons de parole, et la localisation de la source sonore sont affectées. Elle se fonde aussi sur la stimulation électrique de ce même faisceau, qui montre que les effets de masquage que produit le bruit sont diminués (effet anti-masquant du système efférent). Dans ces conditions, l'effet masquant du bruit est aussi amoindri lorsque ce dernier est présenté à la même oreille que le son test. Les effets du système efférent sur la réduction du masquage des sons par le bruit, que ce dernier soit présenté du même côté ou non que le son test, sont aussi observés chez l'homme ;

3) un effet central : en effet, il semble que le système efférent module la sensibilité cochléaire lors de tâches qui requièrent une attention sélective à des stimuli d'autres modalités sensorielles ;

4) un effet durant le sommeil : il existe des indications, encore préliminaires, pour penser que le système efférent intervient durant les états de sommeil ;

5) enfin, un effet sur l'équilibre qui existe entre la sensibilité au son de l'une et l'autre oreille, équilibre qui serait impliqué dans la localisation des sources sonores de haute fréquence dans le plan horizontal.

### **Les surdités dues au stress sonore : ces traumatismes sonores qui passent inaperçus**

Le 3<sup>e</sup> cours a porté sur les surdités dues au stress sonore. Dans un premier temps, le rôle de protection du réflexe acoustique contre le stress sonore a été discuté. Ce réflexe est déclenché par des stimulations sonores dont l'intensité est supérieure à 50 dB. Il est bilatéral, même si la stimulation est unilatérale. Il conduit à l'augmentation de la rigidité de la chaîne des osselets, donc à une augmentation de l'impédance de l'oreille moyenne. L'importance du réflexe acoustique varie d'une espèce à l'autre. Dans certaines espèces, il atténue le signal sonore de 10 à 20 dB. Chez l'homme, cette diminution n'est que de 5 à 10 dB. Ce réflexe a deux

caractéristiques essentielles : il ne porte que sur les fréquences basses, inférieures à 1,2 kHz, et sa mise en place est lente, environ 10 ms après le début de la stimulation sonore chez l'homme. L'effecteur de ce réflexe est principalement le muscle de l'étrier, dernier osselet de la chaîne des osselets, et à un moindre degré, le muscle du marteau, premier osselet de la chaîne. L'arc réflexe va de la cochlée au noyau cochléaire, puis aux neurones du nerf facial qui innervent les muscles des osselets. Cet arc réflexe emprunte un chemin qui passe aussi par le complexe olivaire avant la projection sur les neurones du nerf facial. Le délai de mise en place de ce réflexe n'est pas en faveur d'un rôle dans la protection contre le traumatisme sonore. En revanche, il est activé directement par le larynx, et se met en place avant même la production du son. On tend donc à lui faire jouer un rôle dans la protection des individus contre les traumatismes auditifs provenant de leurs propres émissions sonores. C'est ainsi que la chouette peut émettre des cris dont l'intensité est de 130 dB sans endommager son organe sensoriel auditif. Le réflexe acoustique serait donc principalement un réflexe autoprotecteur. Il est cependant possible qu'il joue d'autres rôles, encore inconnus. Enfin, dans le schéma de l'arc réflexe susmentionné, il convient de souligner que les projections qui passent par le complexe olivaire supérieur sont des projections ipsi- et contro-latérales, et que les projections de retour du complexe olivaire supérieur sur les neurones du nerf facial sont également ipsi- et contro-latérales, ce qui explique la bilatéralité du réflexe.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux traumatismes acoustiques. L'homme est sensible à une gamme de pressions sonores comprises entre 20  $\mu$ Pa et 20 Pa, (soit 0 à 120 dB SPL) (une augmentation de l'intensité sonore de 3 dB correspond à un doublement de l'intensité sonore). À 120 dB, le seuil de douleur est atteint. L'unité utilisée pour fixer les normes d'exposition au bruit est le décibel A (dB A). Elle prend en compte la sensibilité différente de l'oreille humaine à des sons de fréquences distinctes. Cette sensibilité est maximale pour les sons dont la fréquence est comprise entre 500 Hz et 4 kHz. L'atteinte du système auditif dépend de l'énergie sonore, c'est-à-dire du produit de l'intensité sonore par la durée de l'exposition. Les normes imposées en milieu professionnel sont de plus en plus contraignantes. Les directives européennes préconisent aujourd'hui une exposition inférieure à 80 dB pendant 8 heures par jour, 5 jours par semaine, 48 semaines par an, pendant 40 ans. Si l'intensité sonore est de 83, 86, 89, ou 92 dB, le temps d'exposition journalier ne pourra excéder 4, 2, 1, ou 1/2 heure. Le « Leq » (*equivalent continuous sound pressure level*) est une mesure de l'énergie reçue en niveau acoustique équivalent continu.

Lors d'une surstimulation sonore, une élévation temporaire du seuil auditif (TTS) ou fatigue auditive, peut être observée. En quelques jours (environ 4 jours), le seuil auditif peut revenir à sa valeur antérieure, mais tel n'est pas toujours le cas. Jusqu'ici, on pensait que la restauration du seuil auditif signifiait aussi le retour des performances auditives antérieures. Des données récentes (voir ci-dessous) remettent en question cette idée.

Pour des sons dont l'intensité excède 80 à 90 dB, la lésion se localise le long de l'axe tonotopique de la cochlée à un emplacement dont la fréquence caractéristique

est supérieure d'une demi-octave à la fréquence du son traumatisant (Mitchell & Vernon, 1977 ; Cody & Johnstone, 1981). Ce déplacement ou glissement fréquentiel de la sensibilité maximale de la réponse cochléaire en fonction de l'intensité sonore est observable sur la réponse de la membrane basilaire. La résonance du conduit auditif externe amplifie les sons dont la fréquence correspond à la fréquence de résonance propre du conduit auditif (Wiener et Ross, 1946 ; Show, 1974). Le gain énergétique lié à la résonance du conduit auditif externe porte sur les fréquences d'environ 3 ou 4 kHz pour sa première résonance, et sur les fréquences de 8 à 12 kHz pour sa seconde résonance. Ce gain énergétique peut excéder 20 dB. L'encoche observée sur l'audiogramme qui suit l'exposition à un bruit blanc intense affecte la perception des sons dont la fréquence se situe une demi-octave au-dessus des fréquences de résonance du conduit auditif externe.

La sensibilité au traumatisme acoustique varie avec l'âge. Des travaux effectués en 1977 chez le hamster par Bock et Saunders ont montré l'existence d'une période de sensibilité particulière, qui se situe juste à la fin de la période de maturation de l'organe sensoriel auditif (4<sup>e</sup> semaine de vie), et se poursuit jusqu'à la 8<sup>e</sup> semaine. Cette période de sensibilité particulière a été retrouvée dans d'autres espèces. En supposant que ce résultat soit transposable à l'homme, il suggère l'existence d'une période d'hypersensibilité sonore débutant *in utero* et se poursuivant jusqu'à l'adolescence.

Suite à un traumatisme sonore, la touffe ciliaire des cellules sensorielles est lésée. En quelques minutes, elle est désorganisée, et les liens de bout de cil (*tip-links*) peuvent se rompre. La mort des cellules sensorielles peut apparaître quelques jours plus tard. La strie vasculaire peut se gonfler, comprimant les vaisseaux cochléaires, ce qui induit la mort des fibrocytes et un envahissement par les cellules phagocytaires. Dans les cas extrêmes, l'épithélium sensoriel auditif est rompu. Cette rupture se situe au niveau des cellules piliers. Les travaux de Spoendlin en 1979 ont mis en évidence, 24 heures après une surexposition au son, un gonflement des extrémités dendritiques des neurones auditifs primaires. Ce phénomène, très étudié par la suite, a été rapporté à une excitotoxicité liée à la libération massive de glutamate par les CCI. Les travaux de Zheng, Henderson et McFadden en 1997 et 1999 ont montré la disparition rapide des anomalies ultrastructurales (gonflement) des dendrites des neurones afférents.

Le retour à la normale du seuil auditif après une surexposition sonore a jusqu'ici été considéré comme l'indication d'une « récupération » totale de la fonction auditive. Les travaux récents de Sharon, Kujama et Lieberman chez la souris remettent en question cette conclusion. Dans des conditions expérimentales de stimulation sonore (bruit blanc couvrant les fréquences entre 8 et 16 kHz) pour lesquelles seules les terminaisons des neurones auditifs afférents étaient touchées, ces auteurs ont observé un retour à la normale de tous les tests physiologiques qui explorent les seuils de la réponse cochléaire à une stimulation sonore. Le seuil de réponse des otoémissions acoustiques redevenait normal en quelques jours, quelle que soit la fréquence du son délivré. Le seuil des potentiels évoqués du tronc cérébral (PEA), dont l'onde I mesure l'activité des neurones auditifs primaires, et le seuil des potentiels d'action composés (PAC), mesurés par une électrode placée à la fenêtre ronde, retrouvaient également

des valeurs normales. Toutefois, l'amplitude des réponses neuronales à une stimulation par des sons de fréquence élevée (supérieure à la fréquence maximale de la bande passante du bruit blanc subi) restait plus faible. Le substrat histopathologique de ces anomalies fonctionnelles est l'atteinte de la synapse que forment les CCI avec les neurones auditifs primaires. Le nombre des rubans synaptiques, dont la distribution n'est pas homogène le long de l'axe tonotopique de la cochlée (les cellules répondant aux fréquences les plus basses et les plus élevées ont un nombre de rubans moindre), diminue. Certains rubans sont flottants. Ces anomalies atteignent aussi bien les cellules qui répondent à des fréquences élevées (32 kHz) que celles qui répondent à des fréquences intermédiaires (12 kHz). À noter que la décroissance de l'amplitude de l'onde I des PEA pour des sons incidents de fréquence élevée (stimulation des cellules ciliées situées à la base de la cochlée) est parallèle à la réduction du nombre des rubans. Huit semaines après la stimulation sonore intense, ces anomalies des rubans persistent, et l'amplitude des réponses neuronales mesurées par les PEA reste anormale. L'innervation éfferente cochléaire n'est pas touchée par ces conditions de surexposition au son (100 dB pendant 2 h). En revanche, les neurones afférents auditifs deviennent de plus en plus clairsemés. La perte de ces neurones auditifs, suivie sur une période de deux ans, ne cesse de s'aggraver. Elle est comparable en nombre à la perte des rubans ancrés à la membrane présynaptique qui est observée 24 heures après l'exposition sonore. La détermination des seuils de sensibilité auditive ne permet donc pas d'apprécier la dégénérescence neuronale. Tant que les CCE ne sont pas touchées, le seuil auditif reste normal, en dépit d'une perte massive des neurones. Une réponse neuronale qui se traduit par une amplitude de l'onde I de l'ordre de 0,1  $\mu\text{V}$  est suffisante pour être décelée. Toutes ces mesures électrophysiologiques correspondent à des réponses globales et synchronisées des neurones. Par conséquent, en ce qui concerne l'amplitude des ondes, la perte de 50 % des neurones peut en théorie être compensée par une augmentation du taux de décharge des neurones restants. Cette dernière est obtenue par l'élévation de l'intensité du son stimulant. Au total, ces études montrent que le suivi du traumatisme acoustique par les seuils de réponse explore la « récupération » des CCE, mais ni celle des CCI, ni celle des neurones auditifs afférents. Cette mise au point est essentielle. La mise en évidence de la perte inexorable des neurones auditifs alors que les tests auditifs qui explorent le seuil de réponse sont rassurants, invite à un changement important dans la prise en charge des patients qui ont subi un traumatisme sonore. Elle invite aussi à des interventions thérapeutiques rapides, puisqu'il semble que le processus de dégénérescence des neurones auditifs soit déjà engagé 24 heures après la stimulation sonore. Une des hypothèses avancées est que la rétraction des extrémités dendritiques des neurones afférents les priverait des neurotrophines (en particulier NT-3) que libèrent les CCI, et qui contribuent à leur survie. Les remaniements des circuits du tronc cérébral et la réorganisation corticale qui suivent l'hyperstimulation, ainsi que les acouphènes et l'hyperacousie, n'ont pas fait l'objet de développements.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux gènes impliqués dans la sensibilité au stress sonore. Ces gènes de susceptibilité sont recherchés chez la souris et chez l'homme. Certaines lignées de souris sont en effet beaucoup plus sensibles au stress



sonore que d'autres. Les souris C57/BL6 sont parmi les plus sensibles. Les approches génétiques développées consistent à rechercher une association entre le phénotype et des gènes candidats, ou bien à procéder à des analyses de liaison génétique portant sur l'ensemble du génome. À ce jour, chez l'homme, seules des études d'association ont été effectuées. Il s'agit d'une analyse comparative de populations humaines particulièrement résistantes, ou au contraire particulièrement sensibles au stress sonore. Chez la souris, une susceptibilité au stress sonore a été mise en évidence dans certaines atteintes monogéniques : mutation faux-sens du gène qui code la cadhérine-23, inactivation des gènes qui codent pour la pompe calcique *Pmca2*, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, le canal mécanosensible TRPV4, la céruloplasmine, la sous-unité  $\delta 1$  du récepteur orphelin du glutamate, l'actine- $\gamma$ , la vézatine, la dystrophine, la protéine de choc thermique HSP1... Chez l'homme, plusieurs gènes de susceptibilité ont été proposés à la suite d'études d'association. L'un d'eux a retenu notre intérêt. Il s'agit de l'un des 6 gènes qui codent pour les diverses formes d'actine. Deux formes d'actine cytoplasmique sont ubiquitaires, l'actine- $\beta$  et l'actine- $\gamma$  (elles ne diffèrent que par 4 acides aminés situés dans leur région N-terminale). Dans la plupart des cellules, c'est l'isoforme  $\beta$  qui prédomine. Dans la cellule sensorielle, à l'inverse, il y a deux fois plus d'actine- $\gamma$  que d'actine- $\beta$ . L'actine- $\gamma$  est présente dans la plaque cuticulaire, au niveau des jonctions intercellulaires, et dans les stéréocils. L'actine- $\beta$  est cependant la principale forme d'actine des stéréocils. La fimbrine, qui pontre les filaments d'actine entre eux, a, semble-t-il, une affinité plus grande pour l'actine- $\beta$  que pour l'actine- $\gamma$ . Des mutations du gène qui code pour l'actine- $\gamma$  sont responsables d'une surdité postlinguale progressive (DFNA 20). Chez les souris dont le gène correspondant est inactivé, il n'y a aucune atteinte décelable de la fonction auditive à 6 semaines ; elle est présente vers 16 semaines. Pourtant, l'actine- $\gamma$  apparaît normalement dans les touffes ciliaires cochléaires au 18<sup>e</sup>-19<sup>e</sup> jour de la vie embryonnaire, soit 2 jours seulement après l'actine- $\beta$ . Il existe des mécanismes de compensation chez les mutants défectueux en actine- $\gamma$  : on observe une augmentation de l'expression de l'actine- $\beta$ . L'actine- $\gamma$  n'est présente que dans des zones restreintes des stéréocils de souris normales. La phalloïdine, qui ne marque que l'actine filamenteuse, montre des discontinuités dans les filaments d'actine des stéréocils des touffes ciliaires du vestibule. Dans ces discontinuités, l'actine- $\gamma$  est décelée. Elles sont aussi enrichies en actine- $\beta$  et espine. L'espine est impliquée dans la formation des filaments d'actine et se lie aussi bien à l'actine- $\beta$  qu'à l'actine- $\gamma$ , ainsi qu'à la cofiline, impliquée dans la nucléation de l'actine. En revanche, d'autres molécules comme la myosine VIIa et la myosine XV, qui sont impliquées dans le contrôle de la croissance des filaments d'actine, ne sont pas localisées dans ces régions de discontinuité des filaments d'actine. En cas de traumatisme sonore chez les souris sauvages, les stéréocils des touffes ciliaires cochléaires deviennent aussi le siège de discontinuités des filaments d'actine. Dans ces régions, se loge l'actine- $\gamma$ . Chez les mutants murins dépourvus d'actine- $\gamma$ , on voit apparaître tardivement et spontanément des discontinuités dans les filaments d'actine où se logent l'actine- $\beta$  et l'espine, dans des touffes ciliaires par ailleurs de morphologie anormale (stéréocils de taille réduite ou perdus). Chez ces

mutants, les processus de réparation des filaments d'actine endommagés sont très lents et inefficaces. L'organisation des filaments d'actine dans le stéréocil indique que l'actine- $\beta$  serait essentiellement présente au cœur de la structure paracristalline des filaments d'actine, tandis que l'actine- $\gamma$  serait présente dans les filaments périphériques. Ces travaux suggèrent que lors du stress sonore, l'actine- $\gamma$  est impliquée dans la réparation des filaments d'actine. De fait, deux rôles sont généralement attribués à l'actine- $\gamma$  : un rôle de résistance accrue au stress mécanique, et un rôle de réparation des filaments d'actine rompus. Il faut souligner que l'actine- $\gamma$  ne s'accumule vraiment dans les stéréocils des touffes ciliaires cochléaires que juste avant l'apparition de l'audition, comme pour leur permettre de résister au stress mécanique de la stimulation sonore.

Un dernier élément de la protection contre le stress sonore a été évoqué. Il s'agit du rôle du système purinergique. Le nombre des récepteurs de l'adénosine augmente après stimulation sonore. Or l'ATP réduirait l'amplification cochléaire (Bobbin, 2005). L'ATP, *via* une cascade de signalisation impliquant les protéines G (Lee & Marcus, 2005, 2008), réduirait la libération des ions  $K^+$  par les cellules marginales de la strie vasculaire. On voit donc qu'il existe un couplage entre la mécanique de la cochlée et son homéostasie ionique qui, à son tour, exerce un rétrocontrôle sur la micromécanique cochléaire. La compréhension de ce couplage n'en est qu'à ses débuts.

### **Les formes de surdité qui affectent l'écoute dans le bruit ; la presbyacousie**

Le quatrième cours a porté sur la presbyacousie (description clinique, épidémiologie, et hypothèses pathogéniques classiques, facteurs génétiques de prédisposition chez la souris et chez l'homme), et sur le stress oxydant (production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, dommages cellulaires que ces espèces produisent, mécanismes cellulaires de défense antioxydante, et théorie du vieillissement cellulaire par le stress oxydant). Ce dernier constitue un facteur étiologique vraisemblablement majeur de la presbyacousie. Cependant, les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote sont également impliquées dans le métabolisme normal de la cellule, comme l'ont révélé des travaux récents.

Presbyacousie, nom dérivé du mot grec désignant le vieillard, désigne la « perte auditive liée à l'âge ». Il s'agit d'un trait commun aux mammifères. La presbyacousie est considérée comme étant le déficit sensoriel le plus fréquent dans la population humaine vieillissante. C'est une surdité neurosensorielle. Les premières manifestations sont souvent une difficulté à suivre les conversations dans les environnements bruyés, et également la présence d'acouphènes, c'est-à-dire la perception de sons « fantômes » qui ne correspondent pas à une stimulation sonore. Viennent ensuite la perte de sensibilité aux sons avec élévation du seuil de perception auditive, l'altération de la compréhension de la parole même en dehors du bruit (d'où un gêne quasi permanente dans les échanges conversationnels), le ralentissement du traitement central de l'information acoustique, et des anomalies de localisation des sources sonores dans l'espace (avec la difficulté à localiser les

signaux d'alerte qui en résulte). La presbycousie entraîne souvent une rupture du lien social, un isolement, et dans certains cas un syndrome dépressif. Sa prévalence en fait un problème majeur en santé publique, puisqu'elle touche plus de 10 % de la population générale, plus de 40 % des personnes de plus de 65 ans, et plus de 80 % de celles de plus de 80 ans. Compte tenu du vieillissement de la population, les projections indiquent qu'aux États-Unis d'Amérique, 28 millions de personnes souffriront de presbycousie en 2030.

Quelle est l'origine de la presbycousie ? Quels sont les rôles respectifs des facteurs environnementaux (exposition au bruit, médicaments ototoxiques...) et des facteurs génétiques de prédisposition ?

Les facteurs actuellement connus comme favorisant la presbycousie sont l'exposition au bruit, le tabagisme, la prise de certains médicaments, l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie, et les facteurs génétiques. Certaines études ont abouti à des résultats intrigants. Une étude, publiée en 1962, a révélé que dans une tribu du Soudan, qui vit dans un environnement très silencieux, et dont le régime alimentaire végétarien est frugal, il n'existe pas de presbycousie. Puis, une autre étude réalisée en 1986 sur l'île de Pâques, a comparé l'audition des personnes âgées d'environ 60 ans dans trois groupes de population. Dans l'un des groupes, les personnes n'avaient pas quitté l'île. Dans le second groupe, les personnes avaient quitté l'île et avaient travaillé sur le continent dans des conditions ordinaires pendant trois à cinq ans. Enfin le troisième groupe était constitué de personnes qui avaient vécu sur le continent plus de cinq ans. L'élévation du seuil de perception auditive qui était constatée chez les personnes ayant vécu sur le continent a été attribuée à l'exposition excessive au bruit. Cette étude illustre le rôle des facteurs environnementaux, en particulier de l'exposition au bruit, dans la presbycousie. Pourtant, on estime actuellement que les gènes contribuent à environ 50 % du phénotype presbycousique. Quels en sont les mécanismes pathogéniques ?

Les travaux actuels s'appuient encore sur la classification pathogénique de la presbycousie publiée par Schuknecht en 1955, puis en 1964. Cette classification était fondée sur l'audiométrie et les analyses de biopsies *post-mortem* d'os temporal incluant la cochlée. On distingue trois formes principales de presbycousie. La forme dite sensorielle serait due à l'atteinte des cellules sensorielles, et se caractérise en audiométrie par une élévation brutale du seuil de perception des sons de haute fréquence (sons aigus). La seconde forme, dite neurale, serait due à l'atteinte des nerfs auditifs. Dans cette forme, la courbe audiométrique montre une élévation des seuils auditifs en pente douce vers les sons les plus aigus. Cette forme est surtout caractérisée par une dissociation entre l'élévation des seuils auditifs, qui peut être modeste, et le défaut d'intelligibilité de la parole, qui est sévère. Ces formes neurales sont considérées comme étant les plus fréquentes : de fait, sur les biopsies d'os temporal, la perte des neurones auditifs est souvent massive chez les individus atteints de presbycousie. Cette forme de presbycousie peut également résulter d'un traumatisme sonore (voir le cours précédent). La troisième forme de presbycousie, dite métabolique, serait due au dysfonctionnement de la strie vasculaire, un épithélium sécréteur richement vascularisé qui produit notamment

le potentiel électrique endocochléaire. Dans cette forme, l'audiogramme montre une élévation des seuils de perception semblable quelle que soit la fréquence du son. On attribue généralement cette forme de presbycousie à l'atteinte des vaisseaux de la strie vasculaire. Chez la gerbille vieillissante, elle se traduit d'abord par un amincissement de cet épithélium, puis par une dégénérescence cellulaire, en particulier des cellules marginales et intermédiaires. Enfin, une quatrième forme, dite conductive, était décrite dans la classification d'origine. Elle serait due, pensait-on, à une atteinte de la membrane basilaire, mais n'a reçu depuis aucune confirmation anatomopathologique. Cette classification rudimentaire de la presbycousie devra vraisemblablement être révisée lorsque les gènes impliqués dans la presbycousie auront été identifiés.

La suite du cours a porté sur le stress oxydant, qui joue un rôle important dans le vieillissement de la cochlée. Le stress oxydant met en jeu la production de radicaux libres de l'oxygène et de l'azote, en anglais « *reactiv oxygen species* » (ROS) et « *reactiv nitrogen species* » (RNS). Ce sont des entités chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leurs couches orbitales externes. La présence d'un électron célibataire confère à ces molécules une très grande instabilité. Elles réagissent avec de nombreux composés, et le plus souvent leur durée de vie est très brève, de l'ordre de la microseconde. Le dioxygène (oxygène moléculaire), avec ses deux électrons libres sur deux couches orbitales différentes, est aussi un composé radicalaire, mais il est peu réactif parce que ses deux électrons libres ont le même spin.

Quelques radicaux libres de l'oxygène ont été présentés : anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ , radical hydroxyle  $OH^{\bullet}$ , et hydroperoxyde  $HO_2^{\bullet}$ , les radicaux peroxyde  $ROO^{\bullet}$  et alkoxyde  $RO^{\bullet}$ , où R représente une chaîne carbonée (par exemple, celle d'un acide gras insaturé)... Sont également classées avec les radicaux libres, de nombreuses molécules non-radicalaires, parmi lesquelles le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , ou eau oxygénée, qui peut donner naissance à des radicaux libres très agressifs. Les radicaux libres nitrés et oxygénés (monoxyde d'azote sous forme radicalaire  $NO^{\bullet}$ , nitroperoxyde  $ONOO^{\bullet}$ , etc.) ont également été évoqués.

L'émergence de la vie sur terre date d'environ 3,5 milliards d'années, dans un milieu hautement réduit, au sens chimique : il s'agissait donc principalement de microbes anaérobies. Avec la survenue des arché-cyanobactéries, qui sont capables de photosynthèse et produisent donc du dioxygène à partir du dioxyde de carbone et de l'eau, l'oxygène moléculaire est apparu en quantité significative à la surface de la terre, et s'est accumulé dans la haute atmosphère il y a 2,5 milliards d'années, ce qui a été à l'origine d'une forte pression de sélection contre les espèces qui n'utilisaient pas l'oxygène. Puis, est apparue la respiration aérobie qui utilise l'oxygène pour produire, avec une grande efficacité, de l'énergie sous forme d'ATP. Les organismes, et en particulier les organismes multicellulaires, se sont alors développés sur ce mode aérobie. Environ 90 % de l'oxygène que nous respirons est utilisé par les mitochondries pour produire de l'ATP à partir de l'ADP, et les 10 % restants sont utilisés par les oxydases, principalement dans le réticulum endoplasmique.

*La théorie de la toxicité de l'oxygène*

La production de radicaux libres toxiques est le tribut que nous devons payer pour la possibilité de former de l'énergie à partir du dioxygène. L'idée de la toxicité de l'oxygène est apparue en 1878 dans un ouvrage de Paul Bert, publié sous le titre *La pression barométrique, recherche de physiologie expérimentale*. Seize ans plus tard, en 1894, le chimiste Fenton découvrait que le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée,  $H_2O_2$ ) oxyde l'acide tartrique en présence d'ions ferreux ( $Fe^{2+}$ ). La réaction de Fenton produit, à partir de l'eau oxygénée, le radical hydroxyle, qui est très toxique pour la cellule. Puis, dans une série d'articles publiés entre 1930 et 1934, Fritz Haber et son élève Joseph Weiss décrivent une autre réaction qui, à partir de l'anion superoxyde et de l'eau oxygénée, produit également des radicaux hydroxyle en présence d'ions ferreux (réaction d'Haber-Weiss). Ces deux réactions chimiques, qui n'impliquent aucune activité enzymatique, sont au cœur de la production des radicaux libres de l'oxygène dans les cellules.

Le premier travail qui établit la toxicité des radicaux libres est publié par Commoner en 1954. À cette époque, la production de radicaux libres sous l'effet des radiations ionisantes, sur lesquelles travaillaient de nombreux chercheurs, était déjà connue. L'article de 1954 montre que la quantité de radicaux libres dans les tissus irradiés est d'autant plus grande que ces tissus sont métaboliquement plus actifs. La même année, Gerschman propose l'hypothèse selon laquelle les radicaux libres sont responsables de la toxicité du dioxygène. Cette hypothèse s'appuie sur des études histologiques montrant la similitude entre les lésions cellulaires dues aux radiations ionisantes et celles dues au dioxygène lorsqu'il est présent à une concentration élevée. Harman suggère que les radicaux libres de l'oxygène constituent des sous-produits de réactions normales d'oxydo-réduction dans la cellule (d'où la difficulté des approches thérapeutiques), et que le fer et les autres métaux physiologiques jouent un rôle essentiel dans leur production. En 1956, Harman propose une théorie du vieillissement cellulaire fondée sur l'accumulation des radicaux libres avec le temps et les dommages cellulaires qu'ils produisent. Cette théorie est aujourd'hui étayée par les résultats de nombreux travaux. En 1972, il est proposé que les radicaux libres soient produits principalement dans la mitochondrie, et que la capacité de cette organelle à résister aux attaques des radicaux libres conditionne la longévité.

Le cours a ensuite envisagé les différentes étapes de la formation des espèces réactives de l'oxygène liée à l'activité métabolique normale de la cellule, et le rôle essentiel des mitochondries (phosphorylation oxydative, production au sein des complexes mitochondriaux I et III) (Hulbert et coll., 2007), et à un moindre degré, du réticulum endoplasmique (détoxification impliquant les cytochromes P-450), dans la production de ces espèces. Le rôle des deux isoformes de la superoxyde dismutase, l'une principalement cytoplasmique, et l'autre peroxysomique, qui catalysent la transformation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée), a ensuite été discuté. Les limites du pouvoir antioxydant de cette enzyme ont été précisées puisque l'eau oxygénée, non radicalaire, peut diffuser à distance de

son site de production, et donner naissance, par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss, à des radicaux hydroxyle, qui sont les plus réactifs des radicaux libres de l'oxygène, donc les plus toxiques pour la cellule. Les autres défenses antioxydantes de la cellule ont été présentées : défenses enzymatiques (catalase et peroxydases, glutathion et thioredoxine peroxydase, qui réduisent le peroxyde d'hydrogène en eau) et non enzymatiques, incluant des molécules antioxydantes de faible poids moléculaire (glutathion et cystéine [rôle des groupements thiols], thiorédoxine, acide ascorbique ou vitamine C, tocophérol ou vitamine E, caroténoïdes, acide urique, mannitol, diméthyl sulfure...) et des protéines qui séquestrent les ions métalliques et empêchent ainsi leur participation à la formation des espèces réactives de l'oxygène (transferrine, ferritine, céruloplasmine, métallothionéines intracellulaires...).

Les cibles cellulaires des radicaux libres ont ensuite été discutées. Elles sont nombreuses : lipides, protéines, polysaccharides, ADN, en réalité toutes les molécules organiques de la cellule. On insiste aujourd'hui beaucoup sur les lipides car il existe une forte corrélation entre la peroxydation des lipides membranaires et le vieillissement. L'attaque des lipides, surtout membranaires, par les radicaux libres, porte principalement sur les acides gras polyinsaturés, avec production d'aldéhydes gras. Ceux-ci réagissent à leur tour avec le groupement thiol des résidus cystéine des protéines membranaires, qui peuvent perdre ainsi leur stabilité et même leur fonction. L'attaque des protéines par les radicaux libres conduit en particulier à la fragmentation de la chaîne polypeptidique et à l'agrégation des protéines entre elles. L'accumulation dans la cellule de ces protéines endommagées ou dégradées par les espèces réactives de l'oxygène paraît être une signature du vieillissement cellulaire. Une attaque de certains facteurs de transcription a été rapportée : IKK (voie NF- $\kappa$ B) et JNK (Jun N-terminal Kinase). L'attaque de l'ADN concerne à la fois les bases (en particulier la guanine, avec la formation de 8-oxoguanine) et le sucre (désoxyribose), et également la liaison entre la base et le sucre. Cette attaque, qui touche principalement l'ADN mitochondrial, provoque l'apparition de mutations dans les gènes. Les mécanismes de l'attaque radicalaire des polysaccharides sont moins bien connus.

Le stress oxydant peut conduire à la mort cellulaire par nécrose ou par apoptose, deux phénomènes dont les mécanismes sont très différents. Les espèces réactives de l'oxygène provoquent principalement l'entrée des cellules en apoptose. L'apoptose, ou mort cellulaire programmée, implique une cascade d'événements où interviennent des enzymes protéolytiques particulières, les caspases. La voie mitochondriale d'entrée des cellules en apoptose, qui est celle déclenchée par la production des espèces réactives de l'oxygène, a ensuite été présentée.

Quels sont les arguments qui plaident en faveur de l'existence d'un stress oxydant dans la presbyacousie ? Ce sont tout d'abord les mutations mitochondriales, qui sont trouvées dans les biopsies post-mortem d'os temporal d'individus atteints de presbyacousie en nombre beaucoup plus élevé que chez des individus non atteints. C'est aussi l'augmentation de la quantité des protéines conjuguées au glutathion dans la cochlée de rongeurs entre l'âge de 3 mois et l'âge de 18 mois. Ce sont enfin et surtout les arguments génétiques : des souris mutantes qui surexpriment la

catalase dans les mitochondries sont protégées contre la survenue d'une presbyacousie par rapport à des animaux témoins de même fonds génétique. On peut aussi citer l'efficacité de certaines molécules antioxydantes (coenzyme Q10, acide  $\alpha$ -lipoïque, N-acétylcystéine), introduites pendant plusieurs mois dans la nourriture, sur la prévention de la presbyacousie chez la souris.

Des mutations prédisposant à la presbyacousie chez la souris ont ensuite été discutées : mutations du génome mitochondrial, mutations de l'ADN polymérase mitochondriale qui diminuent son activité réparatrice de l'ADN, mutations du gène de l'apoptéine E, impliquée dans le métabolisme du cholestérol, mutations du gène codant pour la cadhérine-23, une protéine constitutive des liens apicaux entre stéréocils des cellules sensorielles auditives... Il faut souligner que plusieurs des gènes impliqués dans la presbyacousie, le sont aussi dans la susceptibilité au stress sonore. La lignée de rat Fisher 344, un modèle animal de presbyacousie, a ensuite été discutée (J. Syka, 2010). Chez ces rats, la quantité de prestine, présente dans la paroi latérale des CCE de la cochlée, diminue considérablement avec l'âge. Or cette protéine est responsable de l'électromotilité de ces cellules, et joue donc un rôle essentiel dans l'amplification mécanique de la stimulation acoustique de l'épithélium sensoriel. Il est à noter que bien que l'inactivation de la superoxyde dismutase provoque une presbyacousie chez la souris, la surexpression de cette enzyme chez des rats Fisher 344 ne les protège pas contre la survenue de la presbyacousie qui caractérise cette lignée. Les premiers résultats des recherches génétiques effectuées chez l'homme ont également été présentés et discutés. Le résultat de certaines études d'association semble renforcer l'hypothèse du rôle du stress oxydant dans la survenue de la presbyacousie : association de la presbyacousie avec des gènes intervenant dans la synthèse ou la régénération du glutathion (*GSTM1*, *GSTT1*), avec le gène de l'apolipoprotéine E, qui régule le taux de cholestérol, ou encore avec le gène *NAT2* qui code pour la N-acétyl-transférase (une enzyme intervenant dans la détoxification des substrats exogènes par N- ou O-acétylation, les substrats insuffisamment acétylés pouvant être convertis en métabolites réactifs par des oxydases). D'autres gènes potentiellement impliqués codent pour la cadhérine-23, des facteurs de transcription (*GRHL2*, *POU3F4*), un canal potassique (*KCNQ4*), ou un récepteur métabotropique du glutamate (*mGluR7*).

Pour finir, des facteurs de prévention de la presbyacousie ont été discutés. La diète calorique, prévient la presbyacousie (et augmente la longévité) chez les rongeurs et les primates. Son effet protecteur, robuste, pourrait s'expliquer par la réduction de l'activité métabolique, donc de la production de radicaux libres par les mitochondries. L'exposition de rongeurs à un environnement sonore « enrichi » (de l'ordre de 70 dB) les protège contre les effets d'un traumatisme acoustique, et sans doute aussi contre la presbyacousie. Enfin, un article récent rapporte, chez l'animal, un effet protecteur de l'ingestion de trans-3,5,4-trihydroxystilbene contre la presbyacousie, en dehors de toute diète calorique (Bielefeld E.C. *et coll.*, 2010). Rappelons que cette molécule est présente, ou du moins était présente, dans le vin rouge. Synthétisée par certaines plantes en réaction à des parasites, elle tend à disparaître avec l'usage des pesticides...

La bibliographie qui a servi à l'élaboration de ce cours peut être consultée sur le site web correspondant de la chaire de Génétique et physiologie cellulaire : [http://www.college-de-france.fr/default/EN/all/gen\\_phy/travaux.htm](http://www.college-de-france.fr/default/EN/all/gen_phy/travaux.htm)

#### ACTIVITÉ DE RECHERCHE DU LABORATOIRE

Les avancées les plus significatives réalisées au cours de l'année 2009-2010 ont porté sur :

- un nouveau mécanisme impliqué dans la surdité liée à l'exposition au bruit (Bahloul *et al.*, 2009, *EMBO Mol Med*) ;
- le rôle de l'harmonine, protéine sous-membranaire, au sein de la machinerie de transduction mécano-électrique (Michalski *et al.*, 2009, *Pflügers-Arch Eur. J. Physiol.*) ;
- le rôle de l'otoferline, une protéine de la membrane des vésicules synaptiques, dans la fonction de transfert synaptique des cellules sensorielles du vestibule (Dulon *et al.*, 2009, *J. Neurosci.*) ;
- le rôle de la myosine VI dans la maturation et le fonctionnement de la synapse à ruban de la cellule ciliée interne de la cochlée (Roux *et al.*, 2009, *Hum. Mol. Genet.*) ;
- le rôle essentiel, de synaptotagmines d'abord, de l'otoferline ensuite, dans l'exocytose des vésicules synaptiques par la cellule ciliée interne au cours de sa maturation (Beurg *et al.*, 2010, *J. Neurosci.*) ;
- l'identification d'une mutation du gène de l'otoferline dans une neuropathie auditive familiale thermo-sensible (Marlin *et al.*, 2010, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*) ;
- une transition morphologique de la région apicale des cellules ciliées externes au cours du développement de la cochlée (Étournay *et al.*, 2010, *Development*) ;
- la mise en évidence d'un complexe protéique ternaire (cadhérine-23, harmonine-b, myosine VIIa) associé au lien apical des stéréocils, et l'interaction de ce complexe avec les phospholipides membranaires (Bahloul *et al.*, 2010, *Hum. Mol. Genet.*) ;
- l'identification et la caractérisation d'une nouvelle protéine impliquée dans le transport des connexines dans la cellule, la consortine (del Castillo *et al.*, 2010, *Hum. Mol. Genet.*).

#### Un nouveau mécanisme de 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.*, 2009)

Nous avons découvert, il y a quelques années, une nouvelle protéine des jonctions d'adhérence, la vézatine. Nous venons de définir sa topologie par analyse biochimique. La vézatine comporte deux domaines transmembranaires très proches et ses régions N- et C-terminales sont cytoplasmiques.



Dans la cochlée marine, 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. La vézatine est colocalisée avec la radixine, la  $\beta$ -caténine et la caténine p120, aux jonctions entre cellules ciliées externes et leurs cellules de soutien. Vézatine et radixine peuvent être co-précipitées à partir d'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 radixine active. Cette dernière pourrait permettre de lier la vézatine aux filaments d'actine sous-corticaux.

Pour étudier le rôle de la vézatine aux jonctions entre les cellules ciliées et leurs cellules de soutien, nous avons généré des souris mutantes chez lesquelles le gène est inactivé uniquement dans les cellules sensorielles (l'inactivation ubiquitaire est létale). Chez les souris mutantes, les seuils auditifs ne sont pas altérés pendant les deux premiers mois de vie. Cependant, après une exposition d'une minute à un son de forte intensité (105 dB), ces souris, à la différence de souris témoins du même âge, deviennent sourdes en quelques jours par destruction de leurs cellules ciliées. Par ailleurs, ces souris, même non exposées à l'agression sonore ci-dessus, développent ultérieurement une surdité progressive, qui devient complète à l'âge de 6 mois. Cette surdité est en rapport avec la mort des cellules ciliées de la cochlée.

Cette étude a permis d'établir le rôle des jonctions cellulaires des cellules sensorielles comme cible primaire de la surdité induite par le bruit, et le rôle de la vézatine dans la résistance de ces jonctions au stress mécanique.

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

*Nicolas Michalski, Vincent Michel, Elisa Caberlotto, Gaëlle Lefevre, Jean-Pierre Hardelin, Dominique Weil, Christine Petit ; en collaboration avec Pascal Martin, Institut Curie (Michalski et al., 2009)*

Nous avons montré, chez la souris, que dans la cochlée mature, l'harmonine-b est localisée au niveau du point supérieur d'insertion des liens apicaux entre stéréocils. Nous avons étudié le rôle de cette protéine sous-membranaire dans la transduction mécano-électrique, et plus particulièrement dans le processus d'adaptation du courant de transduction à une stimulation mécanique prolongée de la touffe ciliaire. Pour cela, nous avons utilisé des souris mutantes dépourvues uniquement des isoformes b de l'harmonine, chez lesquelles nous avons réalisé des enregistrements des courants de transduction déclenchés par la stimulation mécanique de la touffe ciliaire, dans des cellules ciliées vestibulaires et cochléaires. 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'adaptation, et qu'elle participe au recrutement des moteurs moléculaires impliqués dans l'adaptation.

### **Rôle de l'otoferline dans la fonction de transfert synaptique des cellules sensorielles du vestibule**

*Didier Dulon, Saaïd Safieddine, Christine Petit (Dulon et al., 2009)*

Le gène codant pour l'otoferline est responsable, lorsqu'il est muté, d'une forme de surdité récessive. La production d'un modèle murin de cette surdité avait permis d'établir qu'elle résulte d'un défaut d'exocytose synaptique des cellules ciliées internes de la cochlée, et que l'otoferline agit vraisemblablement sur une étape essentielle de la fusion vésiculaire à l'origine de la libération du neurotransmetteur, peut-être en tant que principal « senseur calcique » de ces cellules. Nous avons ensuite montré que l'otoferline est également impliquée dans l'exocytose synaptique transitoire des cellules ciliées externes immatures, dont la signification est encore mal connue.

L'otoferline est également exprimée par les cellules ciliées des organes vestibulaires, détecteurs d'accélération linéaire ou angulaire. Des mesures fines des potentiels vestibulaires évoqués chez les souris dont le gène de l'otoferline a été inactivé, ont révélé que l'amplitude et la latence de ces potentiels sont affectées. Nous avons montré que l'exocytose synaptique rapide des cellules ciliées vestibulaires de type I est absente chez ces souris, alors que celle des cellules ciliées de type II n'est que peu affectée, ce qui indique l'existence d'un senseur calcique principal différent de l'otoferline dans les cellules de type II. Par ailleurs, l'exocytose des cellules de type I peut être récupérée partiellement lorsque le courant calcique est augmenté en faisant varier la concentration du calcium extracellulaire, ce qui suggère la présence d'un senseur calcique de faible affinité, autre que l'otoferline, dans ces cellules. Ainsi, l'otoferline semble se comporter comme un senseur calcique de haute affinité, essentiel à la grande sensibilité de la fusion vésiculaire synaptique des cellules ciliées vestibulaires, en particulier de type I.

### **Rôle de la myosine VI dans la maturation et le fonctionnement de la synapse de la cellule ciliée interne**

*Isabelle Roux, Amel Bahloul, Sylvie Nouaille, Christine Petit, Saaïd Safieddine (Roux et al., 2009)*

La synapse à ruban de la cellule ciliée interne subit une transition morphologique et électrophysiologique au cours de la maturation de la cochlée. L'analyse de souris mutantes dépourvues de myosine VI, un moteur moléculaire déficient dans certaines formes génétiques de surdité chez l'homme, a révélé que cette protéine est nécessaire à la survenue de certains changements participant à cette transition. Chez les souris mutantes, la maturation synaptique des cellules ciliées internes se déroule normalement pendant la première semaine de vie, mais à l'âge adulte, ces cellules continuent à décharger des potentiels d'action comme le font normalement les cellules immatures. De plus, leurs rubans synaptiques sont en nombre modérément réduit, et environ 30 % des rubans présents ont conservé une structure immature en microscopie électronique. Enfin, une quantification de l'exocytose

synaptique par analyse des variations de la capacité électrique de la membrane plasmique a montré, chez ces mutants, une diminution de l'exocytose bien supérieure à ce que laissait prévoir la diminution de nombre de rubans matures, suggérant l'existence d'un dysfonctionnement synaptique supplémentaire, qui pourrait être en rapport avec un déficit en vésicules synaptiques prêtes à fusionner. La myosine VI interagit avec l'otoferline à la synapse, et cette interaction pourrait jouer un rôle dans le recyclage des vésicules synaptiques.

### **Rôles respectifs des synaptotagmines et de l'otoferline dans l'exocytose synaptique de la cellule ciliée interne au cours de sa maturation**

*Maryline Beurg, Nicolas Michalski, Saaid Safieddine, Christine Petit, Didier Dulon ; en collaboration avec Ralf Schneggenburger (Beurg et al., 2010)*

Avant l'âge d'apparition de l'audition, à environ 12 jours post-natals chez la souris, l'exocytose synaptique des cellules ciliées internes immatures est déclenchée par des potentiels d'action survenant spontanément dans ces cellules. Par la suite, l'activité synaptique de ces cellules ne dépend plus que de variations graduelles du potentiel électrique de membrane. Elle se caractérise par une efficacité plus grande des ions  $Ca^{2+}$  dans l'exocytose, ainsi que par une synchronisation accrue de la libération du neurotransmetteur à partir de plusieurs vésicules. Cependant, on ignore encore les acteurs moléculaires de cette transition. L'étude de l'exocytose synaptique des cellules ciliées internes chez diverses souris mutantes déficientes pour une synaptotagmine (1, 2, ou 7) ou pour l'otoferline a montré que cette dernière ne devient indispensable à l'exocytose qu'à partir du 4<sup>e</sup> jour de vie post-natale. Auparavant, on suspecte l'implication de synaptotagmines, mais aucune des synaptotagmines 1, 2 ou 7 ne s'est avérée à elle seule indispensable à l'exocytose dans ces cellules. En revanche, un rôle essentiel de la synaptotagmine 1 dans la persistance de l'exocytose synaptique en cas de stimulation répétitive a été révélé par l'analyse des souriceaux mutants dépourvus de cette isoforme. La disparition des synaptotagmines 1 et 2 (les « senseurs » calciques les plus souvent impliqués dans les synapses du système nerveux central) dans les cellules ciliées internes après l'âge d'apparition de l'audition, exclut cependant la possibilité que ces isoformes puissent jouer un rôle dans l'exocytose synaptique des cellules ciliées matures.

### **Identification d'une mutation du gène de l'otoferline (OTOF) dans une neuropathie auditive familiale thermo-sensible**

*Sandrine Marlin, Delphine Feldmann, Yann Nguyen, Isabelle Rouillon, Natalie Loundon, Laurence Jonard, Crystel Bonnet, Rémy Couderc, Eréa-Noël Garabedian, Christine Petit, Françoise Denoyelle (Marlin et al., 2010)*

Les neuropathies auditives se caractérisent cliniquement par l'élévation du seuil d'apparition des potentiels évoqués auditifs (PEA), et la préservation des otoémissions acoustiques témoignant du bon fonctionnement des cellules ciliées externes. L'existence d'une surdité transitoire sévère ou profonde déclenchée par la

fièvre et répondant à ces critères, chez trois enfants issus de parents consanguins, a permis d'incriminer le gène *OTOF* grâce à une étude de la ségrégation de marqueurs polymorphes de l'ADN dans cette famille, suivie du séquençage des 48 exons de ce gène chez les individus cliniquement atteints. Une mutation supprimant un acide aminé dans la séquence de la protéine a été identifiée, à l'état homozygote, chez les enfants atteints. Une étude biochimique et fonctionnelle de l'otoférline porteuse de cette mutation, *in vitro* et dans un modèle murin, reste à faire.

### **Transition morphologique de la région apicale des cellules ciliées externes au cours du développement de la cochlée**

*Raphaël Etournay, Léa Lepelletier, Jacques Boutet de Montvel, Vincent Michel, Michel Leibovici, Christine Petit (Etournay et al., 2010)*

Les cellules épithéliales acquièrent des formes diverses, en rapport avec leurs fonctions, diverses elles aussi. La cochlée comporte un contingent de cellules sensorielles auditives, les cellules ciliées internes, qui transforment le son en signaux électriques transmis au nerf auditif. Avant même cette transduction mécano-électrique, le son est cependant prétraité par un autre contingent de cellules cochléaires, les cellules ciliées externes (voir plus haut). Ces dernières assurent une amplification de la stimulation mécanique sonore de l'épithélium sensoriel. En abaissant considérablement le seuil de sensibilité auditive, cette étape d'amplification rend compte de l'aptitude du système auditif des mammifères à détecter des sons dont l'énergie est à peine dix fois supérieure à celle du bruit thermique. Tandis que la transduction mécano-électrique s'effectue dans une structure apicale des cellules sensorielles, la touffe ciliaire, l'amplification, selon l'hypothèse la plus communément admise, est due à la motilité des parois latérales du corps cellulaire des cellules ciliées externes.

Nous avons découvert et caractérisé une transition de forme de la région apicale des cellules ciliées externes, qui survient au cours des premiers jours du développement postnatal de la cochlée (entre 4 et 8 jours de vie) chez la souris. Il s'agit du passage d'un contour cellulaire uniformément convexe à un contour comportant une partie non-convexe, qu'accompagne la formation de lobes situés de part et d'autre. Grâce à l'étude de souris mutantes chez lesquelles la touffe ciliaire est fragmentée ou bien les stéréocils sont de taille anormale, nous avons montré que cette transition de forme est dépendante de l'intégrité de la touffe ciliaire. De plus, l'apparition concomitante d'une distribution polarisée de certaines protéines qui se lient à l'actine, dont les myosines II et la myosine VIIa, suggère fortement l'existence de mécanismes actifs impliquant des remaniements du cytosquelette sous l'effet de tensions internes. Ces redistributions moléculaires contemporaines de la transition de forme du pourtour apical des cellules ciliées externes n'ont pas lieu chez les souris mutantes dont la touffe ciliaire présente des défauts de morphogenèse. Ce remodelage circonférentiel des cellules ciliées externes apparaît en même temps que la structuration des parois latérales de ces cellules en un compartiment sous-membranaire permettant la propagation des forces de l'électromotilité. Ces résultats

nous amènent à conclure que la transition morphologique découverte joue vraisemblablement un rôle essentiel dans la transmission des forces apico-basales de l'électromotilité des cellules ciliées externes à la touffe ciliaire de ces cellules en créant les conditions d'un couplage mécanique serré entre les deux structures.

**Mise en évidence d'un complexe protéique ternaire  
(cadhérine-23, harmonine-b, myosine VIIa) associé au lien apical des stéréocils**

*Amel Bahloul, Vincent Michel, Jean-Pierre Hardelin, Sylvie Nouaille,  
Christine Petit ; en collaboration avec Anne Houdusse & Patrick England  
(Bahloul et al., 2010)*

La cadhérine-23 est un composant des liens latéraux transitoires qui unissent les stéréocils de la touffe ciliaire des cellules sensorielles de l'oreille immature, et également des liens interstéréociliaires apicaux (liens de bout de cil) dans les cellules sensorielles matures. Ces derniers jouent un rôle essentiel dans la transduction mécano-électrique qu'effectuent les cellules sensorielles stimulées par un son. Nous avons montré, par des techniques de biochimie, que la cadhérine-23 interagit avec une forte affinité avec la région N-terminale de l'harmonine, et qu'elle se lie également à la queue de la myosine VIIa *in vitro*. Nous avons également montré que ces trois protéines peuvent former un complexe ternaire. Ceci suggère que la myosine VIIa exerce une tension sur les liens interstéréociliaires *in vivo*. Enfin, nous avons montré, en utilisant des liposomes, que ces trois protéines interagissent avec des phospholipides. En particulier, l'harmonine et la région cytoplasmique de la cadhérine-23 se lient spécifiquement au phosphatidyl-inositol 4,5-diphosphate (PIP2), que l'on détecte en particulier dans la membrane des stéréocils.

**Caractérisation d'une nouvelle protéine impliquée dans le transport  
des connexines dans la cellule, la consortine**

Francisco J. del Castillo, Martine Cohen-Salmon, Christine Petit ;  
en collaboration avec Philippe Chavrier & Paolo Meda (del Castillo et al., 2010)

L'adressage à la membrane plasmique de nombreuses protéines transmembranaires nécessite, pense-t-on, leur reconnaissance par d'autres protéines qui interagissent avec les protéines adaptatrices impliquées dans le transport antérograde à l'extrémité distale de l'appareil de Golgi. Par la technique de « double-hybride » chez la levure, nous avons identifié une nouvelle protéine intégrale de membrane, la consortine, comme un partenaire de liaison des connexines, les protéines constitutives des jonctions intercellulaires communicantes. La consortine est présente dans le réseau trans-golgien, dans des organelles tubulo-vésiculaires de transport, et à la membrane plasmique. Nous avons montré qu'elle interagit directement avec les protéines adaptatrices GGA1 et GGA2 du réseau trans-golgien, et que cette interaction est nécessaire à l'adressage de différentes connexines à la membrane plasmique. L'inhibition de la synthèse de consortine par la technique « d'interférence ARN »

dans des cellules HeLa entraîne l'accumulation intracellulaire de ces connexines, qui ne sont plus adressées à la membrane plasmique, tandis qu'une déplétion partielle de ces cellules en consortine ralentit la dégradation intracellulaire des plaques jonctionnelles.

## PUBLICATIONS

### 2010

Avan P., Petit C., « Top connectors of the hair bundle are required for waveform distortion and suppression masking but not cochlear amplification », *Hear Res.*, 266, 2010, 3-4.

Bahloul A., Michel V., Hardelin J.-P., Nouaille S., Hoos S., Houdusse A., England P., Petit C., « Cadherin-23, myosin VIIa and harmonin, encoded by Usher syndrome type I genes, form a ternary complex and interact with membrane phospholipids », *Hum. Mol. Genet.*, 19, 2010, 3557-3565.

Beurg M., Michalski N., Safieddine S., Bouleau Y., Schneggenburger R., Chapman E.R., Petit C., Dulon D., « Control of exocytosis by synaptotagmins and otoferlin in auditory hair cells », *J. Neurosci.*, 30, 2010, 13281-13290.

Boutet de Monvel J., Petit C., « Wrapping up stereocilia rootlets », *Cell*, 141, 748-50.

Del Castillo F.J., Cohen-Salmon M., Charollais A., Caille D., Lampe P., Chavrier P., Meda P., Petit C., « Consortin, a trans-Golgi network cargo receptor for the plasma membrane targeting and recycling of connexins », *Hum. Mol. Genet.*, 19, 2010, 262-275.

El-Amraoui A., Petit C., « Cadherins as targets for genetic diseases », *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2, a003095, 2010, 387-406.

El-Amraoui A., Petit C., « Thérapie cellulaire dans l'oreille interne – Nouveaux développements et perspectives », *Med. Sci. (Paris)*, 26, 2010, 981-985.

Etournay R., Lepelletier L., Boutet de Monvel J., Michel V., Cayet N., Leibovici M., Weil D., Foucher I., Hardelin J.-P., Petit C., « Cochlear outer hair cells undergo an apical circumference remodeling constrained by the hair bundle shape », *Development*, 137, 2010, 1373-1383.

Marlin S., Feldmann D., Nguyen Y., Rouillon I., Loundon N., Jonard L., Bonnet C., Couderc R., Garabedian E.N., Petit C., Denoyelle F., « Temperature-sensitive auditory neuropathy associated with an otoferlin mutation: Deafening fever! », *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 394, 2010, 737-742.

Richardson G.P., Boutet de Monvel J., Petit C., « How the genetics of deafness illuminates auditory physiology », *Annu. Rev. Physiol.*, 73, 2011 (sous presse).

Verpy E., Leibovici M., Michalski N., Goodyear R., Houdon C., Weil D., Richardson G., Petit C., « Stereocilin connects outer-hair-cell stereocilia to one another and to the tectorial membrane », *J. Comp. Neurol.*, 519, 2011, 194-210.

Wang D.Y., Wang Y.C., Weil D., Zhao Y.L., Rao S.Q., Zong L., Ji Y.B., Liu Q., Li J.Q., Yang H.M., Shen Y., Benedict-Alderfer C., Zheng Q.Y., Petit C., Wang Q.J., « Screening mutations of OTOF gene in Chinese patients with auditory neuropathy, including a familial case of temperature-sensitive auditory neuropathy », *BMC Med. Genet.*, 11, 2010, 79.

### 2009

Bahloul A., Simmler M.-C., Michel V., Leibovici M., Perfettini I., Roux I., Weil D., Nouaille S., Zuo J., Zadro C., Licastro D., Gasparini P., Avan P., Hardelin J.-P., Petit C.,

« *Vezein*, an integral membrane protein of adherens junctions, is required for the sound-resilience of cochlear hair cells », *EMBO Mol. Med.*, 1, 2009, 125-38.

Belguith H., Masmoudi S., Medlej-Hashim M., Chouery E., Weil D., Ayadi H., Petit C., Megarbane A., « Re-assigning the DFNB33 locus to chromosome 10p11.23-q21.1 », *Eur. J. Hum. Genet.*, 17, 2009, 122-4.

Dulon D., Safieddine S., Jones S.M., Petit C., « Otoferlin is critical for a highly sensitive and linear calcium dependent exocytosis at vestibular hair cell ribbon synapses », *J. Neurosci.*, 29, 2009, 10474-87.

LAGRESLE-PEYROU C., SIX E.M., PICARD C., RIEUX-LAUCAT F., MICHEL V., DITADI A., DEMERENS-DE CHAPPEDÉLAINE C., MORILLON E., VALENSI F., SIMON-STOOS K.L., MULLIKIN J.C., NOROSKI L.M., BESSE C., WULFFRAAT N.M., FERSTER A., ABECASIS M.M., CALVO F., PETIT C., CANDOTTI F., ABEL L., FISCHER A., CAVAZZANA-CALVO M., « Human adenylate kinase 2 deficiency causes a profound hematopoietic defect associated with sensorineural deafness », *Nat. Genet.*, 41, 2009, 106-11.

Legendre K., Petit C., El-Amraoui A., « (The outer hair cell of the mammalian cochlea : an outstanding amplifier) – La cellule ciliée externe de la cochlée des mammifères : un amplificateur aux propriétés exceptionnelles », *Med. Sci. (Paris)*, 25, 2009, 117-20.

Michalski N., Michel V., Caberlotto E., Lefèvre G.M., van Aken A.F.J., Tinevez J.-Y., Bizard E., Houbroun C., Weil D., Hardelin J.-P., Richardson G.P., Kros C., Martin P., Petit C., « Harmonin-b, an actin-binding scaffold protein, is involved in the adaptation of mechano-electrical transduction by sensory hair cells », *Pflügers Arch.-Eur. J. Physiol.*, 459, 2009, 115-30.

Petit C., « Entendre : bases physiologiques de l'audition », in Dehaene S. et Petit C. (eds.), *Parole et musique. Aux origines du dialogue humain*, Paris, Odile Jacob, 2009.

Petit C., Richardson G.P., « Linking genes underlying deafness to hair-bundle development and function », *Nat. Neurosci.*, 12, 2009, 703-10.

Roux I., Hosie S., Johnson S.L., Bahloul A., Cayet N., Nouaille S., Kros C.J., Petit C., Safieddine S., « Myosin VI is required for the proper maturation and function of inner hair cell ribbon synapses », *Hum. Mol. Genet.*, 18, 2009, 4615-28.

## Ouvrage (Éditeur)

Petit C. et Dehaene S. (éd.), *Parole et musique. Aux origines du dialogue humain* (actes du colloque annuel du Collège de France, Paris 16 & 17 octobre 2008), Paris, Odile Jacob, 2009.

## SÉMINAIRES ET CONFÉRENCES SUR INVITATION 2009-2010

Politzer Society Meeting, Londres, G.-B., 3 septembre 2009 : « Outcome and future of the research on human hereditary sensorineural deafness, from early- to late-onset forms ».

*Psychoacoustics, electrophysiology and functional imaging of the auditory system* meeting, Paris, 18 septembre 2009 : « Inherited auditory neuropathies : genes, pathogenesis and medical implications ».

ASCB-JSCB-CDB Riken meeting, *Building the Body Plan : How Cell Adhesion, Signaling, and Cytoskeletal Regulation Shape Morphogenesis*, Kyoto, Japon, 21-23 septembre 2009 : « Adhesion orchestrates auditory hair cell shape and functions ».

Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japon, 24 septembre 2009 : « Hereditary deafness : from causative genes to pathogenesis and auditory physiology ».

3<sup>rd</sup> Mechanobiology Conference, National University, Singapore, 3-5 novembre 2009 : « Auditory hair cell shape and function : from genes to mechanosensation » – Keynote.

ESF-UB Conference in Biomedicine, *Rare Diseases, Hearing and Sight Loss*, Sant Feliu de Guixols, Espagne, 22-27 novembre 2009 : « Mechanosensation in auditory sensory cells : what did we learn from deafness genes ? ».

ASCB Annual Meeting, *The Human Model : Genetics as Two-Way Information Symposium*, San Diego, États-Unis., 5-9 décembre 2009 : « Mechanosensation in auditory sensory cells : what did we learn from deafness genes ? ».

Assises de Génétique humaine et médicale, Strasbourg, 29 janvier 2010 : « Des gènes impliqués dans la surdité humaine à la physiologie et physiopathologie moléculaires de la cochlée » (Unravelling molecular auditory physiology and pathophysiology through genes underlying human deafness).

*From Auditory Neuropathies to appropriate intervention and exploration* Workshop – School of Medicine, Clermont-Ferrand, 12 mars 2010 : « Genetic bases, molecular mechanisms ».

Institut Jacques Monod, Paris, 16 mars 2010 : « Formation et fonctionnement de la cellule sensorielle auditive : Des gènes de surdité aux mécanismes de traitement des signaux acoustiques ».

Rockefeller University, Friday Series Lecture, 30 avril 2010 : « Understanding hearing mechanisms : advances rooted in the genetic approach », Featured Lecture.

Centre for Integrative Genomics (CIG) University, Symposium 2010, *Sensing the environment*, Lausanne, Suisse, 16-17 juin 2010 : « From deafness genes to sound processing by the hair bundle ».

International Titisee Conferences, *Sensory Transduction, the Gateway to Perception : Mechanisms and Pathology*, Titisee, Schwarzwald, Allemagne, 14 octobre 2010 : « Genetics and molecular physiology of sound processing in the hair bundle ».

National Institute on Deafness & Other Communication Disorders, NIH, Bethesda, États-Unis, 2 novembre 2010 : « Understanding hearing mechanisms : advances rooted in the genetic approach » – Featured Lecture.

40<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Neuroscience, San Diego, États-Unis, 14 novembre 2010 : « Understanding sound processing in the auditory system : Advances rooted in the genetic approach » – Fred Kavli Distinguished International Scientist Lecture.

Seoul National University College of Medicine, Department of Otorhinolaryngology, Head & Neck Surgery, Séoul, Corée du Sud, 25 novembre 2010 : « Hereditary deafness in humans : from genes to pathogenesis ».

Institut Pasteur Korea, Séoul, Corée du Sud, 26 novembre 2010 : « Understanding sound processing in the auditory system : Advances rooted in the genetic approach ».

Hong Kong University of Science & Technology, Biochemistry and Cell Biology Section, Division of Life Science, Hong Kong, 29 novembre 2010 : « Understanding hearing molecular mechanisms : Advances rooted in hereditary deafness », IAS Distinguished Lecture.

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

ESF-UB Conference in Biomedicine, *Rare Diseases, Hearing and Sight Loss*, Sant Feliu de Guixols, Espagne, 22-27 novembre 2009.

International Titisee Conferences, *Sensory Transduction, the Gateway to Perception : Mechanisms and Pathology*, Titisee, Schwarzwald, Allemagne, 13-17 octobre 2010.



### Conférences « Grand public »

Semaine du son, Palais de la Découverte, Paris, 12 janvier 2010 : « Ces atteintes auditives liées au bruit que l'on pensait temporaires : Des gènes de susceptibilité/résistance aux traumatismes sonores ? ».

Colloque Fondation Jacques Chirac : « Handicap visuel, Handicap auditif... innovations », Assemblée nationale, Paris, 1<sup>er</sup> février 2010 : « Surdité héréditaire : gènes, pathogénie, traitement ».

*For Women In Science* L'Oréal-Institut Pasteur, Paris, 1<sup>er</sup> mars 2010 : « How to establish a multidisciplinary network ».

### Programmes européens

EuroHear FP6 Closure Meeting, Bruxelles, Belgique, 11 & 12 novembre 2009.

FP7 EEC « TREATRUSH : *Fighting blindness of Usher syndrome : diagnosis, pathogenesis and retinal treatment* » (2010), coordinatrice scientifique (10 laboratoires : France, Allemagne, Grande-Bretagne, Italie, Pays-Bas, Suisse, États-Unis).

## ENSEIGNEMENT

### Cours et séminaire au Collège de France

Audition et bruit : de la physiologie à la pathologie/*Audition and noise : from physiology to pathology* : les jeudis 17 décembre 2009, 7, 14 et 21 janvier 2010.

1. Sons de parole et bruit : masquage et débruitage des signaux acoustiques par le système auditif/*Speech sounds and noise : sound masking and unmasking of acoustic signals by the auditory system*.

– Séminaire invité : Richard Chadwick (Auditory Mechanics, NIDCD, NIH, Bethesda), « Cochlear waveform distortions : from nanomechanics to Epidaurus ».

2. Le système efférent : rôle dans le masquage et la protection contre le stress sonore/*Role of the efferent system in sound masking and protection against sound stress*.

– Séminaire invité : Hung Thai-Van (Audiologie & Explorations Orofaciales, CNRS, Lyon), « Caractérisation du système efférent : de la neurophysiologie aux applications cliniques ».

3. Les surdités dues au stress sonore. Ces traumatismes sonores qui passent inaperçus/*Deafness due to sound stress and unnoticed sound trauma*.

– Séminaire invité : Antoine Chaigne (UER de mécanique, ENSTA, Palaiseau), « Les instruments de l'orchestre : à chacun son timbre... une seule physique ! ».

4. Les formes de surdité qui affectent l'écoute dans le bruit ; la presbycusis/*Deafness forms that affect hearing in noise ; presbycusis*.

– Séminaire invité : Erkki Bianco (ORL-Phoniatre, Paris), « Acoustique et physiologie de la voix parlée et chantée ».

### Enseignement à l'étranger : Tunis (Tunisie)

1. Perception cutanée : la découverte des canaux ioniques récepteurs de la température, de la douleur et des stimulations mécaniques. Institut Pasteur de Tunis. 9 juillet 2010.

2. Surdités héréditaires : avancées scientifiques et médicales récentes, nouvelles voies thérapeutiques. CHU La Rabta. 10 juillet 2010.

## PROFESSEURS INVITÉS

Isabelle Peretz : « Neurosciences cognitives de la musique », novembre 2009.

Marc Tessier-Lavigne : « Development, degeneration and regeneration of neuronal circuits », mars-avril 2010.

## SOUTENANCE DE THÈSES

Léa Lepelletier : « Le développement de l'épithélium sensoriel auditif : mouvements cellulaires et détermination de la forme de la région apicale des cellules ciliées », septembre 2009.

Laurence Jonard : « Surdités progressives d'origine génétique : Analyse des gènes SLC26A4, COCH, WFS1 et étude pangénomique », novembre 2009.