

Génétique et physiologie cellulaire

M^{me} Christine PETIT, membre de l'Institut
(Académie des sciences), professeur

ENSEIGNEMENT¹

Cours : Modulation de la perception sonore

Le cours de l'année 2014-2015 a porté sur la *modulation de la perception sonore*.

Ont été abordés :

- la représentation corticale des stimuli acoustiques, et tout particulièrement les nouveaux concepts issus de l'étude des sons naturels ;
- les avancées récentes concernant le codage cortical des sons ;
- la modulation de la perception des sons par l'attention, l'apprentissage et l'émotion ;
- les troubles de la représentation sonore : la dyslexie développementale.

La perception auditive est modulée par l'état psychique, notamment émotionnel, et les fonctions cognitives (attention, apprentissage, mémoire). L'étude du mode d'action de ces modulateurs éclaire les principes du fonctionnement du système auditif et ceux de la cognition auditive qui conduisent à l'élaboration d'une représentation cohérente du monde sonore. Des avancées récentes en neurophysiologie auditive permettent d'expliquer certaines de ces modulations.

La représentation corticale des stimuli acoustiques : les nouveaux concepts issus de l'étude des sons naturels

Nous nous sommes précédemment intéressés à la perception des sons purs, puis à celle des sons de communication : vocalisations, chants des oiseaux, et parole. La prédiction de la théorie *efficient coding hypothesis* (Barlow H.B., 1961), selon laquelle le traitement des signaux par les systèmes sensoriels tire ses principes de son adaptation à l'environnement naturel – et en conséquence réduit, par analyse

a. Cours et séminaires sont disponibles en audio et vidéo sur le site internet du Collège de France : <http://www.college-de-france.fr/site/christine-petit/course-2014-2015.htm> [NdÉ].

statistique, la redondance qui le caractérise –, a été à l'origine de nombreuses avancées dans la compréhension du fonctionnement du système visuel. Elle inspire depuis une dizaine d'années des recherches portant sur la perception des environnements acoustiques naturels dans le but d'identifier les caractéristiques des séquences sonores qui sont extraites par le système auditif et de comprendre leur mode d'analyse. Or les sons naturels, tout comme les images naturelles, présentent des régularités : elles se manifestent par exemple par des corrélations temporelles, telles que des covariations en amplitude dans les différentes bandes de fréquence.

Les travaux de Josh H. McDermott et Eero Simoncelli (McDermott J.H., Simoncelli E.P., *Neuron*, 2011) sur la perception des textures des sons naturels (pluie, crépitements du feu, etc.) ont retenu notre attention. Ils sont inspirés par ceux réalisés sur les textures visuelles, depuis la fin des années 1980. Les textures visuelles sont définies comme la superposition d'un grand nombre de motifs qui se répètent dans une image, de façon plus ou moins régulière et plus ou moins complexe. Ces travaux ont introduit la notion de caractéristiques statistiques des images. Les textures sonores correspondent à des sons produits par la superposition d'un grand nombre de motifs sonores simples qui se combinent et génèrent ainsi collectivement des propriétés statistiques. Ces caractéristiques statistiques permettent d'escompter le codage neuronal d'une information réduite, dont le transfert est par conséquent rapide et efficace. Eero Simoncelli et ses collaborateurs ont élaboré un modèle « bioinspiré » du traitement des sons. Il leur a permis d'identifier les caractéristiques statistiques des textures sonores les plus informatives pour permettre une distinction entre diverses textures. Il s'agit principalement des moments marginaux et des corrélations de la modulation en amplitude des signaux sonores dans diverses bandes et sous-bandes fréquentielles. La validité du modèle et celle des paramètres statistiques sélectionnés ont été établies par des épreuves de reconnaissance de sons synthétiques, bruits blancs auxquels on applique les paramètres retenus, dont on ajuste les valeurs à celles que le modèle permet d'extraire à partir de la texture sonore naturelle correspondante. L'ensemble des résultats montre que le système auditif peut reconnaître les textures sonores en se contentant d'une information de nature statistique. On comprend aisément l'intérêt que présente cette représentation parcimonieuse pour la mémorisation de séquences sonores. De plus, ces représentations cérébrales plus abstraites et plus comprimées doivent faciliter les processus de reconnaissance sensorielle et leur intégration dans des représentations multisensorielles. À côté d'une conception du traitement des signaux acoustiques qui attribue à leur structure spectrotemporelle fine un rôle central dans leur reconnaissance et leur mémorisation, en émerge donc une autre, qui confère ce rôle à leurs régularités statistiques (ici analysées par 7 paramètres). Ultérieurement, les mêmes auteurs ont étayé et généralisé leurs conclusions (McDermott J.H., Schemitsch M. et Simoncelli E.P., *Nature Neuroscience*, 2013). Ainsi, si la discrimination de deux échantillons provenant d'une même texture synthétique, générée en appliquant le modèle à une texture sonore naturelle, est possible lorsque l'écoute se limite à une cinquantaine de millisecondes, elle disparaît si l'écoute se prolonge. À l'inverse, la discrimination de deux textures synthétiques sonores différentes augmente avec le temps d'écoute. Ces résultats sont en accord avec l'idée d'un moyennage opéré par le système auditif. Ils fournissent une explication à l'aptitude, bien établie, de discriminer deux bruits blancs à condition que leur écoute se limite à une centaine de millisecondes. Lorsque la densité des signaux acoustiques est forte et leur durée longue, l'auditeur perd l'accès aux détails

de leur structure spectro-temporelle et devient dépendant de leur représentation statistique. Le bénéfice tiré de la perte d'information associée au traitement statistique des séquences sonores a été discuté.

Le concept d'objet acoustique a également retenu notre attention. Les objets auditifs correspondent à des expériences sensorielles, des entités perceptives qui dépendent des mécanismes cérébraux disponibles pour représenter et analyser l'information sensorielle. De ce fait, les concepts d'objet et d'analyse de l'objet sont inséparables. Griffith et Warren ont proposé quatre conditions requises pour identifier un objet auditif (Griffiths T.D., Warren J.D., *Nature Reviews Neuroscience*, 2004). L'analyse de l'objet implique :

- qu'elle porte sur des éléments qui relèvent du monde sensoriel ;
- que la représentation neuronale en rapport avec cet objet soit séparée de celle en rapport avec d'autres objets ;
- que la représentation de cet objet soit telle qu'elle puisse être généralisée et partagée (ainsi, on doit pouvoir reconnaître un visage quel que soit l'angle sous lequel il se présente et quelle que soit la façon dont il est éclairé) ;
- qu'un partage de la représentation acoustique de l'objet avec les représentations qui émanent de son analyse par d'autres modes sensoriels soit possible.

Ainsi par exemple, visage et voix d'un individu peuvent être rapprochés. Un travail qui a testé l'idée de représentation de l'objet acoustique, en prenant pour objet le flux de parole d'un individu en situation de *cocktail party*, a été discuté (Ding N. et Simon J.Z., *PNAS*, 2012). Dans la situation choisie, les paroles de deux locuteurs se mêlent. La réponse neuronale corticale est analysée par magnétoencéphalographie, qui offre une excellente résolution temporo-spatiale (environ 1 ms et 2-3 mm). La représentation d'un objet acoustique impose le regroupement de la parole de chacun des locuteurs en un flux acoustique distinct. L'indépendance de l'objet auditif est testée par le recours à un processus de modulation ne s'appliquant qu'à la parole d'un des deux locuteurs (variation de l'attention portée à la parole d'un locuteur donné, variation de l'intensité de la parole de l'un des deux locuteurs). L'hypothèse développée stipule que, dans certaines régions corticales auditives, la représentation de l'objet auditif conduit à une activité neuronale qui présente une corrélation temporelle avec l'enveloppe sonore de la parole d'un seul des deux locuteurs ; l'activité neuronale est cadencée et suit le rythme de la parole (*phase locking*). Dans d'autres régions corticales, la réponse neuronale devrait au contraire être corrélée avec l'ensemble de la stimulation sonore, soit le mélange des deux enveloppes sonores. Les résultats obtenus montrent qu'il y a bien un codage séparé des paroles de chacun des deux locuteurs au niveau du cortex auditif ; l'attention portée à l'un des deux locuteurs majore le codage correspondant. Les expériences suggèrent aussi que la représentation neuronale d'un flux de parole est stable, quels que soient les changements d'intensité de la parole, et qu'elle soit écoutée ou négligée. Les représentations neuronales dans le cortex auditif ne sont donc pas la simple représentation des stimuli physiques (qui serait alors celle des deux paroles superposées), mais sont bien celles de l'enveloppe sonore de chacun des flux de parole. Ces résultats apportent un argument de poids à la notion d'objet auditif.

Le codage cortical des sons : avancées récentes

Notre intérêt s'est porté sur les représentations des divers paramètres sonores dans le cortex auditif primaire A1, et tout d'abord, sur la représentation fréquentielle (tonotopie). Elle fait référence à l'organisation spatiale des neurones en gradient en fonction de leur sensibilité préférentielle à une fréquence sonore donnée. La tonotopie est présente dans la cochlée et elle est préservée dans les noyaux neuronaux des voies auditives centrales. Elle a été rapportée dans le cortex auditif primaire A1 de nombreuses espèces de mammifères incluant l'homme, les primates non humains, et le chat. Pourtant, chez la souris, son existence dans l'aire A1 était encore en débat en 2010. Or une absence de tonotopie dans l'aire A1 de souris pouvait fortement limiter l'intérêt de l'étude du traitement cortical des sons dans cette espèce. Entre 2010 à 2013, ce point a été progressivement clarifié. Un travail réalisé en 2010 (Bandyopadhyay S., Shamma S.A., Kanold P.O., *Nat. Neurosci.*, 2010) par imagerie calcique biphotonique chez des souris anesthésiées a montré l'existence d'une carte tonotopique grossière au niveau de l'aire A1 (une tonotopie rostro-caudale allant des hautes aux basses fréquences avec un gradient d'environ 3 octaves/mm, et couvrant l'ensemble du cortex A1). L'étude a été étendue à la recherche d'une cartographie des neurones fondée soit sur la largeur de la bande passante de leur réponse, soit sur leur réponse préférentielle à une intensité donnée. Pour des neurones adjacents, une assez grande hétérogénéité des largeurs de leurs bandes passantes a été observée. Aucune organisation spatiale graduelle des neurones évoquant une « cartographie d'intensité » n'a été observée. En revanche, une formation en microdomaines composés de quelques neurones partageant une réponse préférentielle aux mêmes intensités a été notée. La démarche a été élargie à la recherche de regroupements spatiaux de neurones, fondée sur la réponse non plus à un seul paramètre mais à plusieurs. L'absence d'une authentique carte tonotopique corticale chez la souris, en dépit d'une organisation tonotopique grossière à grande échelle, a été confirmée par une autre étude (Rothschild G., Nelken I. et Mizrahi A., *Nat. Neurosci.*, 2010). Deux études publiées en 2011 et 2012, portant sur des analyses électrophysiologiques effectuées chez des souris anesthésiées (Hackett T.A., Barkat T.R., O'Brien B.M., Hensch T.K., Polley D.B., *J. Neurosci.*, 2011 ; Guo W., Chambers A.R., Darrow K.N., Hancock K.E., Shinn-Cunningham B.G., Polley D.B., Winkowski D.E., Kanold P.O., *J. Neurosci.*, 2012), ont cependant apporté des éléments en faveur de l'existence d'une carte tonotopique dans la couche L4 de l'aire corticale A1 de la souris. En 2013, une étude en imagerie calcique biphotonique utilisant le Fluo-4, strictement concentrée sur la couche L4 de l'aire corticale A1, c'est-à-dire la couche de projection des afférences thalamo-corticales, (Winkowski D.E., Kanold P.O., *J. Neurosci.*, 2013), a apporté la preuve définitive d'une organisation tonotopique de cette couche corticale. L'organisation tonotopique disparaît dans les couches L2/L3, ce qui indique qu'une transformation de l'information sensorielle a lieu lors du passage de L4 à L2/L3.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux avancées récentes portant sur les bases neuronales de la discrimination sonore. Un travail réalisé sur les réponses des neurones des couches L2/L3 étudiées par imagerie calcique chez des souris anesthésiées (Bathellier B., Ushakova L. and Rumpel S., *Neuron*, 2012) a conclu à l'existence d'un répertoire limité de réponses pour une population donnée de neurones. La discrimination sonore se tiendrait dans la réponse globale du cortex, qui mettrait à profit la combinaison de modes distincts de réponse pour engendrer

une réponse globale spécifique d'un stimulus. Ce travail a révélé aussi l'existence d'un mode de fonctionnement non linéaire du cortex auditif : les réponses des neurones dans un champ qui répond à deux sons selon des modes distincts montrent que, lors de la réponse à un mélange de ces deux sons, les modes de réponse sont soit d'un type, soit d'un autre, et ne sont jamais mélangés. Au total, une représentation discriminante des sons n'émerge dans la couche L2/L3 du cortex auditif qu'à un niveau global, représentation dans laquelle les unités fonctionnelles sont formées de quelques centaines de neurones. Une très faible fraction de ces unités fonctionnelles rend compte d'une grande part de la discrimination pour une paire de sons donnée.

Une avancée notable concernant l'organisation et le fonctionnement des microcircuits neuronaux, fruit d'un travail publié très récemment, a été discutée (Cossell L., Mrcic-Flogel T.D., *Nature*, 2015). La force des connexions synaptiques entre neurones détermine la façon dont ils influencent leurs réponses respectives. L'amplitude des réponses excitatrices entre des paires de neurones corticaux varie de deux ordres de grandeur, mais seul un petit nombre de connexions synaptiques sont très fortes. Cette hétérogénéité des forces de connexion synaptique est observée dans diverses aires corticales, mais sa contribution au traitement de l'information dans des microcircuits locaux n'est pas connue. Pour aborder cette question, l'intensité de la réponse des neurones des couches L2/L3 du cortex visuel primaire V1 à diverses stimulations visuelles a été étudiée, par imagerie calcique biphotonique, chez des souris anesthésiées. La région imagée a été marquée puis, par des enregistrements électrophysiologiques sur tranches de cortex (*patch-clamp* en configuration cellule entière), la force des connexions synaptiques entre les neurones imagés a été mesurée par l'amplitude de leurs potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE). L'imagerie ultrarapide a permis d'identifier des paires de neurones dont les réponses présentent une forte corrélation temporelle. Leur distribution fait apparaître l'existence d'une petite population de paires de neurones dont l'activité est hautement corrélée. Les PPSE dont l'amplitude est la plus forte sont associés à ces neurones. Ce résultat est en accord avec l'hypothèse formulée par Hebb en 1949 (Hebb D.O., 1949), selon laquelle la corrélation d'activité des neurones accroît la force de leurs contacts synaptiques. Les résultats montrent aussi que la moitié de la force synaptique proviendrait de l'activité des 7 % des paires de neurones dont la réponse à un stimulus est la plus fortement corrélée. À l'inverse, les connexions synaptiques faibles sont celles de neurones dont les réponses ne sont pas corrélées. Les connexions synaptiques fortes et réciproques surviennent souvent entre des neurones engagés dans les mêmes fonctions. On aboutit donc à une simplification de l'apparente complexité des réseaux neuronaux. L'établissement de connexions synaptiques fortes pourrait amplifier la réponse à des stimuli spécifiques dans les microcircuits corticaux. Les auteurs proposent que les connexions synaptiques faibles assurent, quant à elles, la plasticité de réponse des réseaux neuronaux. Il y a là une incitation à repenser la façon dont on explore les microcircuits cérébraux.

La modulation de la perception des sons par l'attention, l'apprentissage et l'émotion

Nous nous sommes intéressés aux mécanismes qui sous-tendent la modulation de la perception auditive par l'attention, et tout particulièrement à l'implication des oscillations électriques cérébrales dans ce processus. Le cours a été introduit par

une présentation de ces oscillations et de leur rôle aujourd'hui bien établi dans certains aspects de la perception et de la cognition sensorielles. Puis les travaux du laboratoire de Charles Schroeder mettant en lumière le rôle de ces oscillations dans les effets qu'exerce l'attention sur la réponse du cortex auditif primaire chez le macaque ont été discutés. Dans une étude publiée en 2013 (Lakatos P., Musacchia G., O'Connell M.N., Falchier A.Y., Javitt D.C. et Schroeder C.E., *Neuron*, 2013), l'activité neuronale de la couche L3 du cortex auditif primaire était analysée à partir d'enregistrements par multiélectrodes, durant lesquels l'attention de l'animal se portait (ou non) sur des séquences sonores. Les macaques avaient été au préalable entraînés à prêter et soutenir leur attention à ces séquences pour détecter la présence d'une fréquence déviante. Ces séquences étaient chacune composées d'un son pur d'une durée de 25 millisecondes, dont la fréquence était de 5,7 kHz ou 16 kHz. Cette « bouffée sonore » était répétée à intervalles réguliers avec une fréquence de 1,6 Hz pour les bouffées sonores de 5,7 kHz et de 1,8 Hz pour les autres. Des oscillations électriques de type delta dont la rythmicité est celle du son ont été observées. Dans la région corticale dont la fréquence caractéristique est celle de la bouffée sonore (5,7 kHz ou 16 kHz), ces oscillations passaient par leur phase de dépolarisation maximale pendant la « bouffée sonore », ce qui a pour effet de favoriser la genèse de potentiels d'action synchrones du son. Dans une région corticale dont la fréquence caractéristique n'est pas celle de la bouffée sonore, des ondes de même rythmicité que la stimulation sonore étaient aussi décelées, mais la stimulation sonore coïncidait avec la phase correspondant à l'hyperpolarisation des neurones, inhibant ainsi leur décharge. Les ondes électriques observées sont donc présentes dans l'ensemble du cortex auditif, mais elles sont en opposition de phase par rapport aux vagues sonores dans la région corticale accordée en fréquence avec la bouffée sonore, tandis qu'elles sont en phase dans les régions non accordées. Parce que ces oscillations électriques se poursuivent quelques secondes après l'arrêt du son, l'origine de ces fluctuations rythmiques calées sur les répétitions du son a été attribuée à un mécanisme d'entraînement de réseaux de neurones par le son sur plusieurs cycles. Au total, ces résultats suggèrent que l'attention portée à une séquence sonore rythmique attendue entraîne à travers l'ensemble du cortex auditif des réseaux neuronaux, d'une façon telle que leur activité oscillatoire devient cohérente et ajustée à la rythmicité du son. Ces résultats ont été étendus aux ondes thêta synchronisées par des répétitions sonores de fréquences correspondantes. Comme les oscillations delta, elles sont entraînées par un stimulus auditif rythmé auquel les singes prêtent attention. Par le jeu de la présentation simultanée de deux sons sur lesquels le singe porte alternativement son attention, ces conclusions ont été renforcées. Les enregistrements mettent en évidence, dans la région corticale accordée en fréquence avec la bouffée sonore, une augmentation des décharges neuronales et de la densité de courant induite par l'attention. Plus important, ils démontrent que l'association du maximum de dépolarisation de l'onde delta avec le maximum de la stimulation sonore est un effet de l'attention. Dans plusieurs aires corticales, outre celle qui est accordée en fréquence avec le stimulus sonore, l'attention est à l'origine de la synchronisation de l'activité de réseaux neuronaux. Quand des stimuli sonores sont présents simultanément, seul celui sur lequel se porte l'attention entraîne l'activité oscillatoire delta à travers un ensemble de régions corticales. Ces conclusions permettent une prédiction qui a été validée expérimentalement : l'amplitude des décharges neuronales en réponse à un stimulus sonore ignoré dans la région accordée en fréquence à ce stimulus dépend de sa

relation temporelle avec le stimulus auquel l'attention est prêtée. L'attention se comporte donc comme un filtre temporo-spectral de l'activité neuronale du cortex auditif primaire. Ces découvertes renforcent l'idée selon laquelle les fluctuations de l'excitabilité d'ensembles de neurones distribués forment le contexte dans lequel sont traités les contenus sensoriels spécifiques (Buzsaki G. et Chrobak J.J., *Curr. Opin. Neurobiol.*, 1995). L'attention module l'activité oscillatoire dans la couche supragranulaire L3 par des mécanismes de type *top-down* qui restent à déterminer.

La situation de compétition sonore renvoie tout naturellement à l'effet *cocktail party*, ce qui nous a conduit à nous intéresser à un autre travail, publié dans la revue *Neuron* en 2013 (Zion Golumbic E.M., Schroeder C., *Neuron*, 2013). Les oscillations de basse fréquence sont particulièrement intéressantes parce que leur période se situe dans l'échelle de temps des fluctuations de l'enveloppe de la parole. L'objectif de l'étude était d'examiner comment l'attention influence la représentation neurale de la parole attendue ou ignorée dans une situation de *cocktail party*. L'hypothèse testée était la suivante : l'attention entraîne-t-elle les oscillations neuronales de basse fréquence dont la phase est « calée » sur celle du flux de la parole écoutée, formant ainsi une représentation interne amplifiée du flux de la parole écoutée ? Cette hypothèse d'entraînement sélectif est attractive pour plusieurs raisons. D'une part, le flux de parole naturelle est quasi rythmique, en ce qui concerne à la fois les niveaux prosodiques et les niveaux syllabiques ; ces rythmes conduisent à des régularités temporelles qui autorisent un effet d'entraînement cérébral. D'autre part, si l'entraînement aligne les phases de haute excitabilité des oscillations de basse fréquence avec les instants où surviennent des événements saillants dans le flux de la parole écoutée, l'amplitude des décharges neuronales qui coïncident avec ces événements va croître. L'activité corticale a été analysée par électrocorticographie chez six patients atteints d'épilepsie sévère, en période préopératoire. L'électrocorticographie a, chez l'homme, un très bon rapport signal/bruit de fond et une très bonne résolution spatiale ($< 5 \text{ mm}^2$). Pour chaque électrode, la bande fréquentielle du signal neuronal qui représente au mieux la structure temporelle de la parole dans les fluctuations de sa phase et/ou de son amplitude a été déterminée. Les résultats montrent que le pourcentage de sites cérébraux pour lesquels il y a cohérence de phase entre les oscillations cérébrales et le flux de parole auquel le patient prête attention est élevé pour les oscillations de basses fréquences (delta et thêta), et moindre pour les oscillations alpha. Le pourcentage des sites pour lesquels il y a cohérence d'amplitude est toujours plus faible, et en règle générale, cette cohérence est associée aux oscillations de plus haute fréquence. Au total, la phase des oscillations de basse fréquence et l'amplitude des oscillations de haute fréquence suivent l'enveloppe de la parole écoutée. La cohérence de phase ne se limite pas au cortex auditif primaire, mais s'étend aux régions de haut niveau d'intégration impliquées, en particulier dans le traitement du langage, le traitement multisensoriel et le contrôle de l'attention. En revanche la cohérence en amplitude sur les hautes fréquences est presque exclusivement présente dans le cortex auditif primaire. L'attention portée à un locuteur dans une situation de *cocktail party* conduit à une réponse corticale dont les caractéristiques distribuées sur le cortex sont très voisines de celles observées quand un locuteur unique s'exprime. En revanche, la cohérence de phase et d'amplitude diminue si l'attention se porte alternativement de la parole d'un locuteur à celle de l'autre. Certains sites cérébraux dits « non sélectifs » montrent un suivi significatif des locuteurs, écoutés comme ignorés, bien que leurs réponses soient biaisées dans la direction du locuteur écouté. D'autres ont une

réponse qui paraît sélective pour la parole écoutée : ils se situent presque exclusivement hors du cortex auditif primaire. Le suivi de la parole écoutée dans ces sites « sélectifs » augmente avec la progression de la phrase, indiquant que ces régions sont capables d'utiliser les régularités spectro-temporelles de la parole écoutée pour affiner progressivement les représentations du stimulus écouté. Cet effet d'adaptation ne paraît pas exister au niveau des noyaux auditifs de niveau hiérarchique inférieur. Ces résultats fournissent une base empirique à l'idée selon laquelle l'attention sélective dans le modèle de *cocktail party* repose sur un contrôle de type *top-down* de l'excitabilité neuronale au cours du temps (Lakatos P., Schroeder C., *Neuron*, 2009). Le produit de cette interaction est la formation d'une représentation neurale dynamique de la structure temporelle du flux de la parole écoutée, à laquelle sont associés des effets amplificateurs et de filtre temporel. Ces résultats sont en accord avec l'idée d'un *sensing actif*, par lequel le cerveau modèle de façon dynamique sa représentation interne du stimulus, et particulièrement des stimuli naturels et continus, pour répondre aux demandes environnementales et contextuelles.

Les bases cellulaires des oscillations cérébrales – produit des interactions entre les neurones pyramidaux glutamatergiques et les interneurons inhibiteurs GABAergiques – ont ensuite été évoquées. Comme l'ont montré György Buzsáki et James Chrobak en 1995 (Buzsáki G. et Chrobak J.J., *Curr. Opin. Neurobiol.*, 1995), ce sont les interneurons inhibiteurs qui jouent un rôle essentiel dans la structuration et la ségrégation spatio-temporelle de ces oscillations. Par exemple, la fréquence des oscillations dépend de la durée de l'inhibition exercée par les interneurons.

Les troubles de la représentation sonore : la dyslexie développementale

Nous nous sommes intéressés à la dyslexie développementale, ainsi nommée par opposition aux dyslexies survenant après un accident, par exemple. En 1896, le docteur William Pringle-Morgan décrit un jeune patient présentant des difficultés de lecture qu'il qualifie de *congenital word-blindness* (Pringle-Morgan, *British Medical Journal*, 1896). L'OMS a proposé la définition suivante de la dyslexie (2008) : « troubles spécifiques durables et persistants de l'acquisition du langage écrit apparaissant chez un enfant d'intelligence normale lorsque l'intelligence est évaluée par des épreuves non verbales, et sans aucun autre trouble ». La dyslexie conduit souvent à des échecs scolaires.

La lecture a pour but la compréhension d'une information écrite ; elle passe, en général, par la conversion de graphèmes en phonèmes. C'est en raison de l'hypothèse phonologique proposée pour expliquer ce trouble de la conversion graphophonémique que la dyslexie a été discutée dans ce cours. L'hypothèse phonologique de la dyslexie stipule que l'apprentissage de reconnaissance alphabétique, syllabique et des mots passe par l'établissement de liens entre leurs représentations mentales et leur perception au sein de sons de parole ; ces représentations phonologiques seraient altérées chez les dyslexiques. L'hypothèse phonologique de la dyslexie s'est progressivement imposée au cours des 30 dernières années. En conséquence, le problème de la perception des phonèmes chez les personnes dyslexiques a été posé. Il a ensuite été élargi à celui d'un possible déficit auditif plus général qui porterait sur la composante temporelle de la perception des signaux acoustiques (Tallal P., *Brain Lang*, 1980). Faute d'une résolution temporelle suffisante, les signaux de parole qui comportent des sons brefs ou font intervenir des transitions rapides, par

exemple entre une consonne et une voyelle, ne seraient pas perçus normalement par les personnes dyslexiques. Or, comme nous l'avons vu, l'intelligibilité de la parole repose principalement sur le décryptage de l'enveloppe sonore de la parole, elle-même caractérisée par la présence de transitions en amplitude, rapides. Les trois symptômes majeurs du déficit phonologique de la dyslexie sont une conscience phonologique pauvre, un déficit de mémoire verbale à court terme, et une difficulté d'accès au lexique phonologique. La dyslexie est le trouble d'apprentissage le plus commun de l'enfance. Sa prévalence dépend bien sûr de sa définition. On l'estime à 3,6 % des enfants du primaire aux Pays-Bas, de 3 % à 7 % en France, et à 10 % aux États-Unis. Les garçons sont deux fois plus souvent affectés que les filles. Au début du XX^e siècle, en 1939, Edith Norrie (Norrie E., 1939) rapporte le caractère familial de la dyslexie. Puis en 1950, Hallgren (Hallgren A., *Acta Psychiatr. Neurol. Suppl.*, 1950) décrit 116 cas index, et trouve plusieurs membres affectés dans leurs familles. Les études menées chez les jumeaux indiquent une héritabilité allant de 50 % à 70 %. Rappelons que l'héritabilité est la part de variance phénotypique due à la variance génotypique ou la part des facteurs génétiques dans la probabilité d'apparition d'un trait phénotypique donné au sein d'une population donnée.

Les connaissances concernant ces facteurs de susceptibilité génétique sont étonnamment peu fournies. Elles reposent sur l'étude de grandes familles atteintes et sur des études d'association. Quant aux gènes eux-mêmes, leur identification a été possible lorsqu'elle a pu s'appuyer sur de rares réarrangements chromosomiques présents chez les personnes atteintes. Il est surprenant que des études d'association portant sur l'ensemble du génome (GWAS) n'aient été réalisées que très récemment. De plus, leurs résultats préliminaires rejoignent ceux observés pour beaucoup de handicaps, troubles ou maladies communes multifactorielles : une absence quasi totale de mise en évidence de nouveaux *loci*. Ces résultats sont regroupés sous le terme « d'héritabilité manquante », dont l'une des explications avancées est la prise en considération des seuls variants qui, dans la population générale, ont une fréquence d'au moins 5 %. Or l'immense majorité des variants génomiques sont des variants rares, qui échappent donc à cette analyse. Les *loci* impliqués dans la dyslexie développementale, les gènes responsables et les gènes candidats ont été présentés. À partir de la connaissance de ces gènes, quatre types d'anomalies cellulaires possibles ont été proposées à l'origine de la dyslexie : anomalies de migration neuronale, anomalies de croissance neuritique, anomalies ciliaires, et atteintes d'interneurones GABAergiques (Giraud A.L., Ramus F., *Current Opinion in Neurobiology*, 2013).

Les analyses cérébrales par tractographie ont mis en évidence des corrélations entre l'atteinte de l'intégrité du faisceau arqué gauche et les performances de reconnaissance des phonèmes ou de perception de la parole (Vandermosten M., Ghesquière P., *Brain*, 2012), puis l'imagerie cérébrale fonctionnelle par résonance magnétique (IRMf) (Boets B., Ghesquière P., *Science*, 2013) a révélé une activité cérébrale semblable associée aux représentations phonémiques chez les adultes dyslexiques et chez ceux qui ont acquis la lecture sans difficulté, quoique son apparition soit un peu retardée chez les dyslexiques. L'hypothèse de la défaillance d'un accès aux représentations phonémiques a alors été testée.

Beaucoup d'études ont montré que l'aire de Broca, particulièrement au niveau du gyrus frontal inférieur gauche, est impliquée dans l'intégration sensori-motrice et le traitement phonologique. Cette aire a accès aux représentations phonémiques qui se forment dans les cortex auditifs primaire et secondaire, pour les traiter. Cependant,

les connexions fonctionnelles entre, d'une part, le gyrus frontal inférieur gauche et le cortex auditif primaire droit, et d'autre part le gyrus frontal inférieur gauche et le gyrus temporal supérieur gauche, sont plus faibles chez les dyslexiques. L'anomalie de connexion fonctionnelle mise en évidence dans ces travaux récents suggère un défaut d'accès efficace aux représentations des sons de parole, ce qui empêcherait les personnes dyslexiques de manipuler de façon rapide les représentations des sons de parole. Or cette connexion est assurée par le faisceau arqué gauche, qui lie les aires de Broca et de Wernicke. En réanalysant les données de la tractographie, une réduction significative de l'intégrité de la matière blanche qui forme le faisceau arqué gauche a été notée chez les dyslexiques. (Norton E.S., Gabrieli J.D.E., *Current Opinion in Neurobiology*, 2015 ; Underwood E., *Science*, 2013). Cette donnée anatomique vient compléter le déficit fonctionnel, illustrant un autre aspect du défaut de communication entre les aires du langage, temporale et frontale, de l'hémisphère gauche. Ensemble, ces anomalies rendent compte de 35 % de la variance des capacités de lecture et des aptitudes à épeler. On ne saurait donc abandonner l'hypothèse d'un déficit phonologique dans la dyslexie. Les données comportementales recueillies chez les patients dyslexiques montrent qu'ils ont bien un déficit sévère dans le domaine phonologique traditionnel, qui inclut la reconnaissance des phonèmes, la mémoire verbale à court terme, et l'accès au lexique.

En 2009, le groupe de Nina Kraus (Chandrasekaran B., Kraus N., *Neuron*, 2009) a apporté des éléments en faveur de l'existence d'un déficit de perception auditive dans le bruit chez les enfants dyslexiques, en montrant que la dyslexie est associée à une absence d'augmentation de l'amplitude de la réponse FFR (*frequency following response*), réponse électrique du tronc cérébral à certaines harmoniques des voyelles lorsqu'elles sont répétées. Or cette augmentation est elle-même corrélée avec les difficultés d'écoute dans le bruit. Ceci pourrait indiquer que les enfants dyslexiques sont incapables d'exploiter les répétitions des sons de parole.

Enfin, un autre éclairage est apporté par les travaux du laboratoire d'Anne-Lise Giraud (Lehongre K., Giraud A.L., *Neuron*, 2011), qui se propose de tester l'hypothèse de Goswami publiée en 2011 (Goswami U., *Trends Cogn. Sci.*, 2011). Cette hypothèse stipule que l'échantillonnage temporel (*temporal sampling framework*) de la parole par les oscillations électriques cérébrales est perturbé chez les dyslexiques. Ces oscillations coderaient, sous différentes fréquences, l'information de parole, celle des syllabes et des phonèmes en particulier. Cet échantillonnage rapide, s'il est perturbé, devrait conduire à une représentation des phonèmes d'un format temporel inhabituel, avec des conséquences spécifiques sur leur traitement, l'association phonème-graphème, et la mémoire phonologique. Dans le cortex auditif au repos, les oscillations les plus importantes correspondent aux propriétés rythmiques de la parole : les oscillations des bandes delta et thêta ont des fréquences qui incluent celles des syllabes (autour de 4 Hz), et celles des bandes gamma de basse fréquence incluent celles des phonèmes (autour de 30 Hz). En comparant, en magnéto-encéphalographie, les oscillations gamma de basses fréquences centrées sur la fréquence phonémique dominante, qui est de 30 Hz, chez des individus atteints de dyslexie et des témoins pour lesquels l'acquisition de la lecture était normale, il a tout d'abord été mis en évidence qu'en accord avec la théorie d'échantillonnage asymétrique, l'échantillonnage d'un bruit blanc modulé à la fréquence de 30 Hz est préférentiellement opéré dans le *planum temporale* gauche. L'activité du *planum temporale* gauche est corrélée, chez les individus

témoins, à leur performance dans l'activité de lecture rapide et, à un moindre degré, à leur conscience phonologique. Chez les adultes atteints de dyslexie, les tracés sont très différents. La réponse préférentielle du *planum temporale* gauche aux fréquences de 30 Hz est absente, et pour toutes les fréquences de modulation, 20 Hz, 40 Hz et autour de 60 Hz, c'est le *planum temporale* droit qui répond. L'hypoactivation cérébrale chez les individus dyslexiques n'est pas restreinte au cortex auditif gauche (gyrus de Heschl et *planum temporale*) : elle s'étend aux régions du cortex somato-sensoriel et du cortex supra-marginal impliquées dans le traitement phonologique. Les dyslexiques ont perdu l'aptitude à échantillonner des sons modulés à environ 30 Hz dans le *planum temporale* gauche. Chez eux, l'activité du *planum temporale* droit pourrait compenser le déficit du *planum temporale* gauche, en particulier en ce qui concerne la conscience phonologique. Aujourd'hui, nombreuses sont les pistes à explorer plus avant pour tenter de comprendre la dyslexie développementale : génétiques, anatomiques, et physiologiques notamment. Le défi à relever est de les intégrer à la connaissance des principes et des mécanismes qui sous-tendent l'acquisition de la lecture, pour reconstituer la chaîne des événements conduisant aux symptômes.

Références bibliographiques

Bandyopadhyay S., Shamma S.A., Kanold P.O., « Dichotomy of functional organization in the mouse auditory cortex », *Nat Neurosci.*, 2010, 13(3), 361-8 ; Barlow H.B., « Possible principles underlying the transformation of sensory messages », *Sensory Communication, The MIT Press*, 1961, p. 217-234 ; Bathellier B., Ushakova L., Rumpel S., « Discrete neocortical dynamics predict behavioral categorization of sounds », *Neuron*, 2012, 76(2), 435-49, DOI : 10.1016/j.neuron.2012.07.008 ; Buzsáki G., Chrobak J.J., « Temporal structure in spatially organized neuronal ensembles: a role for interneuronal networks », *Curr Opin Neurobiol.*, 5, 1995, 504-510 ; Boets B., Op de Beeck H.P., Vandermosten M., Scott S.K., Gillebert C.R., Mantini D., Bulthé J., Snaert S., Wouters J., Ghesquière P., « Intact but less accessible phonetic representations in adults with dyslexia », *Science*, 342, 2013, 1251-1254 ; Chandrasekaran B., Hornickel J., Skoe E., Nicol T., Kraus N., « Context-dependent encoding in the human auditory brainstem relates to hearing speech in noise: implications for developmental dyslexia », *Neuron* 2009, 64, 311-319 ; Cossell L., Iacaruso M.F., Muir D.R., Houlton R., Sader E.N., Ko H., Hofer S.B., Mrsic-Flogel T.D., « Functional organization of excitatory synaptic strength in primary visual cortex », *Nature*, 518(7539), 2015, 399-403, DOI: 10.1038/nature14182 ; Ding N., Simon J.Z., « Emergence of neural encoding of auditory objects while listening to competing speakers », *Proc Natl Acad Sci USA*, 109(29), 2012, 11854-9 ; Giraud A.L., Ramus F., « Neurogenetics and auditory processing in developmental dyslexia », *Curr. Opin. Neurobiol.*, 23, 2013, 37-42 ; Griffiths T.D., Warren J.D., « What is an auditory object? », *Nature Rev. Neurosci.*, 5, 2004, 887 ; Goswami U., « A temporal sampling framework for developmental dyslexia », *Trends Cogn. Sci.*, 15(1), 2011, 3-10 ; Guo W., Chambers A.R., Darrow K.N., Hancock K.E., Shinn-Cunningham B.G., Polley D.B., « Robustness of cortical topography across fields, laminae, anesthetic states, and neurophysiological signal types », *J Neurosci.*, 32(27), 2012, 9159-72 ; Hackett T.A., Barkat T.R., O'Brien B.M., Hensch T.K., Polley D.B., « Linking topography to tonotopy in the mouse auditory thalamocortical circuit », *J Neurosci.*, 31(8), 2011, 2983-95 ; Hallgren A., « Specific dyslexia (congenital word-blindness) ; a clinical and genetic study », *Acta Psychiatr Neurol Suppl.*, 65, 1950, 1-287 ; Hebb D.O., « The organization of behaviour » New York, Wiley, 1949 ; Lakatos P., O'Connell M.N., Barczak A., Mills A., Javitt D.C., Schroeder C.E., « The leading sense: supramodal control of neurophysiological context by attention », *Neuron*, 64(3), 2009, 419-30, DOI : 10.1016/j.neuron.2009.10.014 ; Lakatos P., Musacchia G., O'Connell M.N., Falchier A.Y., Javitt D.C., Schroeder C.E., « The Spectrotemporal filter

mechanism of auditory selective attention », *Neuron*, 77, 2013, 750-61 ; Lehongre K., Ramus F., Villiermet N., Schwartz D., Giraud A.L., « Altered low-gamma sampling in auditory cortex accounts for the three main facets of dyslexia », *Neuron*, 72, 2011, 1080-1090 ; McDermott J.H., Simoncelli E.P. « Sound texture perception via statistics of the auditory periphery : evidence from sound synthesis », *Neuron*, 71(5), 2011, 926-40, DOI : 10.1016/j.neuron.2011.06.032 ; McDermott J.H., Schemitsch M., Simoncelli E.P., « Summary statistics in auditory perception », *Nat Neurosci.*, 16(4), 2013, 493-8, DOI : 10.1038/nn.3347 [ePub 2013 Feb 24] ; Norrie E., *Om ordblindhet*, Copenhagen, Munksgaard, 1939 ; Norton E.S., Beach S.D., Gabrieli J.D.E., « Neurobiology of dyslexia », *Curr Opin Neurobiol.*, 30, 2015, 73-78 ; Pringle-Morgan W., « A case of congenital word blindness », *BMJ*, ii, 1896, 178 ; Rothschild G., Nelken I., Mizrahi A., « Functional organization and population dynamics in the mouse primary auditory cortex », *Nat. Neurosci.*, 13(3), 2010, 353-60 ; Tallal P., « Auditory temporal perception, phonics, and reading disabilities in children », *Brain Lang.*, 9(2), 1980, 182-98 ; Underwood E « Faulty Brain Connections in Dyslexia? », *Science*, 342, 2013, 1158 ; Vandermosten M., Boets B., Poelmans H., Sunaert S., Wouters J., Ghesquière P. « A tractography study in dyslexia : neuroanatomic correlates of orthographic, phonological and speech processing », *Brain*, 135, 2012, 935-948 ; Winkowski D.E., Kanold P.O., « Laminar transformation of frequency organization in auditory cortex », *J. Neurosci.*, 33(4), 2013, 1498-508 ; Zion Golumbic E.M., Ding N., Bickel S., Lakatos P., Schevon C.A., McKhann G.M., Goodman R.R., Emerson R., Mehta A.D., Simon J.Z., Poeppel D., Schroeder C.E., « Mechanisms underlying selective neuronal tracking of attended speech at a “cocktail party” », *Neuron*, 77(5), 2013, 980-91, DOI : 10.1016/j.neuron.2012.12.037.

Séminaires

12 février 2015 : Perception de hauteur musicale : des mécanismes élémentaires aux effets de contexte. Daniel Pressnitzer, Laboratoire de psychologie de la perception, CNRS, École normale supérieure, Paris.

12 mars 2015 : *The perception of pitch*. Brian C.J. Moore, Auditory perception, département de psychologie expérimentale, université de Cambridge, Royaume-Uni.

19 mars 2015 : Perception de la musique avec un implant cochléaire. Olivier Macherey, Laboratoire mécanique et acoustique, CNRS, université Aix-Marseille.

26 mars 2015 : Perception musicale : est-ce que nous sommes tous des experts ? Barbara Tillmann, cognition auditive et psychoacoustique, CNRL, université Claude-Bernard, Lyon.

Enseignement à l'extérieur

Bonn (Allemagne), 13 avril 2015 : « What can we learn from auditory system disorders? Medical implications for hearing impaired patients », *Life & Brain GmbH-Biomedizinische & Neurowissenschaftliche Technologie-Plattformen*, université Rheinische Friedrich-Wilhelms ; « De la détection des paramètres acoustiques à la perception auditive : avancées récentes », (invitant : Pr Willi Jung Institut français, Faculté des sciences humaines).

Université de Tunis (Tunisie), 19 mai 2015 : un cours sur « Surdité due à la surexposition au bruit : mécanismes pathogéniques » ; 20 mai 2015 : un séminaire sur « Surdités : perspectives thérapeutiques ».

ACTIVITÉ DE RECHERCHE DU LABORATOIRE

Les avancées les plus significatives réalisées au cours de l'année 2014-2015 ont porté sur :

- la découverte du rôle de la pejkakine, dont les mutations sont responsables de la surdité récessive DFNB59, dans la défense du système auditif contre le stress oxydant induit par l'exposition au son : cette défense fait intervenir une prolifération adaptative des peroxysomes, auxquels la protéine est associée (Delmaghani *et al.*, *Cell*, 2015) ;

- l'élucidation du rôle des myosines de classe III dans la morphogénèse des touffes ciliaires cochléaires : ces myosines jouent un rôle critique en limitant la croissance des microvillosités appelées à devenir les stéréocils durant la phase initiale de formation de la touffe ciliaire (conduisant à l'émergence de rangées de stéréocils de hauteurs différentes) (Lelli *et al.*, *J. Cell Biol*, 2016) ;

- la mise au point d'une nouvelle stratégie de diagnostic moléculaire du syndrome de Usher, permettant d'identifier les mutations responsables chez la grande majorité (plus de 90 %) des patients (Bonnet *et al.*, *Eur. J. Hum. Genet.*, 2016) ;

- l'identification de deux nouveaux gènes apparentés, *EPS8* et *EPS8L2*, exprimés dans la touffe ciliaire des cellules sensorielles de la cochlée, et impliqués, l'un dans une forme de surdité congénitale profonde, et l'autre dans une forme de surdité infantile progressive, de transmission récessive dans les deux cas (Behloul *et al.*, 2014, *Orphanet J. Rare Dis.* ; Dahmani *et al.*, 2015, *Orphanet J. Rare Dis.*) ;

- la caractérisation d'un mode inhabituellement puissant d'interférence entre sons de haute et basse fréquences dans un modèle de souris comportant des anomalies des touffes ciliaires des cellules ciliées externes situées à la base de la cochlée (Kamiya *et al.*, 2014, *Proc Natl Acad Sci USA*).

- l'isoforme CD2 de la protocadhérine-15, dont nous avons montré qu'elle est un constituant essentiel des liens de bout de cil (*tip links*), qui occupent une place centrale dans la transduction mécano-électrique effectuée par les cellules ciliées de la cochlée (Pepermans *et al.*, 2014, *EMBO Mol. Med.*).

1) Découverte du rôle essentiel de la pejkakine dans la défense du système auditif contre le stress oxydant induit par l'exposition au son

Delmaghani S., Defourny J., Aghaie A., Beurg M., Dulon D., Thelen N., Perfettini I., Zelles T., Aller M., Meyer A., Emptoz A., Giraudet F., Leibovici M., Darteville S., Thiry M., Vizi E.S., Safieddine S., Hardelin J.-P., Avan P., Petit C. (2015)

Les mutations du gène codant la pejkakine, une protéine intracellulaire de fonction inconnue, sont responsables d'une forme de surdité récessive (DFNB59) hétérogène sur le plan clinique, souvent congénitale profonde mais parfois progressive, par atteinte des neurones des voies auditives associée ou non à une atteinte des cellules ciliées externes de la cochlée. La corrélation entre les seuils de réponse auditive des souris *Pjvk*^{-/-}, chez lesquelles le gène de la pejkakine a été invalidé, et le nombre de souriceaux par cage, nous a conduits à tester l'hypothèse d'un effet délétère de leurs vocalisations périnatales (dont l'intensité cumulée dépasse habituellement 100 dB pour les portées de 12) sur leur audition. Par stimulation sonore ou électrique du système auditif, nous avons montré que les cellules ciliées de la cochlée ainsi

que les neurones des voies auditives des souris *Pjvk*^{-/-} et des patients atteints de la surdité DFNB59 ont une vulnérabilité excessive au son. Nous avons mis en évidence l'existence, dans la cochlée des souris *Pjvk*^{-/-}, d'un stress oxydant intense, associé à un déficit de la défense anti-oxydante. Grâce à l'obtention d'anticorps spécifiques de la pejkine, nous sommes parvenus à montrer qu'elle est associée aux peroxyosomes, et que sa présence est nécessaire à la prolifération adaptative de ces organites induite par le stress oxydant. Nous avons également montré, chez les souris de génotype « sauvage », que l'exposition au bruit entraîne une activation de la transcription de *Pjvk* dès la première heure, suivie de la prolifération des peroxyosomes dans les cellules ciliées de la cochlée et les neurones auditifs primaires. Cette prolifération adaptative des peroxyosomes ne se produit pas chez les souris *Pjvk*^{-/-}, mais la transduction des cellules ciliées par un vecteur viral contenant l'ADNc codant la pejkine quelques jours après la naissance permet de récupérer une partie de la réponse proliférative au bruit à l'âge de trois semaines. Ainsi, cette étude a-t-elle révélé l'importance, méconnue jusqu'alors, de la fonction anti-oxydante des peroxyosomes, qui s'ajoute à celle, déjà connue, des mitochondries, dans la protection du système auditif contre les effets délétères du son. Enfin, elle prédit que toute stimulation du système auditif par prothèse conventionnelle ou implant cochléaire chez les patients DFNB59 devrait avoir un effet délétère.

2) Élucidation du rôle des myosines de classe III dans la morphogénèse de la touffe ciliaire des cellules sensorielles auditives

Lelli A., Michel V., Boutet de Monvel J., Cortese M., Bosch-Grau M., Perfettini I., Dupont T., Avan P., El-Amraoui A., Petit C. (2016)

L'organisation précise de la touffe ciliaire, un faisceau de microvillosités différenciées appelées stéréocils, qui forme l'antenne mécanoréceptrice des cellules ciliées cochléaires, est essentielle pour la fonction auditive. Les approches génétiques ont permis de montrer que différentes classes de myosines présentes dans les stéréocils sont impliquées dans des surdités et jouent des rôles critiques dans le développement et le maintien de la touffe ciliaire. La myosine IIIa est déficiente dans une forme récessive de surdité tardive, DFNB30. Les données *in vivo* obtenues jusqu'ici suggéraient, pour cette myosine comme pour la myosine IIIb qui est codée par un gène paralogue, un rôle restreint au stade mature. Des expériences *in vitro* avaient par ailleurs montré que les myosines IIIa et IIIb peuvent transporter l'espine-1 au sommet des protrusions d'actine, suggérant un mécanisme par lequel ces myosines pourraient promouvoir l'élongation des stéréocils et contribuer à leur maintien. Cependant, les myosines de classe III sont présentes dans les stéréocils dès les premières étapes de formation de la touffe ciliaire (dans les derniers jours de vie embryonnaire chez la souris). Nous avons montré que les souris mutantes *Myo3a*^{-/-}*Myo3b*^{-/-}, qui sont privées de façon constitutive des myosines IIIa et IIIb, ont une surdité profonde. Par contre, de façon surprenante, les souris *Myo3a*-cKO *Myo3b*^{-/-}, qui n'ont pas de myosine IIIb et perdent la myosine IIIa après la naissance, ont une audition normale. L'exploration électrophysiologique a montré que les cellules ciliées cochléaires des souris *Myo3a*^{-/-}*Myo3b*^{-/-} ont des courants de transduction mécano-électrique robustes dont les propriétés cinétiques et d'adaptation sont normales. Cependant, leurs touffes ciliaires présentent des anomalies de forme

sévères, qui changent rapidement durant l'embryogenèse. Ces défauts incluent des microvillosités et des stéréocils trop longs et trop nombreux, des touffes ciliaires ne présentant pas de gradation de hauteur des stéréocils, et des touffes ciliaires arrondies ou fermées. De façon inattendue, l'espine-1 est correctement ciblée au sommet des stéréocils chez les souris *Myo3a*^{-/-}*Myo3b*^{-/-}. Ces résultats mettent ainsi en évidence le rôle critique joué par les myosines de classe III dans la morphogenèse des touffes ciliaires des cellules sensorielles de la cochlée : ces myosines ne promeuvent pas, mais limitent la croissance initiale des stéréocils et des microvillosités vouées à régresser, contribuant ainsi à l'établissement de la forme de la touffe ciliaire, notamment à son architecture en escalier.

3) Mise au point d'une nouvelle stratégie de diagnostic moléculaire du syndrome de Usher, permettant d'identifier les mutations responsables chez plus de 90 % des patients

Bonnet C., Riahi Z., Chantot-Bastaraud S., Letexier M., Marcaillou C., Hardelin J.-P., Singh-Estivalet A., Lefèvre G.M., Smaghe L., Mohand-Saïd S., Kohl S., Kurtenbach A., Sliesoraityte I., Zobor D., Gherbi S., Testa F., Simonelli F., Banfi S., Fakin A., Martorell Sampol L., Catala Mora J., Dad S., Birk Moller L., Rodriguez Jorge J., Hawlina M., Auricchio A., Sahel J.A., Marlin S., Zrenner E., Audo I., Petit C. (2016)

Le syndrome de Usher (USH) est la cause la plus fréquente de surdité-cécité héréditaire. Il se transmet sur le mode autosomique récessif. Sur le plan clinique, on distingue trois sous-types (USH1, USH2, USH3) selon la sévérité de l'atteinte de l'audition, la présence ou l'absence d'un dysfonctionnement associé des organes vestibulaires de l'oreille interne (dévolus à l'équilibration), et l'âge d'apparition de la rétinopathie pigmentaire. Dix gènes responsables ont été identifiés : *MYO7A/USH1B*, *USH1C*, *CDH23/USH1D*, *PCDH15/USH1F*, *USH1G*, *CIB2/USH1J*, *USH2A*, *ADGRV1/USH2C*, *DFNB31/USH2D*, and *CLRN1/USH3A*. L'identification des mutations, très diverses, qui sont impliquées chez les patients, apparaît nécessaire, non seulement pour déterminer la meilleure stratégie d'appareillage auditif et d'éducation pour chaque patient, mais aussi en tant qu'étape incontournable sur la voie des thérapies géniques futures. Afin d'améliorer l'efficacité du diagnostic moléculaire, nous avons mis au point, puis testé sur un groupe de 434 patients atteints de ce syndrome, une nouvelle stratégie de diagnostic des mutations associant PCR multiplex couplée à une technique de séquençage de haut débit, permettant d'identifier les mutations ponctuelles, et *SNP array* plus PCR quantitative, permettant de détecter les grands réarrangements de l'ADN génomique (délétions ou duplications). Nous avons ainsi identifié des mutations bialléliques et monoalléliques des gènes USH1, USH2, ou USH3, respectivement chez 92 % et 6 % des 434 patients inclus dans l'étude. Environ la moitié des 423 mutations différentes identifiées par cette stratégie (213/423) n'avaient pas encore été décrites. Notre stratégie a également révélé l'existence, chez 39 patients (9 %), de grands réarrangements, dont 29 n'avaient pas encore été décrits. À noter que 4 patients porteurs de mutations bialléliques dans un gène USH étaient également porteurs d'une mutation pathogène dans un autre gène USH. Par son efficacité et son faible coût, cette nouvelle stratégie de diagnostic moléculaire USH représente un réel progrès par rapport aux méthodes utilisées jusqu'alors.

4) Identification de deux nouveaux gènes apparentés, *EPS8* et *EPS8L2*, impliqués, l'un dans une forme de surdité congénitale profonde, et l'autre dans une forme de surdité infantile progressive

Behlouli A., Bonnet C., Abdi S., Bouaita A., Lelli A., Hardelin J.-P., Schietroma C., Rous Y., Louha M., Cheknane A., Lebdi H., Boudjelila K., Makrelouf M., Zenati A., Petit C. (2014)

Dahmani M., Ammar-Khodja F., Bonnet C., Lefèvre G.M., Hardelin J.-P., Ibrahim H., Mallek Z., Petit C. (2015)

L'analyse par séquençage de l'exome entier de deux enfants algériens, nés de parents consanguins, et affectés d'une surdité congénitale profonde, nous a permis d'identifier une mutation non-sens du gène *EPS8*, à l'état homozygote. Ce gène code une protéine de 822 acides aminés, impliquée dans la dynamique des filaments d'actine et présente dans la touffe ciliaire des cellules sensorielles auditives. Les souris invalidées pour le gène orthologue sont également atteintes de surdité profonde, et les stéréocils de leurs cellules ciliées sont anormalement courts, ce qui suggère que la surdité de ces patients est également due à une anomalie des touffes ciliaires de leurs cellules sensorielles auditives.

Une analyse semblable de l'exome entier chez un autre enfant algérien atteint, ainsi que sa s ur, de surdité progressive, a permis d'identifier une mutation du gène *EPS8L2* décalant le cadre de lecture, présente à l'état homozygote. Ce gène, apparenté au pr c dent, code une protéine également présente dans la touffe ciliaire des cellules sensorielles auditives, et impliquée dans une surdité progressive chez la souris.

5) Caractérisation d'une interférence inhabituellement puissante entre sons de haute fréquence et sons de basse fréquence dans la cochlée d'une souris mutante invalidée pour le gène *Nherf1*

Kamiya K., Michel V., Giraudet F., Riederer B., Foucher I., Papal S., Perfettini I., Le Gal S., Verpy E., Xia W., Seidler U., Georgescu M.M., Avan P., El-Amraoui A., Petit C. (2014)

Un renforcement du masquage par les sons de basse fréquence est une des conséquences perceptives d'une atteinte localisée des cellules sensorielles auditives, lorsque l'élévation du seuil de perception auditive dépasse 40 dB. La protéine sous-membranaire *Nherf1* est un composant de la touffe ciliaire des cellules ciliées externes pendant leur différenciation. Les souris mutantes dépourvues de cette protéine ont des anomalies des touffes ciliaires des cellules ciliées externes prédominant à la base de la cochlée, où sont normalement analysés les sons de haute fréquence (sons aigus). L'élévation de leur seuil de perception de tels sons est cependant modérée (22 à 35 dB), malgré un dysfonctionnement majeur de ces cellules, attesté par l'absence d'otoémissions acoustiques, et la forte diminution du potentiel microphonique cochléaire. De plus, à la différence des souris non-mutantes, les réponses électriques de ces souris à de brefs sons-tests de haute fréquence (20-40 kHz) ne sont pas inhibées par un son prolongé simultané de fréquence voisine, mais le sont par des sons plus graves d'environ deux octaves, même de faible intensité (jusqu'à 25 dB de moins que le son test). De telles caractéristiques du masquage d'un son de haute fréquence par des sons de basse fréquence sont difficilement compatibles avec le modèle explicatif actuel, et

suggèrent donc un mécanisme différent : chez ces souris, les sons de haute fréquence pourraient se propager le long de la membrane tectoriale jusqu'à la région apicale de la cochlée, normalement dévolue à l'analyse des sons de basse fréquence, où ils pourraient alors, dans cette région morphologiquement intacte, interagir très efficacement avec un son simultané de basse fréquence. Cette observation révèle une source possible de mésinterprétation de seuils audiométriques faussement rassurants chez certains patients dont l'atteinte de la perception auditive serait en réalité bien plus importante en raison d'une hypervulnérabilité à l'effet de masquage exercé par des sons de basse fréquence (comme souvent les bruits), sur la réponse à des sons de fréquence plus haute.

6) Caractérisation de l'isoforme CD2 de la protocadhérine-15 comme composant non substituable des liens de bout de cil (*tip-links*) de la touffe ciliaire des cellules sensorielles auditives

Pepermans E., Michel V., Goodyear R., Bonnet C., Abdi S., Dupont T., Gherbi S., Holder M., Makrelouf M., Hardelin J.-P., Marlin S., Zenati A., Richardson G., Avan P., Bahloul A., Petit C. (2014)

La protocadhérine-15, protéine transmembranaire, est un composant des liens de bout de cil (*tip-links*), des filaments inter-stéréociliaires qui occupent une place centrale dans la transduction mécano-électrique des cellules sensorielles de l'oreille interne. Il existe trois isoformes de cette protéine, qui résultent d'un épissage alternatif du transcrite et ne diffèrent que par leur domaine cytoplasmique : CD1, CD2, CD3. Ces isoformes, pensait-on, pourraient se substituer l'une à l'autre dans la composition du *tip-link*, une conclusion qui avait été tirée d'analyses faites durant la période de développement des touffes ciliaires des cellules sensorielles auditives. Par immunomarquage spécifique de l'isoforme CD2, et par l'analyse morphologique et électrophysiologique de souris mutantes (inactivation génique conditionnelle post-natale) qui perdent cette seule isoforme après la période de différenciation de la touffe ciliaire, nous avons montré que cette isoforme est un composant non substituable des *tip-links* dans les cellules sensorielles auditives matures. Cette conclusion a pu être étendue à l'homme grâce à l'identification, à l'état homozygote, chez quelques individus sourds profonds, d'une mutation tronquante de *PCDH15* qui n'affecte que l'isoforme CD2.

PUBLICATIONS

2015

AMMAR-KHODJA F., BONNET C., DAHMANI M., OUHAB S., LEFÈVRE G.M., IBRAHIM H., HARDELIN J.-P., WEIL D., LOUHA M. et PETIT C., « Diversity of the causal genes in hearing impaired Algerian individuals identified by whole exome sequencing », *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 3(3), mai 2015, 189-196, DOI: 10.1002/mgg3.131.

BEN HALIM N., NAGARA M., REGNAULT B., HSOUNA S., LASRAM K., KEFI R., AZAIEZ H., KHEMIRA L., SAIDANE R., AMMAR S.B., BESBES G., WEIL D., PETIT C., ABDELHAK S. et ROMDHANE L., « Estimation of recent and ancient inbreeding in a small endogamous Tunisian community through genomic runs of homozygosity », *Annals of Human Genetics*, 79(6), novembre 2015, 402-417, DOI: 10.1111/ahg.12131.

BONNET C., RIAHI Z., CHANTOT-BASTARAUD S., LETEXIER M., MARCAILLOU C., HARDELIN J.-P., SINGH-ESTIVALET A., LEFEVRE G.M., SMAGGHE L., MOHAND-SAÏD S., KOHL S., KURTENBACH A., SLIESORAITYTE I., ZOBOR D., GHERBI S., TESTA F., SIMONELLI F., BANFI S., FAKIN A., MARTORELL SAMPOL L., CATALA MORA J., DAD S., BIRK MOLLER L., RODRIGUEZ JORGE J., HAWLINA M., AURICCHIO A., SAHEL J.A., MARLIN S., ZRENNER E., AUDO I. et PETIT C., « An innovative strategy for molecular diagnosis identifies the causal mutations in 93% of European patients », *Eur. J. Hum. Genet* (sous presse).

DAHMANI M., AMMAR-KHODJA F., BONNET C., LEFÈVRE G.M., HARDELIN J.-P., IBRAHIM H., MALLEK Z. et PETIT C., « *EPS8L2* is a new causal gene for childhood onset autosomal recessive progressive hearing loss », *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 10, 2015, 96, DOI: 10.1186/s13023-015-0316-8.

DELMAGHANI S., DEFOURNY J., AGHAIE A., BEURG M., DULON D., THELEN N., PERFETTINI I., ZELLES T., ALLER M., MEYER A., EMPTOZ A., GIRAUDET F., LEBOVICI M., DARTEVELLE S., SOUBIGOU G., THIRY M., VIZI E.S., SAFIEDDINE S., HARDELIN J.-P., AVAN P. et PETIT C., « Hypervulnerability to sound exposure through impaired adaptive proliferation of peroxisomes », *Cell*, 163(4), 5 novembre 2015, 894-906, DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.023.

LELLI A., MICHEL V., BOUTET DE MONVEL J., CORTESE M., BOSCH-GRAU M., AGHAIE A., PERFETTINI I., DUPONT T., AVAN P., EL-AMRAOUI A. et PETIT C., « Class III myosins shape the auditory hair bundles by limiting microvilli and stereocilia growth », *The Journal of Cell Biology*, 212(2), 8 janvier 2016, 231-244, DOI: 10.1083/jcb.201509017.

MICHALSKI N. et PETIT C., « Genetics of auditory mechano-electrical transduction », *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 467(1), janvier 2015, 49-72, DOI: 10.1007/s00424-014-1552-9.

PEPERMANS E. et PETIT C., « The tip-link molecular complex of the auditory mechano-electrical transduction machinery », *Hearing Research*, 330, Part A, décembre 2015, 10-17, DOI: 10.1016/j.heares.2015.05.005.

RIAHI Z., BONNET C., ZAININE R., LAHBIB S., BOUYACOUB Y., BECHRAOUI R., MARRAKCHI J., HARDELIN J.-P., LOUHA M., LARGUECHE L., BEN YAHIA S., KHEIRALLAH M., ELMATRI L., BESBES G., ABDELHAK S. et PETIT C., « Whole exome sequencing identifies mutations in Usher syndrome genes in profoundly deaf Tunisian patients », *PLoS One*, 10(3), 2015, e0120584, DOI: 10.1371/journal.pone.0120584.

ZONG L., GUAN J., EALY M., ZHANG Q., WANG D., WANG H., ZHAO Y., SHEN Z., CAMPBELL C.A., WANG F., YANG J., SUN W., LAN L., DING D., XIE L., QI Y., LOU X., HUANG X., SHI Q., CHANG S., XIONG W., YIN Z., YU N., ZHAO H., WANG J., WANG J., SALVI R.J., PETIT C., SMITH R.J.H. et WANG Q., « Mutations in apoptosis-inducing factor cause X-linked recessive auditory neuropathy spectrum disorder », *Journal of Medical Genetics*, 52(8), août 2015, 523-531, DOI: 10.1136/jmedgenet-2014-102961.

2014

BEHLOULI A., BONNET C., ABDI S., BOUAITA A., LELLI A., HARDELIN J.-P., SCHIETROMA C., ROUS Y., LOUHA M., CHEKNANE A., LEBDI H., BOUDJELIDA K., MAKRELOUF M., ZENATI A. et PETIT C., « *EPS8*, encoding an actin-binding protein of cochlear hair cell stereocilia, is a new causal gene for autosomal recessive profound deafness », *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 9, 2014, 55, DOI: 10.1186/1750-1172-9-55.

EL-AMRAOUI A. et PETIT C., « The retinal phenotype of Usher syndrome: pathophysiological insights from animal models », *Comptes rendus Biologies*, 337(3), mars 2014, 167-177, DOI: 10.1016/j.crv.2013.12.004.

KAMIYA K., MICHEL V., GIRAUDET F., RIEDERER B., FOUCHER I., PAPAL S., PERFETTINI I., LE GAL S., VERPY E., XIA W., SEIDLER U., GEORGESCU M.-M., AVAN P., EL-AMRAOUI A. et PETIT C., « An unusually powerful mode of low-frequency sound interference due to defective hair bundles of the auditory outer hair cells », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(25), 24 juin 2014, 9307-9312, DOI: 10.1073/pnas.1405322111.

PEPERMANS E., MICHEL V., GOODYEAR R., BONNET C., ABDI S., DUPONT T., GHERBI S., HOLDER M., MAKRELOUF M., HARDELIN J.-P., MARLIN S., ZENATI A., RICHARDSON G., AVAN P., BAHLOUL A. et PETIT C., « The CD2 isoform of protocadherin-15 is an essential component of the tip-link complex in mature auditory hair cells », *EMBO Molecular Medicine*, 6(7), juillet 2014, 984-992, DOI: 10.15252/emmm.201403976.

RIAH Z., BONNET C., ZAININE R., LOUHA M., BOUYACOUB Y., LAROUISS N., CHARGUI M., KEFI R., JONARD L., DORBOZ I., HARDELIN J.-P., SALAH S.B., LEVILLIERS J., WEIL D., MCELREAVEY K., BOESPFLUG O.T., BESBES G., ABDELHAK S. et PETIT C., « Whole exome sequencing identifies new causative mutations in Tunisian families with non-syndromic deafness », *PloS One*, 9(6), 2014, e99797, DOI: 10.1371/journal.pone.0099797.

ROMDHANE L., BEN HALIM N., REJEB I., KEFI R., BOUYACOUB Y., BEN REKAYA M., MESSAI H., MESSAOUD O., RIAHI Z., BONNET C., BEN RHOUMA F., NAGARA M., PETIT C., MCELREAVEY K., ROMEO G. et ABDELHAK S., « Specific aspects of consanguinity: some examples from the Tunisian population », *Human Heredity*, 77(1-4), 2014, 167-174, DOI: 10.1159/000362167.

VINCENT P.F.Y., BOULEAU Y., SAFIEDDINE S., PETIT C. et DULON D., « Exocytotic machineries of vestibular type I and cochlear ribbon synapses display similar intrinsic otoferlin-dependent Ca²⁺ sensitivity but a different coupling to Ca²⁺ channels », *The Journal of Neuroscience*, 34(33), 13 août 2014, 10853-10869, DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0947-14.2014.

WANG H., ZHAO Y., YI Y., GAO Y., LIU Q., WANG D., LI Q., LAN L., LI N., GUAN J., YIN Z., HAN B., ZHAO F., ZONG L., XIONG W., YU L., SONG L., YI X., YANG L., PETIT C. et WANG Q., « Targeted high-throughput sequencing identifies pathogenic mutations in *KCNQ4* in two large Chinese families with autosomal dominant hearing loss », *PloS One*, 9(8), 2014, e103133, DOI: 10.1371/journal.pone.0103133.

