



HAL
open science

Vieillesse olfactive chez la souris normale et chez la souris APP/PS1, modèle de la maladie d'Alzheimer : Implications de la neurogenèse et du système noradrénergique

Nolwen Rey

► **To cite this version:**

Nolwen Rey. Vieillesse olfactive chez la souris normale et chez la souris APP/PS1, modèle de la maladie d'Alzheimer : Implications de la neurogenèse et du système noradrénergique. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2010. Français. NNT : . tel-00595030v1

HAL Id: tel-00595030

<https://theses.hal.science/tel-00595030v1>

Submitted on 23 May 2011 (v1), last revised 18 Oct 2013 (v2)

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

présentée

devant L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

présentée et soutenue publiquement le

01 decembre 2010

par

Madame Nolwen Rey

TITRE :

Vieillesse olfactive chez la souris normale et la souris modèle de la maladie d'Alzheimer : implications de la neurogenèse et du système noradrénergique

Directeur de thèse : **Pr Anne Didier et Pr François Jourdan**

JURY :

Pr Remi Gervais (Président)

Dr Marc Marien (Rapporteur)

Dr Benoît Delatour (Rapporteur)

Dr Claire Rampon (Examineur)

Pr Michael Heneka (Examineur)

Pr Anne Didier (Examineur)

Pr François Jourdan (Examineur)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université	M. le Professeur L. Collet
Vice-président du Conseil Scientifique	M. le Professeur J-F. Mornex
Vice-président du Conseil d'Administration	M. le Professeur G. Annat
Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. le Professeur D. Simon
Secrétaire Général	M. G. Gay

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard	Directeur : M. le Professeur J. Etienne
Faculté de Médecine Lyon Sud – Charles Mérieux	Directeur : M. le Professeur F-N. Gilly
UFR d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. Bourgeois
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : M. le Professeur F. Locher
Institut des Sciences et Techniques de Réadaptation	Directeur : M. le Professeur Y. Matillon
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. Farge

COMPOSANTES SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies	Directeur : M. Le Professeur F. Gieres
UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. C. Collignon
Observatoire de Lyon	Directeur : M. B. Guiderdoni
Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon	Directeur : M. le Professeur J. Lieto
Institut Universitaire de Technologie A	Directeur : M. le Professeur C. Coulet
Institut Universitaire de Technologie B	Directeur : M. le Professeur R. Lamartine
Institut de Science Financière et d'Assurance	Directeur : M. le Professeur J-C. Augros
Institut Universitaire de Formation des Maîtres	Directeur : M R. Bernard

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au laboratoire Neurosciences Sensorielles, Comportement, Cognition (UMR 5020 CNRS UCBL) de l'université de Lyon, ainsi qu'à l'Unité clinique de Neurosciences de l'Université de Bonn (Allemagne), et financé par la région Rhône-Alpes (Allocation doctorale et bourse de stage à l'étranger « Explora'doc »).

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury :

M Benoît Delatour, pour avoir accepté d'être rapporteur de mon travail de thèse, et pour sa lecture critique de mon manuscrit ainsi que pour ses questions pertinentes.

M Marc Marien, pour avoir accepté d'être rapporteur, et également pour sa gentillesse, ses encouragements, l'enthousiasme et l'intérêt marqué dont il a toujours fait preuve à l'égard de mes travaux depuis le début de ma thèse.

Mme Claire Rampon, pour avoir accepté d'être examinatrice de ma thèse, ainsi que pour ses encouragements et ses commentaires avant et pendant la soutenance.

Mr Rémi Gervais, qui a accepté de présider ce jury de thèse. Merci pour son enthousiasme envers mes travaux, ses encouragements depuis le Master 1, ainsi que pour les nombreuses questions passionnantes posées depuis les toutes premières présentations de laboratoire.

Mr Michael Heneka, pour avoir accepté d'être examinateur de ma thèse, ainsi que pour notre collaboration en Allemagne. Michael, thank you so much for having accepted me for several months in you lab in Bonn, and for having trusted me and encouraged me since the first days! Thank you also for your advices, your kindness, you enthusiasm and your sense of humor! This stay in Bonn was a fulfilling experience, in a professional but also a personal point of view.

Mr François Jourdan, pour m'avoir accueillie dans l'équipe, m'avoir fait confiance et avoir accepté d'être mon codirecteur de thèse. François, merci beaucoup également pour vos encouragements tout au long de ma thèse, ainsi que pour vos conseils avisés au cours de mon monitorat d'enseignement.

Mme Anne Didier, pour m'avoir fait confiance et avoir dirigé mes travaux. Anne, merci pour la grande confiance que tu m'as accordée au cours de ces années, ainsi que pour tes encouragements, et tes précieux conseils lors de la réalisation du travail de recherche, et de la rédaction de la thèse. Merci également pour ces premières heures d'enseignement reçues il y a de cela plus de 6 ans, qui laissaient transparaître beaucoup de passion pour ton métier, et qui ont fait germer en moi cette même grande passion pour les neurosciences.

Je tiens à remercier les membres de l'équipe et / ou voisins de bureau ;) qui m'ont toujours soutenue voire supportée durant ces années, et qui pour la plupart resteront des amis ; je l'espère ! :

Joëlle, un immense merci pour ta collaboration, ton aide technique précieuse, et tes conseils scientifiques, mais également pour ta gentillesse, ton soutien et tes encouragements, ainsi que pour nos discussions moins scientifiques ! Tu vas beaucoup me manquer !

Nath, Catherine et Moustafa, merci beaucoup pour votre gentillesse, votre soutien et vos conseils tout au long de ces années !

Florence, Alexia, et Chloé, merci infiniment les filles pour votre soutien, vos conseils, et votre présence. Travailler en votre compagnie a vraiment été agréable et constructif. Vous allez me manquer! Merci pour tous ces bons moments passés dans le labo, ou en dehors du labo, parfois « de l'autre côté du pont ». Je garderai précieusement Miss Tortue ! Bon courage pour la suite...

Mélissa, merci beaucoup pour ta sympathie et ta constante bonne humeur, bon courage également pour la suite.

Merci également à Johan, Pauline, Amandine, Charlotte pour les bons moments passés ensemble, et un grand merci aux « anciens » Seb, Delphine, Marion, Alex, Germain pour leur aide au laboratoire lorsque je suis arrivée, leurs précieux conseils, et leur soutien.

Seb, tu mérites bien un paragraphe à toi tout seul ! Merci pour ton aide, depuis le premier jour ; pour ton soutien, et ton humour ! Tu as beaucoup contribué à la bonne ambiance qui régnait dans l'équipe ! Si Seb n'existait pas, il faudrait l'inventer ;))

Merci également à l'ensemble des membres de l'équipe pédagogique avec qui j'ai pris beaucoup de plaisir à enseigner ; et je remercie aussi l'ensemble des membres du laboratoire pour leurs marques d'amitiés, et leurs encouragements.

Es ist nicht zu spät, um Deutsch zu sprechen. Ne? Ich danke zehr den Labormitarbeitern: Daniel, Dick, Markus, Thea, Claudia, Anna, Ana, Steffi, Marius, Delia; Vielen Dank für Ihren herzlichen Empfang, für unsere Kollaboration, die schönen Moments zusammen, und für Ihren Hilfe ins Labor. Und mit Ihnen habe Ich "Kölsch" entgedekt !!

Sarit and Bea, thank you for your support, and nice moments we spent together in Bonn and Cologne !! Sarit : « ♪ Viva Colonia ♪ » !!!

Enfin, passons aux remerciements les moins académiques : La vie en dehors du laboratoire compte beaucoup dans le bon déroulement de celle-ci. Cette réussite, je la dois au soutien de nombreux amis :

Koliane, Laetitia, Leslie, Krystel, Julie, merci pour les bons moments passés ensemble, je suis heureuse d'avoir la chance de faire partie d'une promo de Master des plus soudée, même après le passage du terrible concours de bourses de thèse !!! Je vous remercie très affectueusement pour vos encouragements et votre soutien durant toutes ces années et vous souhaite beaucoup de réussite dans votre vie d'après thèse. J'espère que nous resterons amies très très longtemps, même si la distance nous séparera!

Enfin, un immense merci à mes amis pour qui les Neurosciences sont un monde plus inconnu, et qui, bien que l'on ait eu très peu l'occasion de se voir ces derniers temps, m'ont apporté beaucoup d'affection, d'écoute, de compréhension et de soutien. Je vous aime !!!!! (On ne le dit pas assez) :

Marie, Evariste, Marion (anciennement du club DDC), Johan, Marie, Colin, Geneviève, Pierre, Emmanuel, Danielle, Renée, Jo la patate (vive les frites !), Steph, Christelle, Franck, Jacques-Noël, Baptiste, Hélène, Lucile, Sab, Tiff, Marjorie, Steve, Cath...

Je voudrais remercier de tout coeur mes parents, Mireille et Jean-Pierre, d'avoir tout fait pour que je puisse étudier dans les meilleures conditions, et aller au bout de ce qui me plaît. Vous m'avez toujours soutenue dans mes choix, toujours conseillée, épaulée, "reboostée"... Et la tâche n'a pas toujours été simple ! Sans vous, je n'en serais pas là ! Maman, je sais que tu es fière de mon parcours, et j'espère continuer sur cette voie. Papa, j'aurais aimé que tu sois encore là...

Martine et Bruno, merci de m'avoir ouvert les portes de votre famille, et merci de votre soutien, de votre affection, et de votre patience tout au long de ces 7 années !
Bruno : (Non, mais oui, mais non...), Non, je n'embête pas mes petites souris !!!

Merci également aux autres membres de ma famille : Myriam, Aurélien, Simone..... et Simone, Yoann, Nicole, Jean-Claude, Claudine, André... pour votre affection et vos encouragements.

Mathilde a également beaucoup contribué à cette thèse ! Des « chants » apaisants lorsque mon humeur était grise ; beaucoup d'affection... Elle espérait probablement qu'un jour je puisse rapporter par inadvertance une de mes petites souris, au fond de mon sac ... ! Mathilde ... Mathilde notre chat !

Mes derniers mots seront naturellement pour toi mon chéri. Merci d'être là, à mes côtés, au quotidien, et de le rendre plus beau, merci de ton soutien de ta patience, et de ta gentillesse qui m'ont permis de tenir dans les moments difficiles, merci de savoir me redonner le sourire lorsqu'il est absent, merci de ton amour. Love is you, you and me, love is knowing, we can be...

*« De tous les sens, l'odorat est celui qui me frappe le plus.
Comment l'odeur, le goût, se font-ils parfum, comment nos nerfs se
font-ils nuances, interprètes subtiles, sublimes de ce qui ne se voit
pas, ne s'entend pas, ne s'écrit pas avec des mots ? L'odeur serait
comme une âme, immatérielle. »*

Marcel Hanoun

Sommaire

<i>Abréviations</i>	11
---------------------------	----

INTRODUCTION	15
---------------------------	-----------

<i>I. Organisation anatomo-fonctionnelle du système olfactif</i>	15
---	-----------

<i>1. Voie olfactive</i>	15
1.1. Organisation générale	15
1.2. L'entrée sensorielle.....	15
1.2.1. Organisation de l'épithélium olfactif.....	15
1.2.2. Transduction olfactive : diversité et sélectivité des récepteurs moléculaires aux odeurs	16
1.2.3. Transduction de l'information olfactive et transfert de l'information olfactive vers le bulbe olfactif.....	17
1.3. Le bulbe olfactif.....	18
1.3.1. Organisation structurale	18
1.3.2. Transmission de l'information sensorielle aux cellules relais	19
1.3.3. Modulation du message olfactif par les interneurons bulbaires	20
1.3.3.1. <i>Par les cellules périglomérulaires</i>	20
1.3.3.2. <i>Par les interneurons granulaires</i>	21
1.4. Projections du bulbe olfactif vers les centres supérieurs	22
1.4.1. Projections vers le cortex olfactif primaire	22
1.4.2. Projections vers le cortex olfactif secondaire	23
<i>2. Le bulbe olfactif, une structure clé du traitement et de la mise en mémoire des odeurs</i>	24
2.1. Lieu de plasticité et de mise en mémoire	24
2.1.1. Stimulations olfactives	24
2.1.2. Privations sensorielles.....	25
2.1.3. Apprentissages olfactifs associatifs et perceptifs	25
2.2. Neuromodulation de l'activité bulbaire par des afférences centrifuges	26
2.2.1. Modulation noradrénergique.....	27
2.2.1.1. <i>Le système noradrénergique, un système diffus modulant l'activité corticale</i>	27
2.2.1.2. <i>Organisation des projections du Locus Coeruleus sur le bulbe olfactif</i>	28
2.2.1.3. <i>Cibles cellulaires de la noradrénaline dans le bulbe olfactif et conséquences à l'échelle comportementale</i>	28
2.2.2. Autres systèmes neuromodulateurs	30
2.2.2.1. <i>Modulation cholinergique</i>	30
2.2.2.2. <i>Modulation sérotoninergique</i>	31
2.2.3. Projections centrifuges issues des voies olfactives	31
2.3. Neurogenèse adulte.....	32
2.3.1. Brève histoire d'une découverte majeure	32
2.3.2. La neurogenèse bulbaire	33
2.3.2.1. <i>Typologie de la zone sous-ventriculaire et prolifération</i>	34
2.3.2.2. <i>Prolifération et migration des cellules néoformées depuis la zone sous ventriculaire vers le bulbe olfactif</i>	36
2.3.2.3. <i>Différenciation et intégration des cellules néoformées dans le bulbe olfactif</i>	39
2.3.2.4. <i>Contrôle de la neurogenèse par les systèmes neuromodulateurs</i>	41
2.4. Les nouveaux neurones, acteurs privilégiés de la plasticité fonctionnelle du bulbe olfactif ?.....	43
2.4.1. Modulation de la neurogenèse par l'entrée sensorielle	43
2.4.1.1. <i>Effet de la privation olfactive</i>	43
2.4.1.2. <i>Effet de l'enrichissement olfactif</i>	44
2.4.1.3. <i>Effet de l'apprentissage associatif</i>	45
2.4.2. Blocage de la neurogenèse et perception olfactive	45

<i>II. Vieillesse normale du système olfactif</i>	47
--	-----------

<i>1. Chez l'homme</i>	47
-------------------------------------	-----------

1.1. Altérations fonctionnelles	47
1.1.1. Performances de détection	48
1.1.2. Performances de discrimination	48
1.1.3. Performances d'identification	49
1.1.4. Performances en mémoire de reconnaissance	49
1.2. Altérations structurales	51
1.3. Corrélations entre aspects fonctionnels et structuraux	51
1.4. Systèmes neuromodulateurs	53
2. Chez le rongeur	54
2.1. Altérations fonctionnelles	54
2.1.1. Détection	54
2.1.2. Discrimination et apprentissage associatif	54
2.2. Altérations structurales	55
2.2.1. Altérations périphériques	55
2.2.2. Altérations des structures olfactives centrales	57
2.3. Altérations neurogéniques bulbaires	58
2.4. Atteintes des systèmes neuromodulateurs	58
2.4.1. Atteintes du système noradrénergique	59
2.4.2. Atteintes des autres systèmes neuromodulateurs	60
III. La maladie d'Alzheimer	61
1. Historique	61
2. La maladie aujourd'hui	62
3. Signes cognitifs	63
4. Altérations structurales	65
4.1. Signature histo-pathologique	65
4.1.1. Plaques séniles	65
4.1.2. Les dégénérescences neurofibrillaires	67
4.2. Inflammation	69
4.3. Atteinte des systèmes neuromodulateurs	69
4.3.1. Système cholinergique	69
4.3.2. Système noradrénergique	70
4.3.3. Système sérotoninergique	72
4.3.4. Système dopaminergique	73
4.3.5. Système glutamatergique	73
4.4. Altérations neurogéniques	73
IV. Une atteinte très précoce du système olfactif chez l'homme dans la maladie d'Alzheimer	75
1. Signes histo-pathologiques	75
2. Altérations olfactives chez l'homme	76
2.1. Performances olfactives	76
2.1.1. Détection / sensibilité olfactive	76
2.1.2. Identification	76
2.1.3. Discrimination	77
2.1.4. Mémoire olfactive	77
2.1.5. Intensité perçue, hédonicité, familiarité, comestibilité	78
2.2. Bases neuronales des déficits olfactifs : apports de l'imagerie	78
V. Bases cellulaires et moléculaires de la maladie d'Alzheimer : apport des modèles animaux	80
1. Principaux modèles animaux	80
2. Troubles fonctionnels chez les modèles murins transgéniques	81
2.1. Troubles mnésiques et comportementaux	81
2.2. Troubles olfactifs	83
3. Apport des modèles animaux à la théorie amyloïde de la maladie d'Alzheimer	83
3.1. Origine du peptide β amyloïde	83
3.2. Toxicité synaptique et cellulaire du peptide β amyloïde	85

3.3. Peptide β amyloïde et neuroinflammation	86
3.4. La cascade amyloïde : révision de la théorie	87
4. Implication de la protéine Tau	88
5. Altérations des systèmes neuromodulateurs chez la souris	89
5.1. Système cholinergique.....	89
5.2. Système noradrénergique.....	89
5.3. Systèmes sérotoninergique et dopaminergique.....	90
6. Altérations neurogéniques	90
VI. Hypothèses de travail et objectifs de la thèse	92
METHODES.....	95
<i>A computer-assisted odorized hole-board for testing olfactory perception in mice.</i>	<i>97</i>
RESULTATS.....	99
<i>Etude 1.....</i>	<i>99</i>
<i>Behavioral and cellular markers of olfactory aging and their response to enrichment</i>	
<i>Etude 2.....</i>	<i>101</i>
<i>Locus coeruleus degeneration exacerbates olfactory deficits in APP/PS1 transgenic mice</i>	
DISCUSSION	103
1. Le système olfactif comme modèle d'étude du vieillissement normal et pathologique.....	103
1.1. Des tests comportementaux olfactifs adaptés	103
1.2. Le bulbe olfactif, un cortex sensoriel pour l'étude des mécanismes cellulaires et moléculaires du vieillissement.....	105
2. Le choix des modèles animaux.....	106
3. Le vieillissement olfactif normal	107
3.1. Atteintes comportementales.....	109
3.1.1. La mémoire olfactive vieillit plus vite que les capacités de discrimination	109
3.1.2. La discrimination subit un processus de maturation chez le jeune adulte	109
3.2. Atteintes neurogéniques.....	110
3.3. Liens entre atteintes neurogéniques et atteintes fonctionnelles	111
3.3.1. La discrimination	111
3.3.2. La mémoire de reconnaissance	112
3.4. Atteintes du système noradrénergique et lien avec la fonction olfactive	113
3.5. Interaction neurogenèse – noradrénaline ?	114
4. Vieillissement pathologique de type Alzheimer; quelles différences avec le vieillissement normal ?	115
4.1. Performances olfactives chez les APP/PS1	115
4.2. Effets de la lésion noradrénergique sur les performances olfactives chez la souris APP/PS1	116
4.3. Peptide β amyloïde et performances olfactives.....	117
5. Conclusion générale et perspectives.....	118
REFERENCES.....	121

Abbreviations

ACh	Acétylcholine
AChE	Acétylcholine estérase
AraC	Cytosine arabinoside
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
ApoE	Apolipoprotéine E
APP	Amyloid precursor protein
BDNF	Brain derived neurotrophic factor
BO	Bulbe olfactif
ChAT	Choline acetyl transferase
DA	Dopamine
DBH	Dopamine β hydroxylase
DCX	Double cortine
DSP4	N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine
EEG	Electroencéphalographie
EOG	Electroolfactogramme
FRM	Flux rostral migratoire
HDB	Limbe horizontal de la bande diagonale de Broca
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
GABA	Acide γ -aminobutyrique
GC	Cellules granulaires
GD	Gyrus denté
GI	Couche glomérulaire
Glut	Glutamate
GrL	Couche granulaire
LC	Locus Coeruleus
LCR	Liquide céphalorachidien
LTP	Potentialisation à long terme
M	Couche de cellules mitrales
MA	Maladie d'Alzheimer
MCI	Mild cognitive impairment

MMSE	Mini mental state examination
NA	Noradrénaline
NET	Transporteur de la noradrénaline
NGF	Nerve growth factor
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
NO	Couche de nerfs olfactifs
PEO	Potentiels évoqués olfactifs
PG	Cellules périglomérulaires
PIE	Couche plexiforme externe
PIL	Couche plexiforme interne
Tg	Transgénique
TH	Tyrosine hydroxylase
ZSG	Zone sous granulaire
ZSV	Zone sous ventriculaire
2-DG	2 déoxy-D-glucose
5-HT	5-hydroxytryptamine ou sérotonin

Sens primordial chez les animaux, l'olfaction est essentielle pour l'identification de nourriture, l'évitement de prédateurs (Takahashi et al., 2005; Arakawa et al., 2008), ainsi que pour la recherche de partenaires (Keverne, 2004), les relations mère-jeune (Levy and Keller, 2009) et l'ensemble des interactions sociales (Brennan and Kendrick, 2006).

Chez l'homme, l'importance de ce sens est souvent dépréciée. Pourtant l'olfaction est essentielle pour la protection de soi face à l'environnement, permettant par exemple la détection de fumée ou de gaz nocifs, et l'évitement de nourritures avariées : 80% des patients dysosmiques ont déjà été confrontés à un accident domestique suite à un défaut de détection d'une fuite de gaz, d'un feu ou de nourriture avariée (Bonfils et al., 2008). Les troubles olfactifs pourraient également constituer une gêne dans les relations interpersonnelles et sociales (Hummel and Nordin, 2005).

Des troubles olfactifs sont décrits au cours du vieillissement normal et pathologique chez l'homme et pourraient être un signe précoce de démence de type Alzheimer. La diminution de performances des sens chimiques (olfaction et gustation) est en partie responsable des troubles alimentaires, des troubles de l'humeur, des syndromes dépressifs observés chez les sujets âgés, atteints ou non de maladie d'Alzheimer (MA) (Hummel and Nordin, 2005). Caractériser les déficits olfactifs liés au vieillissement normal et ceux apparaissant au cours de la MA semble donc primordial dans la perspective de leur meilleure prise en charge, et cette caractérisation pourrait conduire également à la mise en place de tests olfactifs pour la détection de la MA dans ses stades précoces.

Pour avancer dans la compréhension des mécanismes physio-pathologiques impliqués dans la détérioration de l'olfaction au cours du vieillissement, il est nécessaire d'étudier ce vieillissement chez des modèles animaux. Les quelques études sur ce thème, menées principalement chez le rongeur, ont confirmé l'altération des performances olfactives. Le système olfactif des rongeurs présente une organisation anatomo-fonctionnelle très similaire à celle de l'homme. De plus, l'importance de la perception olfactive pour les rongeurs et la précocité des atteintes olfactives dans la MA font du système olfactif murin un bon modèle pour étudier les altérations cognitives liées au vieillissement normal et pathologique.

Dans une première partie de ce mémoire nous présentons le système olfactif. Ce système , dont l'organisation est bien connue chez l'animal, est doté d'une très grande plasticité. Il est la cible d'une neuromodulation importante, ainsi que de la production de nouveaux neurones et d'une forte capacité de remaniement synaptique. Puis nous décrivons l'état des connaissances sur les altérations fonctionnelles observées dans le vieillissement normal chez l'homme et chez l'animal, et sur les mécanismes qui pourraient les sous-tendre. Nous présentons ensuite les données disponibles concernant les déficits olfactifs observés dans la MA, leur importance et leur précocité.

Dans le contexte bibliographique ainsi décrit, nous situerons notre travail, qui a visé à mieux connaître le vieillissement olfactif normal chez la souris, pour pouvoir le comparer aux altérations olfactives observées dans la pathologie. Au cours de ce travail, nous nous sommes en particulier intéressés à deux aspects importants de la régulation de la perception olfactive, la neurogenèse et la modulation noradrénergique.

Dans une première étude, nous montrons que deux aspects distincts de l'olfaction, la discrimination et la mémoire olfactives sont affectées différemment par le vieillissement normal. Nous montrons aussi que la neurogenèse olfactive, qui serait impliquée dans la plasticité de la fonction olfactive, décroît dans la première partie de la vie adulte en raison d'une altération de la prolifération des précurseurs neuronaux. La neurogenèse diminue ensuite drastiquement dans la seconde période de vie adulte chez les animaux âgés, par altération de la différenciation neuronale et réduction de la survie des neurones néo-formés. Compte-tenu de l'importance potentielle du système noradrénergique dans la régulation de la neurogenèse et des performances olfactives, nous avons évalué l'état de ce système au cours du vieillissement, en lien avec les performances olfactives. Nos données démontrent une altération noradrénergique avec l'âge. Dans ce premier travail, nous avons également testé la plasticité du système olfactif en réponse à l'enrichissement olfactif au cours du vieillissement. Nos résultats montrent que le système noradrénergique reste beaucoup plus plastique que le taux de neurogenèse, et que les différents aspects de l'olfaction sont modulés de manière distincte par l'enrichissement suivant l'âge auquel il intervient.

La seconde étude se focalise sur les aspects pathologiques du vieillissement olfactif de type maladie d'Alzheimer. Nous testons l'implication du système noradrénergique dans les déficits olfactifs observés dans un modèle transgénique murin de MA, système qui est fortement altéré chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer. Nous avons combiné à ce modèle qui développe des plaques séniles, un traitement pharmacologique afin de reproduire l'atteinte du système noradrénergique observée chez l'homme. Nos données montrent que la déplétion noradrénergique accentue les déficits de mémoire olfactive et réduit plus discrètement les capacités de discrimination olfactive. Cette déplétion accroît également les dépôts amyloïdes observés dans le système olfactif, en lien avec la baisse des performances mnésiques olfactives.

L'ensemble des résultats indiquent que le vieillissement olfactif normal induit des effets non homogènes et complexes au niveau comportemental ou cellulaire. L'étude effectuée chez la souris modèle de la MA indique que la pathologie amyloïde affecte la fonction olfactive et montre une implication du système noradrénergique dans les déficits olfactifs observés au cours du vieillissement pathologique.

INTRODUCTION

I. Organisation anatomo-fonctionnelle du système olfactif

1. Voie olfactive

1.1. Organisation générale

Le système olfactif est un système sensoriel spécialisé dans la détection et le traitement d'informations chimiques volatiles (Yeshurun and Sobel, 2010).

Les processus sensoriels impliquent des structures sensorielles réceptrices et des structures centrales sous-corticales et corticales interconnectées. Le système olfactif se distingue des autres systèmes sensoriels du fait qu'il projette directement de la périphérie vers une structure corticale, le bulbe olfactif (BO). Le BO ne joue pas seulement un rôle de relais, mais est une structure-clé pour le codage, la discrimination et la mise en mémoire des odeurs. Les influx sensoriels quittant le BO sont transmis aux centres supérieurs olfactifs : cortex piriforme, noyau olfactif antérieur, tubercule olfactif, cortex entorhinal, amygdale et hippocampe.

Très conservée chez les mammifères, l'organisation anatomo-fonctionnelle du système olfactif est très similaire chez les rongeurs et chez l'homme, bien que l'olfaction soit considérée comme moins aiguë chez celui-ci. Nous décrivons dans cette partie l'organisation anatomo-fonctionnelle chez les rongeurs essentiellement, et traitons de manière ponctuelle les différences observées chez l'homme.

1.2. L'entrée sensorielle

1.2.1. Organisation de l'épithélium olfactif

L'épithélium olfactif s'étend sur la partie postérieure des fosses nasales (septum et cornets olfactifs) et contient trois types cellulaires principaux: les neurones récepteurs olfactifs, les cellules de soutien et les cellules basales. Les neurones sensoriels constituent environ 80% des cellules présentes dans l'épithélium olfactif. Ils possèdent un axone basal et une dendrite apicale, prolongée par une vésicule olfactive munie de cils sensoriels qui baignent dans le mucus à la surface épithéliale. Les cils sont le site de la transduction sensorielle grâce à l'expression de récepteurs moléculaires aux odeurs (Imai and Sakano, 2008). Les cellules basales situées dans la profondeur de l'épithélium olfactif sont à l'origine du renouvellement permanent des neurones sensoriels (durée moyenne de vie d'un neurone 30 jours environ)

(Duggan and Ngai, 2007). Les cellules de soutien d'origine épithéliale s'étendent de la lumière à la lame basale de la muqueuse, permettant la cohésion du tissu et la régulation de l'environnement ionique (Figure 1).

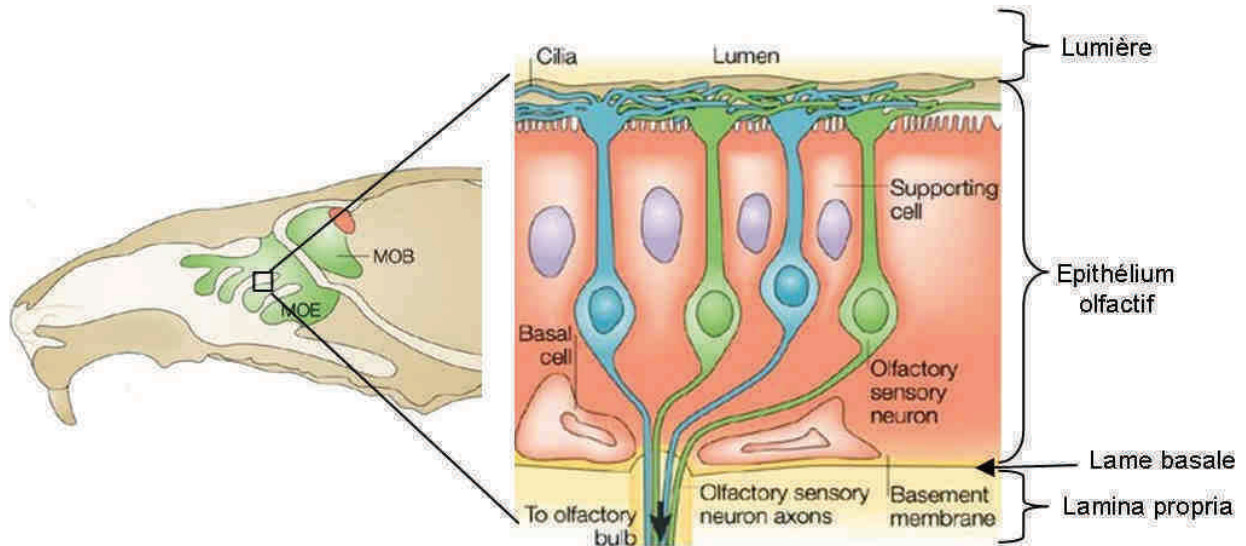


Figure 1: L'épithélium olfactif. Localisation et représentation de l'épithélium olfactif chez le rongeur en coupe transversale. D'après (Mombaerts, 2004).

1.2.2. Transduction olfactive : diversité et sélectivité des récepteurs moléculaires aux odeurs

Dans la cavité nasale, les molécules odorantes traversent le mucus avant d'interagir avec les récepteurs moléculaires aux odeurs (Buck and Axel, 1991) situés sur les cils des neurones sensoriels. Ces récepteurs possèdent une région très variable leur conférant une grande diversité structurale et fonctionnelle et qui constituerait le site de liaison des odorants (Katada et al., 2005). Chez l'homme, on trouve environ 250 récepteurs différents, tandis que les rongeurs en expriment plus de 1000 (Imai and Sakano, 2008). Chaque neurone exprime seulement un récepteur moléculaire mais chaque protéine réceptrice peut lier l'ensemble des odorants ayant en commun un trait moléculaire particulier reconnu par ce récepteur. Ainsi, un neurone donné peut répondre à plusieurs odorants (Duchamp-Viret et al., 1999). Par ailleurs, chaque odorant peut se lier à plusieurs récepteurs différents, en fonction des traits moléculaires qui le composent. Ces propriétés de sélectivité génèrent ainsi un espace combinatoire potentiellement très grand pour le codage de l'odeur (Firestein, 2001; Breer, 2003).

1.2.3. Transduction de l'information olfactive et transfert de l'information olfactive vers le bulbe olfactif

La liaison de la molécule odorante avec le récepteur induit une cascade moléculaire et la production de seconds messagers qui activent des protéines kinases. Ces protéines activent ensuite des canaux ioniques comme le canal CNG (Imai and Sakano, 2008), permettant l'entrée d'ions sodium et calcium pouvant générer un potentiel d'action dans les axones des neurones sensoriels (Figure 2).

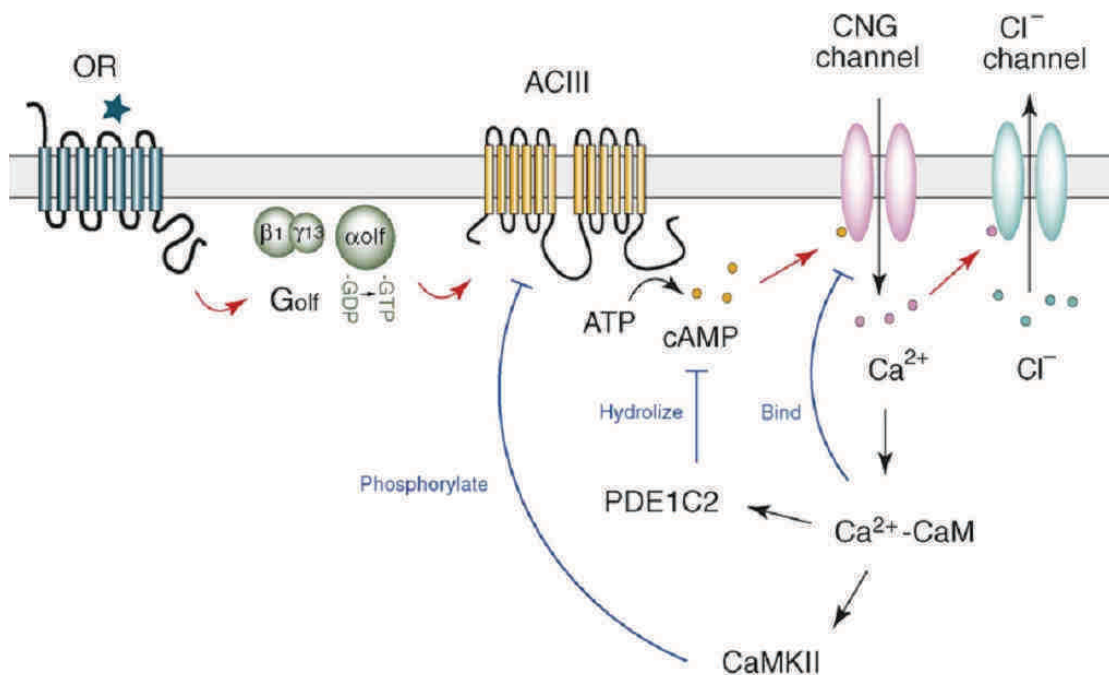


Figure 2: Transduction du signal olfactif chez la souris. L'interaction entre la molécule odorante et le récepteur (OR) porté par le neurone sensoriel induit une cascade de transduction impliquant une protéine G (G_{olf}) qui conduit à une élévation de la concentration en adénosine monophosphate cyclique (AMPc). Cette augmentation d'AMPc induit l'activation de kinases qui permettent l'ouverture de canaux ioniques et conduisent à la dépolarisation de la membrane du neurone sensoriel. D'après (Imai and Sakano, 2008).

Ces axones traversent la lame basale de l'épithélium, se rassemblent en faisceaux pour former le nerf olfactif (nerf crânien I) dont les fibres traversent la lame criblée de l'ethmoïde et projettent sur le BO, premier relais central de l'information olfactive.

1.3. Le bulbe olfactif

1.3.1. Organisation structurale

Le BO est un paléocortex laminaire dont les sept couches sont organisées de façon concentrique : la couche des nerfs olfactifs (NO), la couche glomérulaire (GI), la couche plexiforme externe (PIE), la couche des cellules mitrales (M), la couche plexiforme interne (PII), la couche granulaire (GrL), et la zone sous-ventriculaire, vestige de la partie la plus rostrale des ventricules latéraux qui s'étend jusque dans le BO chez l'embryon (Figure 3).

Le BO se situe entre les entrées sensorielles et les structures corticales de second ordre et les structures limbiques et reçoit de nombreuses afférences centrifuges (Figure 3).

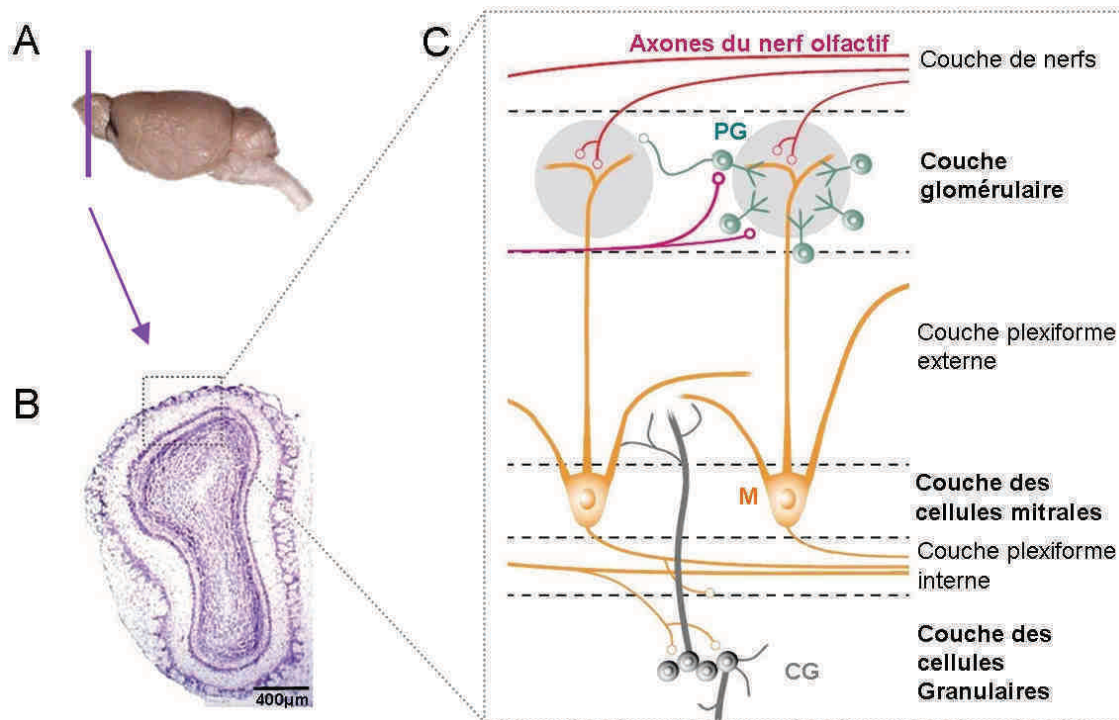


Figure 3 : Le bulbe olfactif. A: Vue sagittale d'un encéphale de souris. B: Coupe frontale de BO. C: Schéma de l'organisation cellulaire du BO. L'information olfactive entre dans le BO par les axones des neurones sensoriels. Elle est transmise aux cellules mitrales au sein des glomérules. Les axones des cellules mitrales envoient alors l'information vers les cortex olfactifs supérieurs. L'activité des cellules mitrales (M) est modulée par des interneurons inhibiteurs : les cellules périglomérulaires (PG), et les cellules granulaires (CG). D'après (Aungst et al., 2003).

1.3.2. Transmission de l'information sensorielle aux cellules relais

Les axones des neurones sensoriels se regroupent de manière ipsilatérale dans la couche la plus superficielle du BO, la couche des nerfs olfactifs (NO), puis rejoignent la couche glomérulaire. Au sein de celle-ci, ils forment à l'intérieur de glomérules (corpuscules sphériques neuropilaires) des synapses excitatrices glutamatergiques avec les dendrites apicales des cellules mitrales, les cellules relais du BO, et des synapses réciproques avec les interneurons périglomérulaires. Chaque neurone sensoriel contacte un unique glomérule selon une organisation anatomo-fonctionnelle très précise (Klenoff and Greer, 1998) (Figure 4). D'une part, l'ensemble des axones des neurones sensoriels qui expriment un même type de récepteur moléculaire converge vers un ou deux glomérules (Mombaerts et al., 1996). Cette projection s'effectue avec un degré fort de convergence d'environ 1000 neurones sensoriels pour un glomérule, augmentant la sensibilité. D'autre part, un même glomérule reçoit ses afférences d'un seul type de récepteur moléculaire aux odeurs. Ainsi, chaque glomérule traite sélectivement l'information en provenance d'un type donné de récepteur moléculaire aux odorants (Klenoff and Greer, 1998).

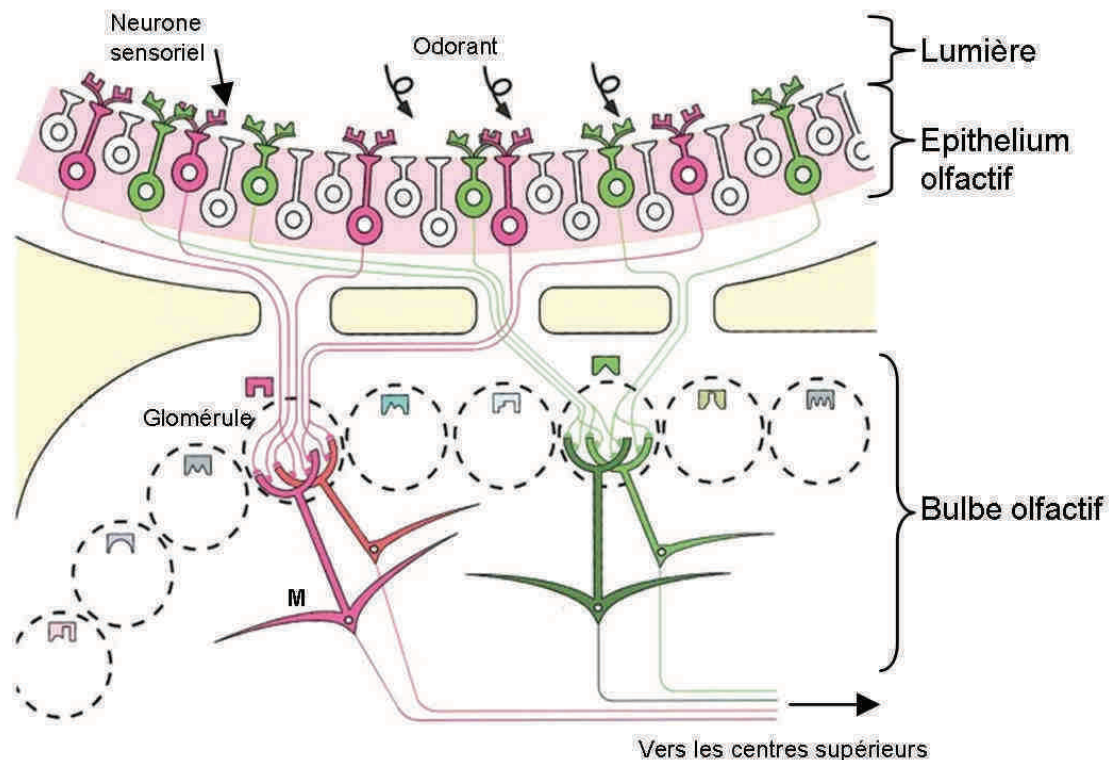


Figure 4 : Schéma des connexions épithélio-bulbaires. Les neurones sensoriels qui expriment un même récepteur moléculaire convergent et projettent leurs axones vers quelques glomérules, chaque neurone sensoriel contactant un unique glomérule, et un glomérule étant innervé par des neurones sensoriels exprimant un même récepteur olfactif. Au sein du glomérule, les axones font synapse avec les dendrites des cellules mitrales (M) qui envoient leurs axones vers les centres supérieurs (Nagao et al., 2002).

Ce mode de connectivité particulier permet à une molécule odorante comportant plusieurs groupements moléculaires différents d'activer un ensemble donné de glomérules, imposant ainsi une combinaison spatiale d'activation des glomérules bulbaires spécifique de la molécule odorante (Mombaerts et al., 1996; Willhite et al., 2006) (Figure 5).

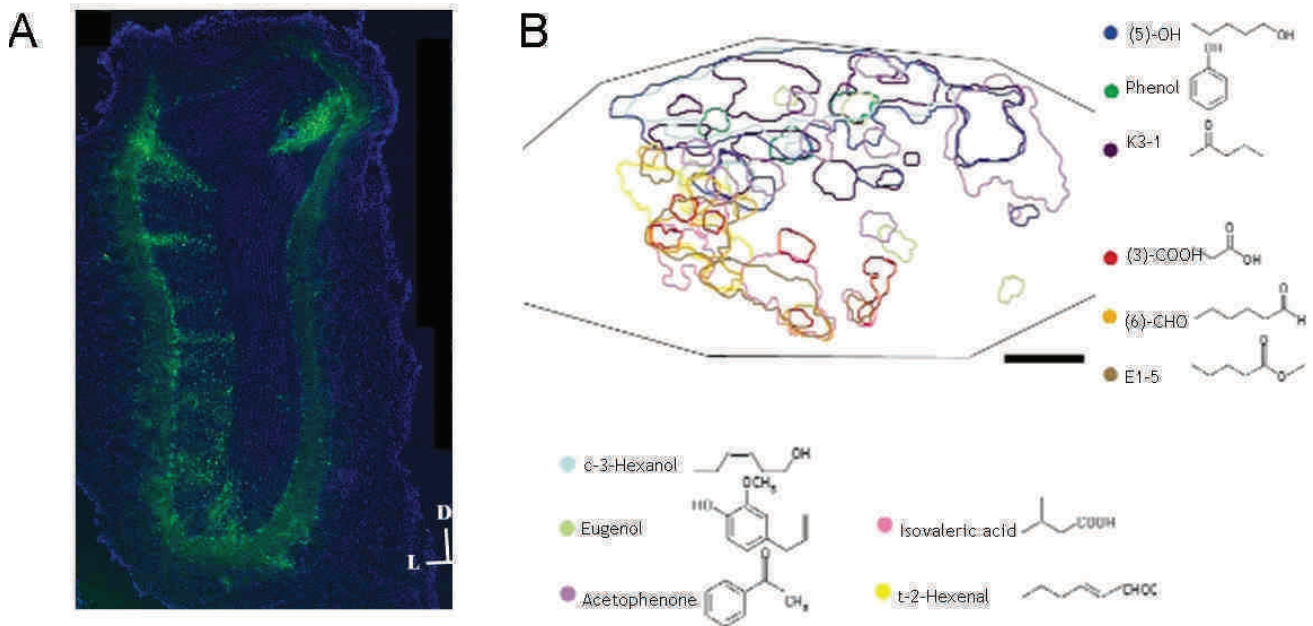


Figure 5 : Organisation modulaire du BO et patterns d'activation évoqués par l'odeur. A : Organisation du BO en colonnes, visualisées après injection de virus rétrogrades « pseudorabies » dans le BO (Willhite et al., 2006). **B :** Pattern d'activation glomérulaire pour différents odorants en imagerie optique (partie dorsale du BO), chaque odorant étant identifié par une couleur différente (Uchida et al., 2000).

1.3.3. Modulation du message olfactif par les interneurons bulbaires

1.3.3.1. Par les cellules périglomérulaires

A l'entrée du BO, les interneurons périglomérulaires sont co-activés avec les cellules mitrales par l'entrée sensorielle. Les cellules périglomérulaires sont des interneurons inhibiteurs principalement GABAergiques et / ou dopaminergiques formant des synapses dendro-dendritiques avec les cellules mitrales (Shepherd and Greer, 1990) (Figure 6). Les interneurons périglomérulaires participent aux processus d'auto-inhibition des glomérules les moins activés et d'inhibition interglomérulaire (Cleland and Sethupathy, 2006; Shepherd et al., 2007) permettant d'augmenter le ratio signal/bruit du message sensoriel. De plus, via l'inhibition présynaptique qu'ils exercent sur les axones des neurones sensoriels, ces

interneurones sont aussi à même de contrôler le niveau d'entrée de l'information (par exemple moins d'inhibition en cas de message afférent faible (Schoppa and Urban, 2003).

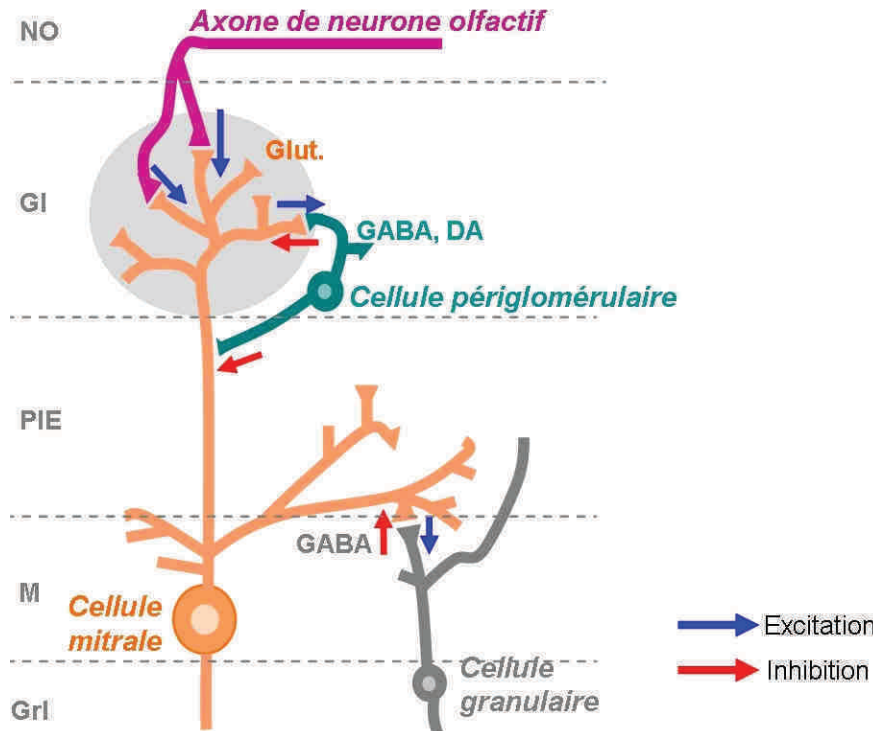


Figure 6 : Schéma des connexions des cellules mitrales avec les interneurones périglomérulaires granulaires. Les axones des neurones olfactifs forment des contacts excitateurs avec la dendrite principale de la cellule mitrale au sein d'un glomérule, ainsi qu'avec les dendrites des cellules périglomérulaires. Les dendrites des cellules mitrales établissent également des contacts synaptiques réciproques avec les cellules périglomérulaires. Lors d'une stimulation sensorielle, le neurone sensoriel active donc les cellules mitrales et les cellules périglomérulaires. *Glut* : glutamate ; *DA* : dopamine ; *GABA* : acide γ-aminobutyrique. D'après (Levy et al., 1993).

1.3.3.2. Par les interneurones granulaires

Les interneurones inhibiteurs GABAergiques dont les corps cellulaires sont situés dans la couche granulaire projettent leurs dendrites dans la couche plexiforme externe où elles établissent des synapses réciproques dendro-dendritiques avec les dendrites latérales des cellules mitrales. Les cellules granulaires sont dépolarisées par le glutamate libéré par les cellules mitrales. En retour, les interneurones granulaires inhibent les cellules mitrales par libération de GABA, formant ainsi une boucle d'interaction réciproque (Shepherd et al., 2007) (Figure 6). Le rôle des neurones inhibiteurs est majeur pour la régulation spatiale et temporelle de l'activité des cellules mitrales (Nusser et al., 2001; Lagier et al., 2004; Lagier et al., 2007). En effet, plusieurs études ont montré l'importance de l'inhibition par les cellules granulaires dans la genèse de certains régimes oscillatoires présents dans le BO et potentiellement impliqués dans le codage de l'odeur (Stopfer, 2005; Gervais et al., 2007).

L'organisation particulière du BO permet ainsi l'obtention à partir d'un signal primaire généré par les neurones sensoriels, d'un signal amplifié grâce à la convergence des neurones sensoriels sur les neurones relais, et affiné en terme de distributions spatiale et temporelle grâce aux interactions inhibitrices exercées par les interneurones périglomérulaires et granulaires. Ce message olfactif est ensuite transmis aux centres supérieurs.

1.4. Projections du bulbe olfactif vers les centres supérieurs

1.4.1. Projections vers le cortex olfactif primaire

Les cellules mitrales, dont les axones forment le tractus olfactif latéral, projettent sur le cortex olfactif primaire. Par définition, le cortex olfactif est constitué de toutes les régions du cerveau qui reçoivent des inputs directs des axones des cellules relais du BO. Il comprend: le noyau olfactif antérieur, le tubercule olfactif, le cortex piriforme, le noyau amygdalien antérieur, le cortex péri-amygdalien, et le cortex entorhinal rostral.

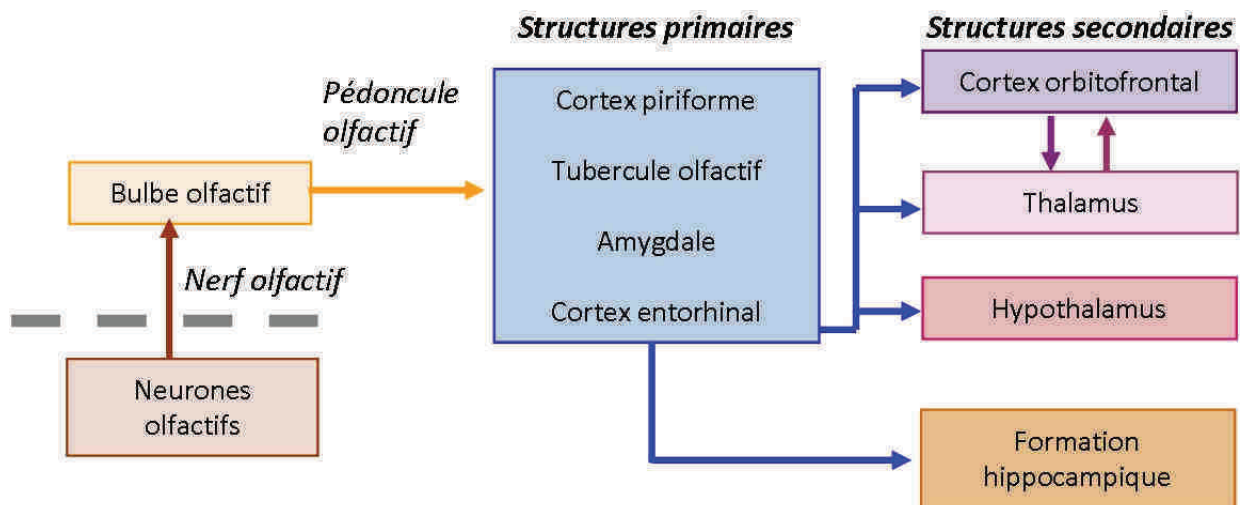


Figure 7 : Schéma des projections bulbares vers les structures supérieures.

Le noyau olfactif antérieur est un groupement de cellules multipolaires et serait impliqué chez l'homme dans la localisation spatiale des odeurs (Haberly, 1973). Le noyau olfactif antérieur projette ensuite sur le BO controlatéral et le cortex piriforme.

Le **cortex piriforme** est considéré comme un élément majeur du cortex olfactif primaire. C'est un paléocortex à trois couches cellulaires (Zatorre and Jones-Gotman, 1991) qui ne présente pas d'organisation topographique des projections issues du BO; chaque cellule

pyramidale recevant l'input du BO et possédant des axones collatéraux qui permettent une redistribution de l'activité à l'ensemble de la structure. Cette structure se caractérise par une hétérogénéité fonctionnelle entre les parties antérieure et postérieure (Shepherd and Greer, 1990; Litaudon et al., 1997). La partie antérieure reçoit la majorité des afférences bulbaires (Jones-Gotman and Zatorre, 1988) et la partie postérieure reçoit des projections de la partie antérieure et serait plutôt impliquée dans les processus mnésiques. Des études mettant en jeu des lésions impliquent le **cortex piriforme** dans les processus de discrimination (Dade et al., 2002), de mémoire et d'apprentissage olfactifs (Sullivan et al., 2000; Wilson, 2001; Illig and Haberly, 2003; Ding et al., 2010).

Le **tubercule olfactif**, très peu développé chez l'homme possède des connexions avec le système limbique et le noyau médio-latéral du thalamus.

Le **cortex entorhinal** fait partie des structures parahippocampiques et du système limbique. Seule sa partie latérale reçoit des projections du BO, et est qualifiée de cortex entorhinal olfactif (Zald and Pardo, 1997). Il possède des connexions réciproques avec le cortex piriforme.

L'**amygdale** qui fait également partie du système limbique est un ensemble de plusieurs noyaux rassemblés en 3 principaux groupes sur des bases structurale et fonctionnelle. L'amygdale serait impliquée dans certains aspects de la dimension émotionnelle d'une odeur comme le lien mère-jeune (Kendrick et al., 1992; Keverne, 1999), ou la valence hédonique (Zald and Pardo, 1997).

1.4.2. Projections vers le cortex olfactif secondaire

Le cortex olfactif primaire projette sur le cortex olfactif secondaire. Celui-ci comprend des structures néocorticales telles que le cortex orbitofrontal et le cortex insulaire qui reçoivent des projections directes du cortex piriforme et indirectes via le thalamus, du cortex piriforme et du tubercule olfactif. Le cortex entorhinal est fortement connecté via la voie perforante au CA1 de l'hippocampe et constitue la voie d'entrée de l'information olfactive vers l'hippocampe. Les cortex orbito-frontal et insulaire reçoivent différentes informations sensorielles comme les informations olfactives, visuelles, gustatives, auditives ou encore somatosensorielles, et en assurent l'intégration multimodale. Le rôle du thalamus dans la modalité olfactive n'est pas clair, mais celui-ci semble être impliqué chez l'homme dans l'attention olfactive (Plailly et al., 2008).

2. Le bulbe olfactif, une structure clé du traitement et de la mise en mémoire des odeurs

2.1. Lieu de plasticité et de mise en mémoire

Diverses techniques de visualisation de l'activation du réseau bulbaire ont été mises en œuvre, comme l'expression de gènes précoces, l'enregistrement d'activités unitaires, ou de processus oscillatoires dans le BO, et ont mis en évidence l'existence d'une modulation du réseau neuronal bulbaire lors du traitement mnésique d'une odeur. Ainsi, la réponse à l'odeur du BO évolue avec l'expérience olfactive.

2.1.1. Stimulations olfactives

Une simple exposition à un odorant module le réseau bulbaire répondant à l'odorant (Sallaz and Jourdan, 1996; Buonviso and Chaput, 2000; Fletcher and Wilson, 2003; Busto et al., 2009). Par exemple, chez le rat, une exposition de 20 min par jour à un odorant pendant quelques jours réduit le nombre de cellules mitrales répondant à l'odeur, suggérant un accroissement de l'inhibition en réponse à l'odeur (Buonviso and Chaput, 2000; Montag-Sallaz and Buonviso, 2002). La réponse du réseau bulbaire et ses modulations en lien avec l'expérience peuvent être étudiées par l'analyse de l'expression de gènes précoces comme C-Fos, Zif 268 ou Arg 3.1 qui est dépendante de l'activité neuronale engendrée par la stimulation sensorielle. L'exposition à une odeur nouvelle déclenche l'expression des gènes précoces dans des régions bien spécifiques des couches glomérulaires et granulaires du BO, en accord avec l'organisation spatiale des projections sensorielles, alors que la familiarisation à une odeur (présentation répétée d'une odeur sans renforcement) conduit à une diminution du taux d'expression des gènes précoces (Sallaz and Jourdan, 1996; Busto et al., 2009). En plus de ces modulations à moyen ou long terme de la réponse bulbaire aux odeurs, des modulations rapides de la réactivité des cellules mitrales ont aussi été mises en évidence (Fletcher and Wilson, 2003).

Les mécanismes de modulation du réseau bulbaire avec l'expérience restent largement méconnus. Sur une échelle de temps courte, ils mettraient en jeu une adaptation synaptique très rapide au niveau des synapses primaires (Ennis et al., 1998) et/ou de la boucle mitrale-granule (Elaagouby and Gervais, 1996). Des remaniements synaptiques à plus long terme interviendraient dans les modulations plus lentes (Tyler et al., 2007).

2.1.2. Privations sensorielles

Le BO répond aux privations sensorielles en augmentant sa sensibilité aux odorants (Leon, 1998); les cellules mitrales répondent plus aux odeurs et la couche glomérulaire est globalement plus activée en imagerie métabolique 2 déoxy-D-glucose (2-DG) (Guthrie et al., 1990). Une diminution des signaux dopaminergiques dans la couche glomérulaire réduisant le rétrocontrôle inhibiteur (Wilson and Sullivan, 1995), ou un accroissement de l'inhibition des cellules mitrales par les cellules granulaires (Wilson et al., 1990) du à une excitabilité accrue des neurones granulaires (Saghatelian et al., 2005), pourraient contribuer à cette amélioration de la sensibilité.

2.1.3. Apprentissages olfactifs associatifs et perceptifs

Des modifications du réseau bulbaire sont également observées dans des paradigmes d'apprentissage associatif olfactif.

A un niveau populationnel, le conditionnement chez le lapin s'accompagne de modifications des patterns et amplitudes de réponses évoquées en électroencéphalographie (EEG) par la stimulation odorante (Gervais et al., 2007).

Chez le rat, les structures olfactives développent des activités oscillatoires dans les bandes de fréquences bêta (situé entre 15 et 40 hertz) et gamma (entre 60 et 90 hertz). Ces oscillations sont elles aussi modulées par l'expérience sensorielle. L'oscillation bêta induite lors d'une stimulation odorante est modulée par l'apprentissage (Martin et al., 2004) et serait un possible corrélat de la discrimination olfactive. Les oscillations gamma sont calées sur la transition inspiration/expiration au cours du cycle respiratoire, et correspondraient à l'inverse à une activité électrique spontanée réduite lors de l'échantillonnage d'odeur, notamment lorsque l'association odeur-récompense a lieu (Martin et al., 2004; Gervais et al., 2007). La modulation des oscillations gamma pourrait être sous l'influence des afférences centrifuges. En effet, l'inactivation de ces afférences conduit à un accroissement de l'activité gamma spontanée, tandis que l'apprentissage n'est alors plus associé aux oscillations bêta (Martin et al., 2006).

Les interneurones bulbaires semblent jouer un rôle dans ces activités oscillatoires. En effet, la manipulation pharmacologique de l'activité inhibitrice des cellules granulaires perturbe les activités oscillatoires dans le BO (Nusser et al., 2001; Lagier et al., 2004; Lagier et al., 2007). A l'échelle cellulaire, on observe également des modulations de la réponse aux odeurs durant l'apprentissage. Chez la brebis, le nombre de cellules mitrales répondant à l'odeur du nouveau né augmente lors de la reconnaissance sélective de l'odeur de son petit par la brebis (Kendrick et al., 1992). Chez le rat, le taux de réponse des cellules mitrales à une odeur

diminue au cours de l'acquisition de la signification comportementale de l'odeur lors de l'apprentissage associatif (Kay and Laurent, 1999).

Par des méthodes d'imagerie cellulaire, il a pu être aussi mis en évidence une grande plasticité du réseau bulbaire, cette fois au niveau des interneurones au cours d'apprentissages associatifs et perceptifs (exposition pendant 10 jours à une même odeur). Ainsi, l'expression de Zif 268 dans la couche granulaire est modulée par ces deux types d'apprentissage (Mandairon et al., 2008a; Busto et al., 2009).

Ainsi, le BO apparaît comme une structure possédant un réseau neuronal très plastique, et les interneurones inhibiteurs semblent jouer un rôle central dans ces mécanismes de plasticité. L'ensemble des observations décrites ci-dessus font vraisemblablement appel à des mécanismes variés incluant des processus d'adaptation à un niveau purement synaptique. Ces processus seraient induits par l'activité et potentiellement contrôlés par les systèmes neuromodulateurs projetant sur le BO en impliquant particulièrement les interneurones bulbaires.

2.2. Neuromodulation de l'activité bulbaire par des afférences centrifuges

Les neuromodulateurs sont libérés par les neurones et agissent à court terme sur les éléments post-synaptiques, et également à plus long terme pour modifier les propriétés cellulaires des neurones cibles et l'efficacité de leur transmission synaptique. Les corps cellulaires des neurones produisant ces neuromodulateurs sont regroupés en noyaux spécifiques et ont la particularité d'émettre des projections diffuses qui influencent l'activité de nombreuses régions encéphaliques. De ce fait les effets neuromodulateurs vont s'exercer sur de très nombreuses fonctions cérébrales sensorielles et cognitives.

Les quatre principaux systèmes neuromodulateurs sont le système dopaminergique dont les corps cellulaires d'origine sont regroupés dans la substance noire et l'aire tegmentale ventrale du mésencéphale, le système cholinergique, dont les corps cellulaires sont regroupés dans plusieurs noyaux du télencéphale basal, le système noradrénergique issu des noyaux situés dans le pont et les régions tegmentales latérales et le système sérotoninergique issu des noyaux du raphé du tronc cérébral.

Le BO reçoit des afférences centrifuges provenant de l'ensemble de ces systèmes neuromodulateurs, à l'exception du système dopaminergique, qui autorisent probablement une modulation fine mais diffuse du codage odorant dans le BO.

2.2.1. Modulation noradrénergique

2.2.1.1. Le système noradrénergique, un système diffus modulant l'activité corticale

Le locus coeruleus (LC) est un des groupes majeurs de noyaux noradrénergiques (A6), situé dans la partie dorsale du pont, au niveau de la région latérale du quatrième ventricule. Il constitue la source de noradrénaline du cortex et regroupe environ 15 000 neurones noradrénergiques chez l'homme et 1500 neurones chez le rat (Aston-Jones et al., 2000; Berridge and Waterhouse, 2003; Marien et al., 2004). Ces neurones noradrénergiques possèdent des axones fortement ramifiés, essentiellement ipsilatéraux (Figure 8).

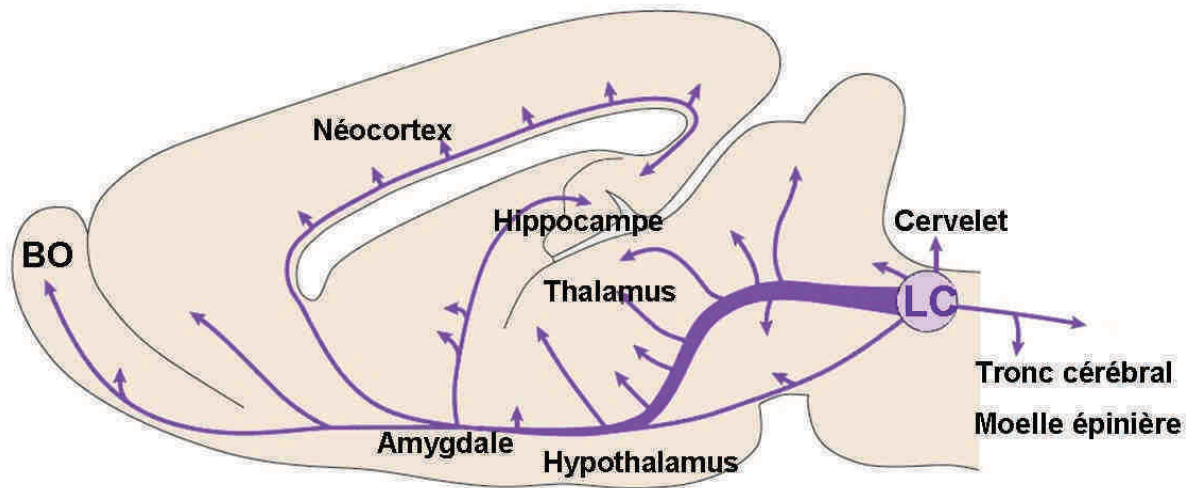


Figure 8: Schéma des projections noradrénergiques issues du Locus Coeruleus (LC) sur une coupe sagittale de cerveau de rat.

La noradrénaline (NA) est impliquée de manière générale dans les mécanismes attentionnels (Berridge and Waterhouse, 2003) et de réponse à un environnement nouveau ou à un stress (Foote et al., 1983; Abercrombie and Jacobs, 1987; Aston-Jones et al., 1999; McQuade et al., 1999; Aston-Jones et al., 2000; Cecchi et al., 2002; Morilak et al., 2005). Face à des stimuli nouveaux, le taux de décharge du LC augmente fortement, et la NA régule l'éveil comportemental (Foote et al., 1980; Aston-Jones and Bloom, 1981). La NA aurait ainsi un rôle majeur dans les processus de sélection des stimuli environnementaux essentiels, modulant la saillance des informations sensorielles, sélectionnant les signaux sensoriels aux niveaux thalamique et cortical favorisant leur mise en mémoire (Berridge and Waterhouse, 2003; Sara, 2009).

La NA régule aussi les fonctions de mémoire de travail (Arnsten and Li, 2005; Robbins and Roberts, 2007), de consolidation et de rappel (Sara, 2009). Enfin, la NA favorise la potentialisation à long terme (LTP) (Bliss et al., 1983) et facilite d'une manière synergique l'action de l'Acétylcholine (ACh) pour la LTP (Brocher et al., 1992).

2.2.1.2. Organisation des projections du Locus Coeruleus sur le bulbe olfactif

Les fibres noradrénergiques innervant le BO sont issues du LC. Approximativement 40% des neurones du LC projettent dans le BO chez le rat. Ces fibres noradrénergiques forment dans le BO un réseau très dense et sont majoritairement distribuées dans les couches granulaires et plexiforme externe. La couche glomérulaire est, à l'inverse, très peu innervée (Shipley et al., 1985; McLean et al., 1989). Deux types de terminaisons axonales noradrénergiques sont observées : des terminaisons synaptiques classiques et des varicosités, ce qui suggère que la NA peut être libérée en extra-synaptique, activant ainsi de manière paracrine des récepteurs neuronaux, gliaux, et également des récepteurs situés au niveau de vaisseaux sanguins.

2.2.1.3. Cibles cellulaires de la noradrénaline dans le bulbe olfactif et conséquences à l'échelle comportementale

Lors de sa libération, la NA se fixe sur des récepteurs ionotropiques α_1 et α_2 , ou des récepteurs métabotropiques β noradrénergiques. La répartition de ces différents récepteurs noradrénergiques n'est pas homogène au sein du BO. En effet, les récepteurs α_1 sont présents en grande quantité au sein de la couche plexiforme externe et beaucoup moins dans les couches de cellules mitrales et granulaires. Enfin, les trois types de récepteurs (α_1 , α_2 et β) sont exprimés par les cellules mitrales et les cellules granulaires (McCune et al., 1993; Pieribone et al., 1994; Woo and Leon, 1995; Rosin et al., 1996; Talley et al., 1996).

L'activité des neurones noradrénergiques est sous contrôle de l'activité inhibitrice des récepteurs α_2 présynaptiques. Le blocage de ces récepteurs conduit à une désinhibition des neurones noradrénergiques du LC, induisant une forte libération de NA dans les structures cibles (Marien et al., 2004).

Ce sont donc principalement les synapses dendro-dendritiques entre cellules mitrales et cellules granulaires qui sont les cibles de la NA pour la modulation de l'information olfactive dans le BO (Jahr and Nicoll, 1982; Trombley, 1992).

L'impact de la NA au niveau cellulaire semble très complexe. Les données électrophysiologiques montrent que la NA atténue l'action inhibitrice des interneurons sur les cellules mitrales (Jahr and Nicoll, 1982). Cette action pourrait être directe ou indirecte et faire intervenir l'inhibition présynaptique des mitrales via les récepteurs α adrénergiques, qui réduirait la stimulation des cellules granulaires (Trombley, 1992; Trombley and Shepherd, 1992).

Chez le xénope ou le mammifère, les concentrations faibles de NA activent les récepteurs $\alpha 2$ et atténuent l'inhibition GABAergique des cellules mitrales, tandis que des concentrations plus élevées en NA activent les récepteurs $\alpha 1$ et accroissent l'inhibition GABAergique des cellules mitrales (Czesnik et al., 2001; Nai et al., 2009; Nai et al., 2010). En d'autres termes, des concentrations faibles de NA atténuent l'excitabilité des cellules granulaires via les récepteurs $\alpha 2$, alors que les concentrations élevées en NA augmentent leur excitabilité via les récepteurs $\alpha 1$.

Enfin, la NA semble moduler l'activité des cellules mitrales selon un mécanisme biphasique d'un point de vue temporel : dans un premier temps, la stimulation du LC qui conduit à la libération de NA diminue l'inhibition des cellules mitrales lors de la stimulation olfactive, puis dans un deuxième temps, potentialise cette inhibition via les récepteurs β adrénergiques (Okutani et al., 1998). Ainsi, la libération de NA diminuerait, puis augmenterait la libération de glutamate par les cellules mitrales sur les cellules granulaires.

Dans des modèles comportementaux plus intégrés, on retrouve cette même complexité et variabilité des effets de la NA. Lors de l'acquisition d'une préférence olfactive chez le raton (Wilson et al., 1987) ainsi que lors de la reconnaissance d'odeur de l'agneau par sa mère (Kendrick et al., 1992), le renforcement de l'inhibition des mitrales observé dépend de l'activation noradrénergique. A l'inverse, la NA aurait tendance à désinhiber les cellules mitrales lors d'un apprentissage olfactif précoce (Wilson and Sullivan, 1994).

L'implication de la NA dans l'apprentissage néonatal de préférence d'odeur est bien caractérisée. Pendant une période critique néonatale, l'association odeur-stimulation aversive qui met en jeu le BO et le LC, induit chez le raton une préférence pour cette odeur. A la fin de la période critique (P10), l'apprentissage rapide et robuste de préférence d'odeur n'est plus possible. Une réduction dramatique de la libération de NA dans le BO lors de la présentation de l'odeur est observée, sous-tendue par une modulation de la balance des autorécepteurs noradrénergiques du LC (émergence de l'auto-inhibition via les récepteurs $\alpha 2$ et atténuation de l'auto-activation via les récepteurs $\alpha 1$) (Rangel and Leon, 1995). Avec la fin de cette période apparaissent alors d'autres types d'apprentissage, tels que la peur d'une odeur de prédateur, l'évitement passif et le conditionnement de peur (Moriceau and Sullivan, 2004).

Chez l'adulte, la NA est critique aussi pour la discrimination olfactive chez l'adulte (Doucette et al., 2007; Mandairon et al., 2008b) via les récepteurs α 1 (Mandairon et al., 2008b) et la sensibilité (Linster and Hasselmo, 1997; Hayar et al., 2001). Après apprentissage associatif, lors de la présentation de l'odeur apprise, une augmentation de glutamate, de GABA (Brennan et al., 1998), ainsi qu'une augmentation de l'activité de l'ensemble du LC et du taux de NA dans le BO (Bouret and Sara, 2004) sont observées. La résultante de ces modulations serait une diminution du ratio excitation / inhibition. Enfin, nous savons que la NA exerce un effet facilitateur sur la mémoire à court terme (Doucette et al., 2007; Veyrac et al., 2007; Guerin et al., 2008) via les récepteurs α 1 et β adrénergiques.

Les variations du taux de NA dans le BO n'ont donc pas toujours les mêmes conséquences fonctionnelles au niveau des cellules mitrales et modulent donc de manière complexe les performances de discrimination et de mémoire olfactive.

2.2.2. Autres systèmes neuromodulateurs

2.2.2.1. Modulation cholinergique

Des afférences cholinergiques sur le BO sont en provenance du télencéphale basal, et plus particulièrement du limbe horizontal de la bande diagonale de Broca (HDB) (noyau cholinergique Ch3) et projettent majoritairement sur les cellules périglomérulaires GABAergiques et dopaminergiques du BO (Macrides et al., 1981; Le Jeune et al., 1995). Comme dans le cas de la NA, l'ACh possède un rôle complexe et parfois des rôles opposés suivant les cellules cibles et les récepteurs qui sont sollicités. L'ACh favorise l'activité des cellules mitrales et des cellules périglomérulaires via les récepteurs nicotiques présents sur les cellules mitrales. A l'inverse, l'ACh augmente la libération de GABA par les cellules granulaires via l'action sur les récepteurs muscariniques qu'elles possèdent, renforçant ainsi l'inhibition des cellules mitrales (Castillo et al., 1999).

Le système cholinergique est fortement impliqué dans la mémoire olfactive et l'apprentissage: un blocage de la transmission muscarinique altère la rétention à court terme d'une information olfactive (Ravel et al., 1992; Ravel et al., 1994). Le système cholinergique est également impliqué dans la discrimination olfactive : le blocage des récepteurs nicotiques supprime la discrimination entre deux odeurs proches (Mandairon et al., 2006d).

Enfin, l'ACh semble réguler la mort des cellules granulaires et la neurogenèse bulbaire (Mechawar et al., 2004; Kaneko et al., 2006). Le système cholinergique module donc l'activité bulbaire et semble avoir une action à long terme qui pourrait modifier les circuits bulbaires via la modulation de la mort cellulaire et de la neurogenèse.

2.2.2.2. Modulation sérotoninergique

Le BO reçoit des projections abondantes de fibres sérotoninergiques issues du noyau du raphé dorsal et médian (McLean and Shipley, 1987). Les fibres sont localisées dans l'ensemble des couches bulbaires, mais plus particulièrement au sein de la couche glomérulaire chez les rats (Won et al., 1998), où leur densité est deux à trois fois supérieure à celle des autres couches du BO. On retrouve des récepteurs 5-HT_{1A} dans la couche plexiforme externe et des récepteurs 5-HT_{1B} dans la couche granulaire. Enfin, les récepteurs 5-HT₂ sont exprimés par les cellules mitrales, ainsi que par les interneurons périglomérulaires (Wright et al., 1995; Hardy et al., 2005). La sérotonine (5-HT) inhibe des groupes de cellules mitrales via des mécanismes impliquant la libération de GABA par les cellules granulaires et périglomérulaires. Il existe également une modulation des cellules mitrales directe par dépolarisation via les récepteurs 5-HT_{2A}, et une modulation de certaines cellules périglomérulaires par dépolarisation via les récepteurs 5-HT_{2C} (Hardy et al., 2005). Au niveau fonctionnel, il a été montré qu'une déplétion sérotoninergique à l'aide d'une neurotoxine spécifique chez le rat adulte entraîne une perte des performances dans une tâche de discrimination acquise avant la déplétion (Moriizumi et al., 1994). La NA et la 5-HT semblent fonctionner en synergie en activant les récepteurs β 1 adrénergiques et 5-HT_{1A} (Langdon et al., 1997), induisant une plasticité utile à l'apprentissage (Yuan et al., 2003; McLean and Harley, 2004).

2.2.3. Projections centrifuges issues des voies olfactives

Le BO possède des connexions réciproques avec les cortex olfactifs (le cortex piriforme, l'amygdale, le tractus olfactif) (Shepherd and Greer, 1990). Ces projections semblent avoir un rôle majoritairement excitateur sur les cellules granulaires, cibles principales de ces afférences, via le glutamate.

Un dernier mécanisme majeur entre en jeu dans la plasticité du réseau bulbaire : la neurogenèse. Elle permet le renouvellement d'au moins une partie des deux populations d'interneurones, les cellules périglomérulaires et granulaires. Les néo-neurones ont été impliqués dans les processus d'apprentissage et de mise en mémoire des odeurs.

2.3. Neurogenèse adulte

2.3.1. Brève histoire d'une découverte majeure

« Une fois le développement terminé, la pousse et la régénération axonale et dendritique s'arrête de manière irrévocable. Dans le système nerveux central adulte, le réseau nerveux est fixe, terminé et immuable. Tout va mourir, rien ne peut être régénéré. C'est aux sciences futures de changer, si possible cette difficile condition. » (Ramon y Cajal, 1851-1934). C'est chose faite !

Les premières preuves de l'existence d'une neurogenèse chez l'adulte acceptées par la communauté scientifique sont celles concernant la neurogenèse chez les oiseaux (Goldman and Nottebohm, 1983). Depuis 1960, un certain nombre d'études allant dans le sens de l'existence d'une neurogenèse adulte chez le mammifère ont montré des divisions cellulaires dans la zone sous-ventriculaire (ZSV) du télencéphale et la zone sous-granulaire (ZSG) du gyrus denté et des cellules néoformées dans le BO et la couche granulaire du gyrus denté. Cependant ces données ne parviennent pas à convaincre la communauté scientifique du fait de techniques insuffisamment précises, la nature neuronale des cellules néoformées n'étant pas avérée (Altman, 1962; Altman and Das, 1965; Altman, 1969). Les travaux de Kaplan dans les années 80 apportent des preuves en microscopie électronique de plus en plus irréfutables du caractère neuronal des cellules néoformées dans le cerveau de mammifère adulte (Kaplan and Hinds, 1977; Kaplan, 1983; Kaplan and Bell, 1984) sans avoir de réel impact pour autant. Il faut attendre 1992 pour que la neurogenèse adulte chez les rongeurs soit enfin reconnue grâce à la découverte des cellules souches neurales adultes (Reynolds and Weiss, 1992) et l'avènement de la technique de la bromodeoxyuridine (BrdU) pour dater la naissance des cellules combinée à l'utilisation de co-marquage permettant d'identifier la nature neuronale des cellules néoformées (Corotto et al., 1993; Lois and Alvarez-Buylla, 1994). A la fin des années 90, la neurogenèse est confirmée chez les primates (Gould et al., 1997; Kornack and Rakic, 1999, 2001; Pencea et al., 2001) et enfin chez l'homme (Eriksson et al., 1998; Bedard and Parent, 2004; Sanai et al., 2004; Curtis et al., 2009).

Chez les mammifères, deux zones principales de production de nouveaux neurones ont été identifiées: la zone sous ventriculaire (ZSV) bordant la paroi des ventricules latéraux et la zone sous-granulaire (ZSG) du gyrus denté. Chez les rongeurs, une neurogenèse de faible ampleur est également décrite dans d'autres régions cérébrales comme le cortex piriforme, l'amygdale, l'hypothalamus et le complexe vagal dorsal du tronc cérébral. L'existence d'une neurogenèse dans le néocortex est encore à ce jour incertaine (Gould, 2007).

La neurogenèse se déroule en trois étapes : les cellules souches produites dans les niches neurogéniques (ZSV et ZSG) se divisent pour donner des précurseurs qui après migration respectivement jusqu'au BO et dans la couche granulaire du gyrus denté, se différencient majoritairement en neurones (80 à 90 %) et en cellules gliales.

Les travaux présentés dans cette thèse concernent la neurogenèse bulbaire. Nous développerons donc les données actuelles dans ce domaine, en décrivant le processus de neurogenèse, ses mécanismes de régulation et ses possibles implications fonctionnelles.

2.3.2. La neurogenèse bulbaire

La neurogenèse bulbaire est quantitativement plus importante que la neurogenèse hippocampique. Elle produit essentiellement des interneurones inhibiteurs, périglomérulaires et granulaires mais récemment, des interneurones glutamatergiques néoformés ont aussi été mis en évidence (Brill et al., 2009).

La neurogenèse produit plusieurs milliers d'interneurones inhibiteurs par jour qui s'intègrent au réseau bulbaire. On estime qu'environ 80 000 nouveaux neurones granulaires néoformés arrivent chaque jour dans chaque bulbe olfactif chez les rongeurs, ce qui correspondrait à 1% de la totalité des cellules granulaires présentes.

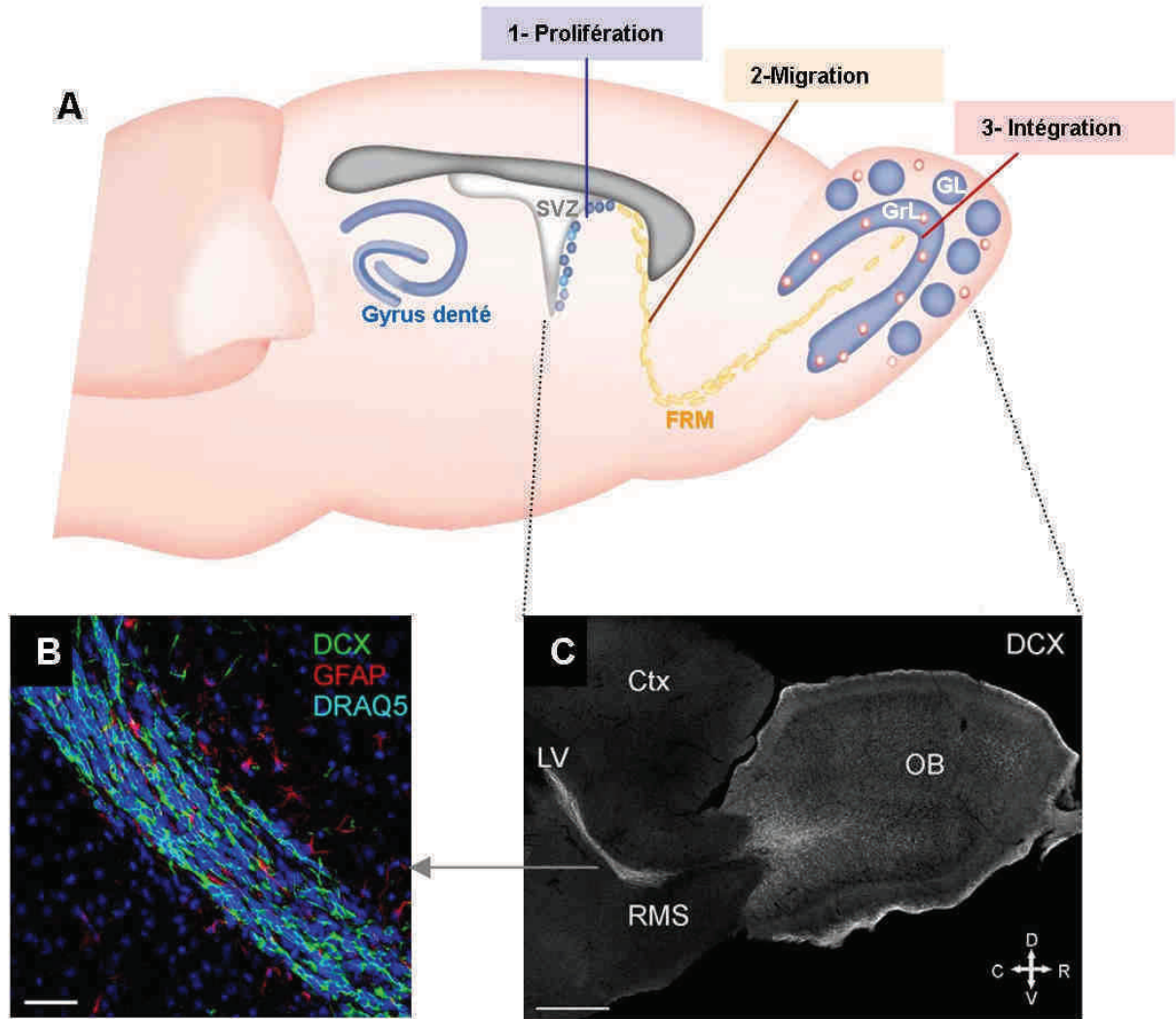


Figure 9: Schéma des différentes étapes de la neurogenèse adulte dans le BO de rongeur.

A-1- Les cellules souches présentes dans la ZSV prolifèrent. **2-** Les neuroblastes ainsi formés migrent de manière tangentielle le long du flux rostral migratoire en direction du BO. **3-** Dans le BO, ils migrent alors radialement et se différencient en interneurons inhibiteurs dans les couches granulaires et glomérulaires du BO. **B-C** Les neuroblastes (exprimant la double cortine DCX) issus de la ZSV migrent vers le BO suivant le flux rostral migratoire (RMS) en s'organisant en chaînes de migration dans des tubes gliaux (GFAP+). DRAQ5 marque les noyaux cellulaires. D'après (Kempermann, 2009; Whitman and Greer, 2009).

2.3.2.1. Typologie de la zone sous-ventriculaire et prolifération

La prolifération a essentiellement lieu dans la ZSV dorso-latérale, le long des ventricules latéraux. Cette région très vascularisée fournit aux cellules souches un environnement cellulaire et moléculaire favorisant leur prolifération et leur survie et constitue une niche neurogénique (Alvarez-Buylla and Garcia-Verdugo, 2002). On retrouve également en nombre très limité des cellules souches le long du flux rostral migratoire (FRM), chemin suivi par les cellules en migration en direction du BO qui sont mobilisables en cas de lésion du BO ou de l'épithélium olfactif (Gritti et al., 2002; Mandairon et al., 2006b; Alonso et al., 2008).

Dans la ZSV, au moins 4 populations cellulaires ont été décrites d'après des critères morphologiques, immunocytochimiques, ainsi que d'après leur potentiel prolifératif (Doetsch et al., 1997; Peretto et al., 1999). Chez les rongeurs, les neuroblastes (cellules de type A) sont entourés par des cellules « astrocyte-like » (type B) et par des clusters de cellules sphériques à fort pouvoir prolifératif, les cellules C. Toutes ces cellules sont pour la plupart séparées de la paroi ventriculaire par une rangée monostratifiée de cellules épendymaires ciliées (cellules E).

Les **cellules de type B** sont des cellules qui prolifèrent peu activement mais sont capables de s'auto-renouveler et d'engendrer des cellules filles (cellules progénitrices) qui donneront des cellules gliales et des neurones après différenciation. Elles possèdent les caractéristiques de cellules souches multipotentes (Merkle et al., 2004; Merkle et al., 2007). Les cellules de type B expriment la GFAP, un marqueur de cellules gliales et sont très ressemblantes à de la glie radiale d'un point de vue morphologique.

Les cellules de types C à très fort pouvoir mitotique sont issues de la division des cellules de type B. Ces cellules de type C constituent des précurseurs neuronaux qui vont générer des neuroblastes, les cellules de type A, et forment une population amplificatrice intermédiaire.

Les **cellules de types A** issues de la division des cellules de type C sont des neuroblastes. Elles expriment des marqueurs de cellules neuronales immatures comme la double cortine (DCX), qui est spécifique des cellules en cours de migration, et la PSA-NCAM, qui est une molécule d'adhésion cellulaire. Ce sont ces cellules qui vont migrer vers le BO et s'y différencier en neurones ou en glie.

Les cellules de type E sont des cellules épendymaires ciliées qui, bien qu'elles n'aient pas de potentiel neurogénique, contribuent aussi à la prolifération des progéniteurs en libérant dans la ZSV des facteurs trophiques.

Chez l'homme, l'organisation de la ZSV diffère par quelques points de celle des rongeurs, mais on y retrouve les 4 types cellulaires précédemment décrits (Sanai et al., 2004; Quinones-Hinojosa et al., 2006; Curtis et al., 2007; Quinones-Hinojosa et al., 2007).

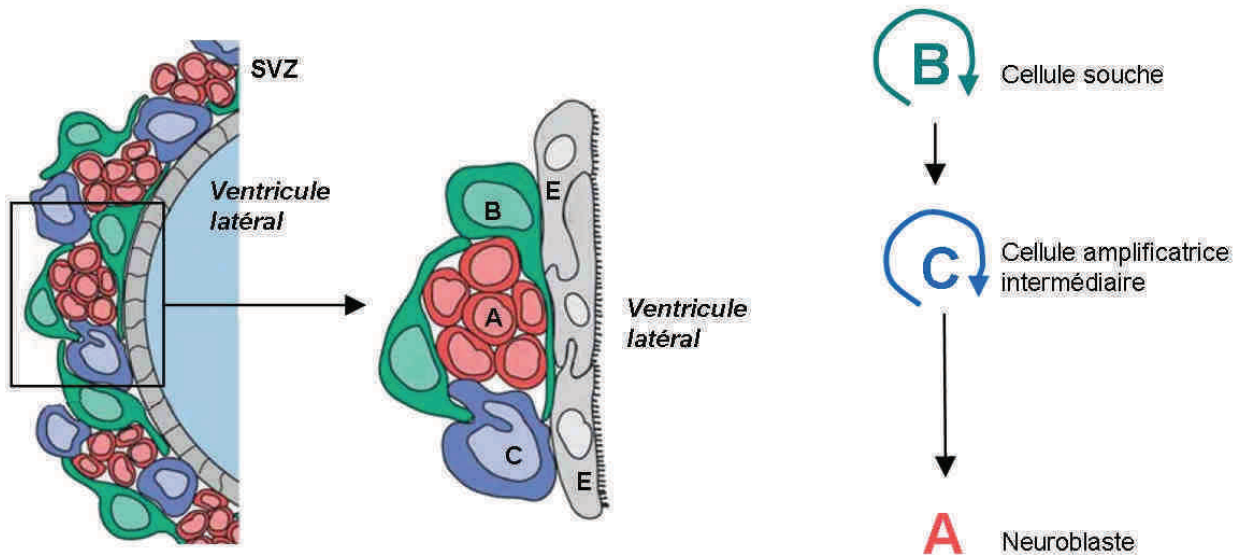


Figure 10 : La zone sous ventriculaire : différents types de cellules présents.

Les cellules B sont les cellules souches de la ZSV et présentent une activité mitotique faible, maintenant ainsi leur population et donnant les cellules C, à fort pouvoir prolifératif. Les cellules C sont des amplificateurs intermédiaires qui forment les cellules A, les neuroblastes qui vont ensuite migrer jusqu'au BO. E: cellules épendymaires. D'après (Conover and Allen, 2002).

Il a été récemment montré chez les rongeurs qu'il existe une diversité des progéniteurs dans la ZSV, liée à leur position au sein de la ZSV: les cellules des régions dorsales de la ZSV vont donner naissance à des cellules granulaires superficielles dans le BO, tandis que les cellules issues des régions plus ventrales de la ZSV donneront des cellules granulaires plus profondes (Merkle et al., 2007). Quant aux cellules proliférant dans le FRM, elles donneront plutôt des cellules périglomérulaires (Lledo et al., 2006).

2.3.2.2. Prolifération et migration des cellules néoformées depuis la zone sous ventriculaire vers le bulbe olfactif

La niche neurogénique qu'est la ZSV constitue un environnement propice à la prolifération cellulaire de par la présence de divers facteurs de croissance (EGF, GFG, VEGF, BDNF, LIF...), de protéines morphogènes (notch, SHH, BMPs...), et de molécules de guidage (molécules de la famille des éphrines...). Les principaux facteurs impliqués dans le contrôle de la prolifération au sein la ZSV sont répertoriés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Contrôle de la prolifération chez l'adulte dans la ZSV in vivo et/ou in vitro.

CONTROLE DE LA PROLIFERATION		
Molécule	Effet	Référence
<u>Facteurs de transcription</u>		
Famille des E2F	Régule la prolifération	(Yoshikawa, 2000)
<u>Facteurs de croissance</u>		
EGF et FGF2	Favorisent l'auto-renouvellement des cellules souches (type B et C)	(Kuhn et al., 1997)
	L'APP potentialise l'effet de l'EGF	(Caille et al., 2004)
VEGF	Limite la prolifération	(Wittko et al., 2009)
<u>Facteurs trophiques</u>		
CNTF	Favorise le renouvellement des cellules souches	(Shimazaki et al., 2001)
<u>Voies/ molécules contrôlant la différenciation et substances morphogènes</u>		
Voie notch	Données contradictoires : favorise la gliogenèse au détriment de la neurogenèse ; et maintient le pool de cellules souches indifférenciées	Pour revue (Lenington et al., 2003)
Noggin	Favorise la neurogenèse au détriment de la gliogenèse	(Lim et al., 2000)
Ephrine	Maintient le pool de progéniteurs	(Conover et al., 2000)
SHH	Maintient le pool de progéniteurs	(Machold et al., 2003)
<u>Hormones</u>		
Glucocorticoïdes	Limitent la prolifération	(Lau et al., 2007)
Corticostéroïdes	Limitent la prolifération (ZSG)	(Cameron and McKay, 1999)
Prolactine	Favorise la prolifération	(Shingo et al., 2003)
Oestrogènes	Favorisent la prolifération	(Tanapat et al., 1999)
<u>Neuromodulateurs</u>		
Dopamine	Limite la prolifération	(Kippin et al., 2005)
GABA	Limite la prolifération	(Liu et al., 2005)
NO	Limite la prolifération	(Packer et al., 2003; Matarredona et al., 2004)
Sérotonine	Favorise la prolifération	(Brezun and Daszuta, 1999; Banasr et al., 2004)

Chez les mammifères, les neuroblastes s'organisent en chaînes longitudinales à la surface de la ZSV. Puis ils quittent la ZSV et se regroupent plus antérieurement, formant une voie de migration tangentielle, le FRM (Lois et al., 1996; Curtis et al., 2007; Kam et al., 2009) (Figure 9 B-C). Tout au long du FRM, les neuroblastes sont entourés d'une population astrocytaire formant une sorte de gaine gliale étroitement liée aux vaisseaux sanguins qui pourraient ainsi servir de guides à la migration (Snappy et al., 2009; Whitman et al., 2009). Chez la souris,

les neuroblastes migrent longitudinalement sur une distance de 5 mm, la vitesse de migration atteignant 70 à 80µm/h (Nam et al., 2007).

Une fois dans le BO, les neuroblastes poursuivent leur migration individuellement et radialement depuis la zone péri-ventriculaire, partie rostrale, bulbaire du FRM, vers les couches granulaire et glomérulaire (Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002), utilisant les vaisseaux sanguins du BO comme des guides de migration (Bovetti et al., 2007). Les deux phases de migration, tangentielle dans le FRM puis radiale dans le BO, sont sous contrôle de molécules produites par les cellules en cours de migration, par la matrice extracellulaire ou par les régions cible ou d'origine. Un récapitulatif des données principales dans ce domaine est donné dans le tableau 2.

Tableau 2 : contrôle de la migration radiale et tangentielle des neuroblastes.

CONTROLE DE LA MIGRATION TANGENTIELLE DANS LE FLUX ROSTRAL MIGRATOIRE ET RADIALE DANS LE BULBE OLFACTIF		
Molécule	Rôle	Référence
Migration tangentielle dans le FRM		
Molécules d'adhésion cellulaire		
Intégrines	Présentes sur la membrane plasmique des neuroblastes, interagissent avec la laminine de la matrice extracellulaire	(Belvindrah et al., 2007)
MAPs régulées par la DCX	Modulent la migration	(Horesh et al., 1999)
PSA-NCAM	Exprimée par les neuroblastes, régule la formation des chaînes de migration et facilite la migration	(Ono et al., 1994; Hu et al., 1996; Chazal et al., 2000; Gheusi et al., 2000)
	Jouerait un rôle anti adhésif qui faciliterait le glissement des neuroblastes les uns contre les autres	(Cayre et al., 2009)
Molécules attractives / répulsives		
Slit 1, 2	Produites par le septum des ventricules latéraux ; en interaction avec Robo 1 et 3 exprimés par les neuroblastes ; orientent les cellules migrantes par répulsion	(Nguyen-Ba-Charvet et al., 2004)
GDNF	Produit par le BO, en interaction avec la NCAM exprimée par les neuroblastes, rôle attracteur	(Paratcha et al., 2006)
SHH	Présent dans la ZSV et le fluide cérébrospinal. Interaction avec les récepteurs exprimés par les cellules migrantes. Rôle attracteur. Ralentit la migration	(Angot et al., 2008)
Netrine	Produite par les cellules mitrales. Contrôle de la direction de migration tangentielle et radiale	(Murase and Horwitz, 2002)
Facteur trophique		
BDNF	Favorise la migration	(Chiaromello et al., 2007)
Neurotransmetteurs et métabolites hormonaux		

I. Organisation anatomo-fonctionnelle du système olfactif

GABA	Présent dans le FRM, il ralentit la migration	(Bolteus and Bordey, 2004)
Métabolites de la progestérone	Modifient l'organisation des tubes gliaux dans le FRM	(Giachino et al., 2004)
Aspects mécaniques		
Cellules épendymaires ciliées	Rôle mécanique important. Grâce aux mouvements de leurs cils, créent des flux de liquide céphalorachidien et ainsi un gradient de molécules de guidage pour la migration des neuroblastes	(Sawamoto et al., 2006)
Migration radiale dans le BO		
Reeline	Produite par les cellules mitrales. Détachement des chaînes de migration, début de migration radiale	(Saghatelian et al., 2004; Ng et al., 2005; Puvarel et al., 2009)
Slit	Ralentit le passage de la migration tangentielle à radiale	(Nguyen-Ba-Charvet et al., 2004)
Tenascine-R	Exprimée dans la couche granulaire du BO, agit comme signal de détachement des neuroblastes	(Saghatelian et al., 2004)
Prokinéticine 2	Détachement des chaînes de migration	(Ng et al., 2005; Puvarel et al., 2009)

2.3.2.3. Différenciation et intégration des cellules néoformées dans le bulbe olfactif

Chez les rongeurs, les neuroblastes atteignent les couches cibles du BO 8 à 10 jours après leur naissance. 80-90% de ces cellules néoformées vont se différencier en neurones, tandis que 10-20% deviendront des cellules gliales (Lois and Alvarez-Buylla, 1994; Lledo et al., 2006). Parmi les neurones, 80% deviennent des interneurons granulaires et les 20% restants deviennent des cellules périglomérulaires. La neurogenèse permet de renouveler entièrement en quelques mois la zone profonde de la couche granulaire, cible principale des néo-neurones chez l'adulte (Imayoshi et al., 2008).

Au cours des trois premiers mois suivant leur naissance, environ 50% des cellules néoformées meurent par apoptose, les autres survivant pendant un an voire plus (Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002; Winner et al., 2002; Mandairon et al., 2006b). La phase majeure d'apoptose a lieu pendant une période critique correspondant à la phase d'intégration fonctionnelle des cellules (Carleton et al., 2003). Le taux de survie est très sensible à la mise en jeu fonctionnelle du BO (privation, enrichissement, apprentissage), indiquant que le processus d'élimination ou de survie des neurones nouvellement formés pourrait dépendre du

taux d'activation du réseau (Rocheffort et al., 2002; Yamaguchi and Mori, 2005; Mandairon et al., 2006b).

De nombreux facteurs moléculaires sont susceptibles de moduler le destin des neuroblastes (voir par exemple le rôle de BMP et Noggin (Lim et al., 2000) ou celui de l'EGF (Kuhn et al., 1997)). Le BDNF (Bath et al., 2008) et NeuroD (Gao et al., 2009) seraient aussi importants pour la différenciation et la survie des neurones néoformés dans le BO et l'hippocampe.

Ici nous nous intéresserons plus spécifiquement au processus de maturation des neuroblastes dans le BO et au rôle des systèmes neuromodulateurs dans le contrôle de leur survie. En effet ces derniers pourraient être des médiateurs par lesquels l'entrée sensorielle et les apprentissages olfactifs contrôlent la survie des néo-neurones.

L'utilisation d'un marquage rétroviral ciblant les progéniteurs de la ZSV a permis d'étudier la maturation et l'intégration des nouveaux neurones granulaires dans le BO d'après des critères morphologiques (Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002) et des enregistrements électrophysiologiques sur tranche (Carleton et al., 2003) chez le rongeur. Ces études ont permis de décrire cinq stades de maturation pour les cellules granulaires.

1- Le premier stade correspond à des neuroblastes en fin de migration tangentielle dans l'extension rostrale du FRM. Les cellules sont alors âgées de 2 à 7 jours et possèdent une morphologie bipolaire avec un corps cellulaire allongé et un cône de croissance caractéristique des neuroblastes en migration.

2- Les cellules au second stade sont âgées de 6 à 9 jours et débutent une migration radiale dans la couche granulaire du BO. Ces cellules développent des prolongements, avec parfois de petites ramifications et un cône de croissance moins proéminent. A ce moment là, les cellules sont déjà sensibles au GABA, sensibilité qui pourrait favoriser la croissance des dendrites et l'intégration des neurones néoformés au réseau, par analogie avec ce qui a été montré dans l'hippocampe (Ge et al., 2006). Très récemment, contrairement aux données initiales, il a été montré que les neuroblastes dans le FRM expriment aussi des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et que du glutamate libéré par les astrocytes favoriserait la survie des cellules en migration (Platel et al., 2010).

3- Au cours du troisième stade, les cellules granulaires ont atteint leur position finale au sein du BO, et commencent à s'intégrer au réseau. Elles possèdent une unique dendrite apicale qui s'étend jusqu'à la couche plexiforme externe et des dendrites basales s'étendant dans la couche granulaire. Ces cellules commencent à montrer des courants synaptiques GABAergiques et glutamatergiques.

4- Les cellules granulaires du stade 4 présentent des dendrites étendues jusqu'à la couche plexiforme externe. Les connexions synaptiques glutamatergiques deviennent de plus en plus nombreuses et les courants sodiques gagnent en amplitude. Ces cellules ont une capacité de

produire de la LTP, capacité qui décroît ensuite progressivement et disparaît vers l'âge de 8 semaines (Nissant et al., 2009).

5- Les cellules de stade 5 élaborent une arborisation dendritique complexe avec de nombreuses épines dendritiques et présentent pour la première fois des potentiels d'action identiques à ceux de neurones matures.

La maturation des cellules granulaires se poursuit au-delà du stade 5 et leur arbre dendritique se montre très plastique (élongation, rétractation dendritique, formation et disparition d'épines dendritiques) jusqu'à 90 jours après leur naissance (Mizrahi, 2007).

Les cellules périglomérulaires dont la maturation et l'intégration au réseau ont été beaucoup moins étudiées, mettent environ 4 semaines pour devenir matures morphologiquement et sur le plan électrophysiologique (Belluzzi et al., 2003).

2.3.2.4. Contrôle de la neurogenèse par les systèmes neuromodulateurs

La NA est fortement impliquée dans le contrôle de la survie des nouveaux neurones. En effet, un traitement au dexefaroxan, un antagoniste des récepteurs adrénergiques $\alpha 2$ pré-synaptiques, augmente la libération de NA et limite l'apoptose dans les couches granulaires et subépendymaires du BO de rat (Bauer et al., 2003). Dans un modèle de mort neuronale induite par déafférentation du BO (axotomie unilatérale) chez la souris, l'utilisation d'antagonistes adrénergiques $\alpha 2$ limite la mort neuronale, ainsi que l'activation gliale et la prolifération cellulaire déclenchées par l'axotomie (Veyrac et al., 2005). Des résultats similaires sont obtenus chez le rat dans le gyrus denté : un traitement au dexefaroxan favorise la survie à long terme des nouveaux neurones et accroît l'arbre dendritique des jeunes neurones (Rizk et al., 2006). Ces effets sont en accord avec les effets anti-apoptotiques de la NA sur les neurones documentés dans des modèles lésionnels comme l'ischémie, l'excitotoxicité et la dévascularisation corticale (Marien et al., 2004). Toutefois, une déplétion noradrénergique induite par traitement au N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine (DSP4), une neurotoxine sélective des neurones noradrénergiques du LC, ne semble pas modifier la survie des nouveaux neurones dans le gyrus denté (Kulkarni et al., 2002).

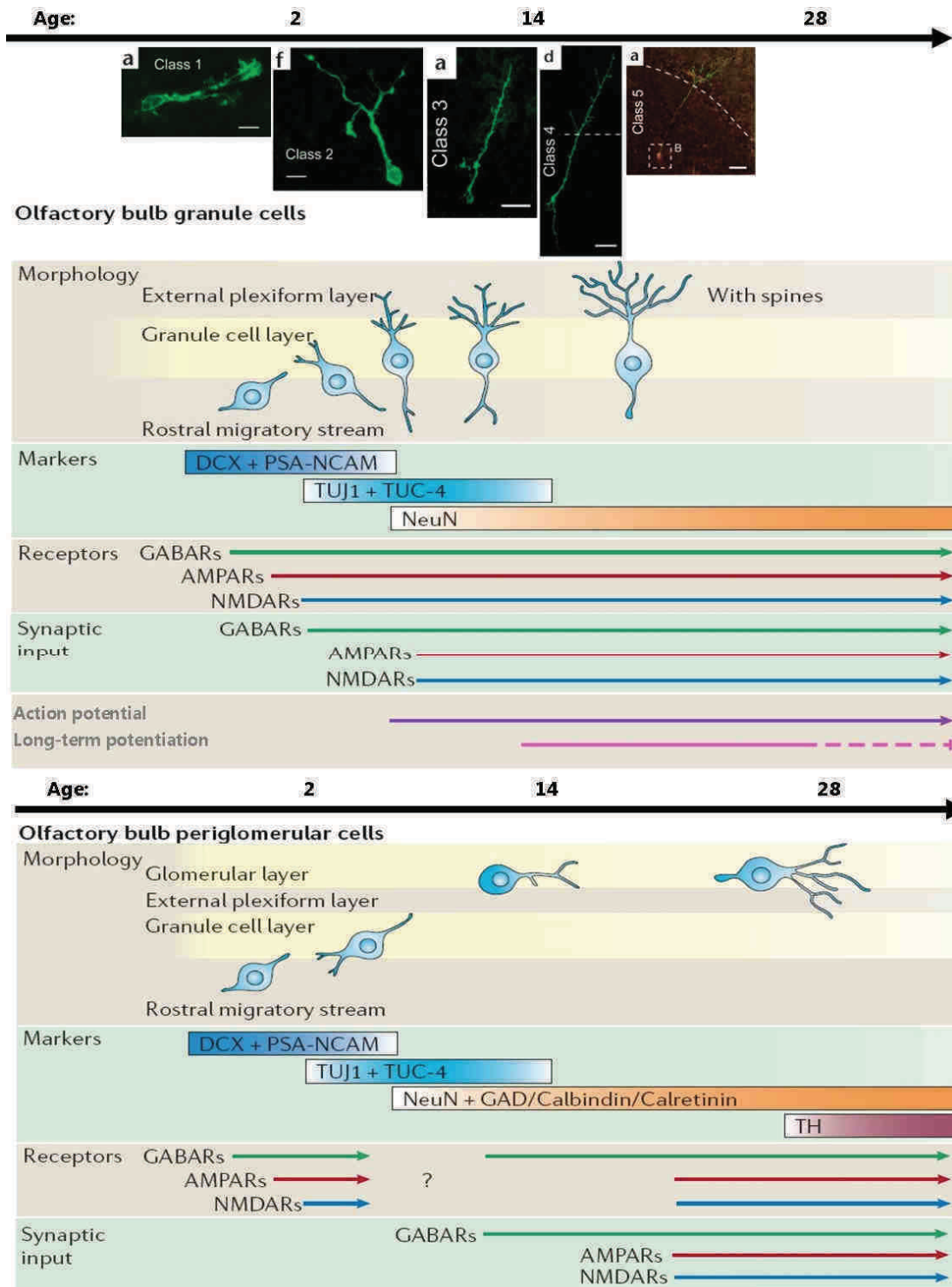


Figure 11: Maturation des cellules granulaires et périglomérulaires dans le BO. 5 Stades de maturation ont été définis suivant les marqueurs transitoires exprimés, la morphologie et la physiologie des néo-neurones. Les récepteurs au GABA puis les récepteurs au glutamate sont exprimés. Les courants synaptiques GABA précèdent également les courants glutamatergiques. Double cortine (DCX), PSA-NCAM, β 3-tubuline (Tuj1), NeuN, TUC4, NeuN et Tyrosine Hydroxylase (TH) (d'après Carleton et al., 2003; Lledo et al., 2006).

L'ACh est également impliquée dans le contrôle de la neurogenèse. Après lésion partielle des neurones cholinergiques du septum médian par l'immunotoxine 192IgG-saporine, le nombre

de nouveaux neurones diminue dans la couche granulaire et augmente dans la couche glomérulaire (Cooper-Kuhn et al., 2004). De manière cohérente, un traitement par le Donepezil, un inhibiteur de l'acétylcholine estérase (AChE) qui stimule la transmission cholinergique, conduit à une augmentation de la survie de nouveaux neurones granulaires du BO et du gyrus denté, sans modifier la prolifération au sein des niches neurogéniques (Kaneko et al., 2006; Kotani et al., 2008). Enfin, de manière un peu paradoxale, des souris déficientes pour la sous-unité $\beta 2$ du récepteur nicotinique présentent une augmentation de la survie de nouveaux neurones granulaires (Mechawar et al., 2004), suggérant une action complexe de l'ACh sur les nouveaux neurones qui dépendrait du sous-type de récepteurs sur lequel elle agit.

2.4. Les nouveaux neurones, acteurs privilégiés de la plasticité fonctionnelle du bulbe olfactif ?

2.4.1. Modulation de la neurogenèse par l'entrée sensorielle

La survie des neurones néoformés dans le BO est fortement régulée par l'expérience sensorielle. En effet, la réduction de la stimulation olfactive (Yamaguchi and Mori, 2005; Mandairon et al., 2006b), l'enrichissement olfactif (Rocheffort et al., 2002) ou encore certains apprentissages olfactifs (Alonso et al., 2006; Mandairon et al., 2006e; Mouret et al., 2008; Moreno et al., 2009; Sultan et al., 2010) modulent la neurogenèse indiquant un lien étroit entre activité du réseau et survie des neurones néoformés.

2.4.1.1. Effet de la privation olfactive

La privation sensorielle par occlusion d'une narine réduit le nombre de neurones néoformés âgés de 15 à 30 jours (Yamaguchi and Mori, 2005; Mandairon et al., 2006b) et limite le détachement des neuroblastes de leur chaîne de migration en diminuant l'expression de la Tenacin-R (Saghatelian et al., 2004). La privation sensorielle olfactive diminue aussi le nombre d'épines dendritiques portées par les nouveaux neurones (Kelsch et al., 2009). Enfin, l'activité sensorielle aurait un rôle majeur sur le développement et l'expression de phénotypes dopaminergiques et GABAergiques des interneurones périglomérulaires (Bastien-Dionne et al., 2010).

2.4.1.2. Effet de l'enrichissement olfactif

Enrichissement et mémoire olfactive à court terme

L'enrichissement olfactif, selon le protocole qui consiste en une exposition quotidienne à une odeur nouvelle pendant 40 jours induit une augmentation du nombre de nouveaux neurones dans le BO (Rocheffort et al., 2002). L'enrichissement n'ayant aucun effet sur le taux de prolifération dans la ZSV, l'augmentation de la neurogenèse est attribuée à une augmentation de la survie des neurones néoformés. Cette augmentation de neurogenèse s'accompagne d'une amélioration des performances de mémoire à court terme. Les effets de l'enrichissement olfactif sur la neurogenèse et sur les performances de mémoire sont spécifiques de la sphère olfactive puisque l'enrichissement olfactif ne modifie pas le taux de neurogenèse hippocampique, et n'induit aucune amélioration des performances de mémoire spatiale. Inversement, l'enrichissement environnemental classiquement pratiqué pour stimuler la neurogenèse et la plasticité fonctionnelle dans l'hippocampe est sans effet sur la neurogenèse bulbaire (Brown et al., 2003). L'augmentation de survie des nouveaux neurones induite par enrichissement olfactif est temporaire : 30 jours après la fin de l'enrichissement, la densité de cellules néoformées et les performances de mémoire retrouvent leur niveau basal (Rocheffort and Lledo, 2005).

L'amélioration de la survie des nouveaux neurones bulbaires et des performances olfactives passerait par une activation du système noradrénergique, en lien avec la nouveauté des stimulations quotidiennes (Veyrac et al., 2009). En effet, les conséquences bénéfiques de l'enrichissement sur la neurogenèse et les performances mnésiques ne s'observent que lorsque l'on expose quotidiennement les animaux à une nouvelle odeur, et non lorsque les animaux sont exposés à un même lot d'odeurs chaque jour. Seule la nouveauté des stimulations journalières entraînerait une libération accrue de NA dans le BO. Cette hypothèse est confirmée par l'augmentation du taux de NA bulbaire observée au terme de la période d'enrichissement, et le blocage des effets mnésique et neurogénique de l'enrichissement par l'administration pendant l'enrichissement d'un antagoniste mixte des récepteurs noradrénergiques α 1 et β .

Enrichissement et discrimination (apprentissage perceptif)

Un enrichissement d'une durée de 10 jours par deux odeurs proches sur le plan perceptif et non discriminées spontanément permet de les discriminer, grâce à des mécanismes de plasticité siégeant dans le BO (Mandairon et al., 2006c; Mandairon et al., 2006a). Cette augmentation des performances de discrimination représente un apprentissage perceptif qui intervient suite à la stimulation sensorielle, sans renforcement. L'apprentissage perceptif s'accompagne d'une augmentation du nombre de cellules granulaires néoformées, du nombre de cellules granulaires répondant à l'odeur (réponse mesurée par l'expression du gène précoce Zif 268) et du nombre de nouvelles cellules répondant à l'odeur apprise. De manière

cohérente, on observe aussi une augmentation de l'inhibition bulbaire qui serait à l'origine de l'amélioration des performances de discrimination (Moreno et al., 2009).

2.4.1.3. Effet de l'apprentissage associatif

Chez la souris, le paradigme le plus communément utilisé dans le contexte de l'étude de la neurogenèse est l'apprentissage d'une association entre une odeur et une récompense alimentaire. L'apprentissage associatif module de manière importante la neurogenèse bulbaire en modifiant le taux de survie des neurones granulaires néoformés (Alonso et al., 2006; Mandairon et al., 2006e; Mouret et al., 2008; Valley et al., 2009; Sultan et al., 2010). L'effet bénéfique de l'apprentissage est soumis à une période critique. La survie des neurones âgés de 15 à 30 jours est augmentée lors de l'apprentissage, selon une distribution au sein de la couche granulaire qui est spécifique de l'odeur apprise (Sultan et al., 2010), tandis que les neurones de plus de 30 jours voient leur survie réduite (Mandairon et al., 2006e; Mouret et al., 2008). De plus, les néoneurones sont sollicités au moment du rappel de la tâche, tant que l'animal montre de bonnes performances de rétention de la tâche (Sultan et al., 2010). Ces données suggèrent fortement que les nouveaux neurones contribuent aux réseaux qui soutiennent la mémoire à long terme de l'association odeur/récompense.

2.4.2. Blocage de la neurogenèse et perception olfactive

Pour étudier plus directement le rôle des néo-neurones dans la perception olfactive, plusieurs études ont testé l'effet d'un blocage de la neurogenèse sur la fonction olfactive.

Un traitement de la ZSV par la cytosine arabinoside (AraC), un antimétabolite qui permet de bloquer l'apport en nouveaux neurones bulbaire pendant l'apprentissage associatif, produit une altération de la rétention à long terme de la tâche associative, sans altération de son acquisition (Sultan et al., 2010). Des résultats allant dans le même sens ont été obtenus après réduction de la neurogenèse par irradiation (Lazarini et al., 2009). Une approche transgénique récemment développée permet d'induire la mort des cellules souches chez la souris (Imayoshi et al., 2008). Contrairement aux résultats obtenus après antimétabolite ou irradiation, la suppression définitive de la neurogenèse dans ce modèle n'induit aucun déficit olfactif de discrimination, d'association ou de rétention. La mise en place de mécanismes compensatoires à long terme permettant le rétablissement d'une perception olfactive proche de la normale ne peut pas être exclue dans ce modèle. Enfin, une dernière étude ne reporte aucun effet du blocage par AraC de la neurogenèse sur la discrimination ou la mémoire olfactive à long terme, mais seulement sur la mémoire de reconnaissance à court terme (Breton-Provencher et al., 2009). Ces contradictions pourraient s'expliquer par des différences

dans les modalités des tests comportementaux dans le mode de suppression de la neurogenèse.

Dans un modèle transgénique de souris déficientes pour la NCAM, la neurogenèse est diminuée de 40% par défaut de migration des neuroblastes. Dans ce modèle, des altérations de performances de discrimination sont observées, sans qu'il n'y ait de troubles de mémoire de reconnaissance (Gheusi et al., 2000). En accord avec ces données, le blocage de la neurogenèse pendant l'apprentissage perceptif (enrichissement par paires d'odeurs proches) bloque l'amélioration de la discrimination, indiquant que les nouveaux neurones bulbaires sont responsables de l'amélioration des performances de discrimination lors de l'apprentissage olfactif perceptif (Moreno et al., 2009).

Le rôle des nouveaux neurones n'est donc pour le moment pas complètement établi. Ceux-ci pourraient intervenir dans la rétention de certaines tâches associatives, dans l'acquisition de l'apprentissage perceptif, dans la discrimination spontanée fine et la rétention olfactive à court-terme.

En résumé de cette première partie, nous pouvons conclure que le bulbe olfactif est une structure corticale relativement simple qui bénéficie d'une très grande plasticité en lien avec l'expérience sensorielle et la mise en mémoire de l'information olfactive, contrôlée par les systèmes neuromodulateurs. Ces éléments font du bulbe olfactif un modèle très intéressant pour l'étude des bases cellulaires et moléculaires de la perception. Nous avons choisi d'utiliser ce modèle pour étudier les altérations perceptives et certaines de ses bases cellulaires au cours du vieillissement normal ou pathologique. L'importance vitale du système olfactif chez les rongeurs, ainsi que les grandes similitudes dans son organisation et son fonctionnement avec le système olfactif chez l'homme, en font un modèle d'autant plus pertinent pour accéder aux mécanismes cellulaires et moléculaires des troubles liés au vieillissement.

Très proluxe sur les troubles olfactifs liés au vieillissement chez l'homme, la littérature reste très pauvre en ce qui concerne les mécanismes cellulaires sous-tendant le vieillissement olfactif, faute d'études expérimentales. Dans la suite de cette introduction, nous dressons un bilan des données disponibles chez l'homme en matière de vieillissement olfactif et les mettons en relation avec celles disponibles chez l'animal.

II. Vieillesse normale du système olfactif

1. Chez l'homme

1.1. Altérations fonctionnelles

Les troubles de l'olfaction liés à l'âge affectent les personnes atteintes de maladies neurodégénératives (voir chapitre IV) mais également les personnes âgées saines. Plus de 75% de la population de plus de 80 ans présente des signes d'altérations olfactives majeures (Boyce and Shone, 2006), dont environ 5 % d'anosmie (Landis et al., 2004) même si bien souvent, les sujets ne sont pas conscients de leurs troubles. Les troubles des sens chimiques altèrent le goût des aliments et la prise alimentaire (Hummel and Nordin, 2005), les statuts nutritionnels et immunitaires et peuvent conduire à une perte de poids. De plus, les altérations des sens chimiques placent les personnes âgées dans des situations à risque au vu de la difficulté à détecter des produits toxiques, avariés ou des fumées en cas d'incendie (Schiffman, 1997). Enfin, ces altérations peuvent entraîner des troubles de l'humeur, des syndromes dépressifs et peuvent conduire à un isolement social et à des troubles de l'hygiène. Les pertes sensorielles liées à l'âge altèrent donc la santé, l'autonomie et la qualité de vie en général.

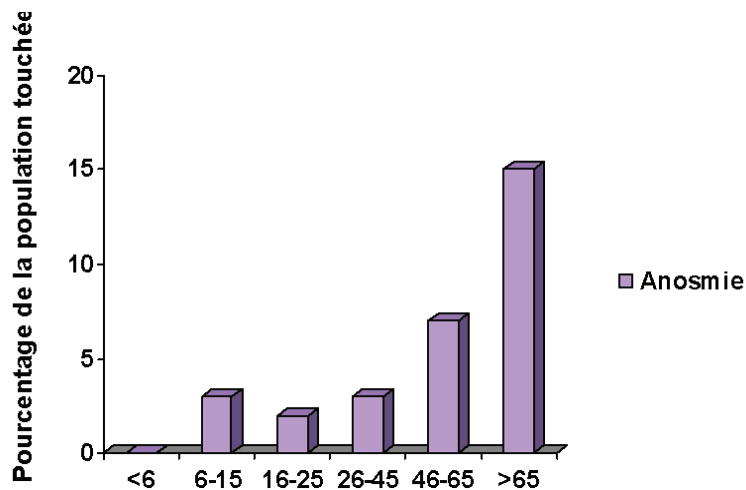


Figure 12 : Fréquence de l'anosmie au cours du vieillissement. D'après (Landis et al., 2004).

Plus précisément, les déficits olfactifs liés à l'âge chez l'homme peuvent concerner les capacités de détection, d'identification, de mémoire et de discrimination, ainsi que les jugements hédonique, d'intensité, de familiarité, ou encore de comestibilité des odeurs.

1.1.1. Performances de détection

Le seuil de détection d'odeur est la concentration d'odorant la plus faible qui permet la perception de l'odeur. Une étude à échelle nationale aux USA montre que pour les odeurs d'acétate d'isoamyl, d'eugénol et de rose, l'augmentation de seuil apparaît vers 60 ans et s'accélère à 80 ans (Wysocki and Gilbert, 1989). Le seuil de détection augmenterait d'un facteur 2 tous les 10 ans entre 20 et 70 ans (Amoore et al., 1968). L'augmentation de seuil est observée pour les odeurs alimentaires (Schiffman et al., 1976), non alimentaires (Stevens and Cain, 1987; Kaneda et al., 2000; Hummel and Welge-Luessen, 2006) et pour les odeurs à caractère dangereux (ethyl mercaptan, odeur de gaz) (Stevens et al., 1982; Stevens et al., 1987). L'âge diminue également l'intensité perçue des odeurs en concentration supraliminaire (Stevens et al., 1982). La sévérité des altérations dépend de la qualité de l'odorant (Wysocki and Gilbert, 1989), et montre une grande variabilité inter-individuelle (Stevens et al., 1987; Stevens and Cain, 1987).

1.1.2. Performances de discrimination

Les tests de discrimination mesurent la capacité à différencier des odorants en présentant successivement mais sans délai deux odeurs et en demandant au sujet si elles sont identiques ou non. La sensibilité du test peut varier suivant le choix des odorants, deux odorants très proches sur le plan perceptuel conduisant à une tâche de discrimination plus difficile. La littérature montre une dégradation des performances de discrimination pour des odeurs alimentaires ou non alimentaires, le déficit étant plus marqué chez les sujets âgés (plus de 60 ans) quand la tâche de discrimination est plus difficile (Schiffman and Pasternak, 1979; Kaneda et al., 2000; Hummel and Welge-Luessen, 2006). De manière intéressante, les performances de discrimination chez l'homme sont meilleures chez le jeune adulte (16 et 25 ans) que chez l'enfant (moins de 16 ans) suggérant un processus de maturation, lié ou non à l'expérience. Puis ces performances diminuent légèrement jusqu'à 55 ans, puis décroissent très sévèrement au-delà (Hummel and Welge-Luessen, 2006) (Figure 15).

1.1.3. Performances d'identification

Le test UPSIT (University of Pennsylvania Smell Identification Test) test américain le plus fréquemment utilisé, consiste à demander aux sujets d'identifier des odeurs à l'aide d'indices (Doty et al., 1984). Ce test a permis de montrer que les performances maximales d'identification sont observées entre 20 et 40 ans, puis elles diminuent significativement à partir de 60 ans. Des différences liées au sexe sont également observées, les femmes montrant de meilleures performances que les hommes. L'ensemble de ces résultats est confirmé par de nombreuses études même si le déclin des performances semble dépendre de l'odorant. Pour certaines odeurs déplaisantes, ce déficit d'identification n'apparaît pas (Konstantinidis et al., 2006).

Lorsque les odeurs sont présentées à plusieurs reprises et de manière indicée (accompagnée d'une liste d'items verbaux), les sujets âgés peuvent atteindre des performances similaires à celles des jeunes (Schemper et al., 1981; Peters et al., 2003; Larsson et al., 2004). De ce fait, les auteurs attribuent les déficits observés dans la tâche d'identification non indicée à des altérations des processus cognitifs globaux (accès sémantique et récupération de données), plus qu'à un déficit strictement olfactif.

Il n'est pas exclu que la baisse de sensibilité interfère avec les performances d'identification même si les tests d'identification sont proposés à des intensités supraliminaire. En effet, l'utilisation d'intensités élevées dans ces tests conduit à de meilleures performances chez les sujets âgés (Stevens et al., 1990).

1.1.4. Performances en mémoire de reconnaissance

La tâche de reconnaissance d'odeur permet d'évaluer le temps de rétention d'une odeur. Il s'effectue en deux étapes : la présentation d'un lot d'odorants lors d'une première phase d'acquisition, puis après un délai, la présentation au sujet d'un nouveau lot d'odorants comprenant des odeurs déjà senties dans la phase d'acquisition et des odeurs nouvelles. Le sujet doit alors reconnaître les odeurs déjà senties au cours de l'acquisition.

Dans la version la plus courante de ce test, on demande au sujet lors du rappel de nommer l'odeur déjà sentie. Une diminution des performances au cours du vieillissement est observée (Murphy et al., 1991). Cette tâche de reconnaissance d'odeur sollicite donc en plus de la mémoire olfactive épisodique, une mémoire sémantique, puisqu'une identification verbale de l'odeur est demandée. La part respective de ces différentes formes de mémoire dans les altérations observées semble floue. Certains travaux ont tenté d'apporter des éléments de réponse (Murphy et al., 1997; Larsson and Backman, 1998). Ces auteurs ont testé la rétention (immédiate ou après 48h) d'une série d'odeurs associées ou non à des descripteurs verbaux

et ont comparé les performances de rétention de ces odeurs avec celle d'une liste de mots. De moins bonnes performances de rappel sont observées chez les sujets âgés pour les odeurs et pour les mots mais l'altération est plus marquée pour les odeurs (Murphy et al., 1997). Par ailleurs, l'association à l'odeur de son descripteur au moment de l'acquisition permet d'augmenter les performances chez le sujet jeune mais surtout chez le sujet âgé, ce qui suggère des difficultés d'accès à la mémoire sémantique liées à l'âge (Larsson and Backman, 1998). Un autre paradigme plus simple, consistant cette fois-ci à désigner sans identification les odeurs présentées lors de l'acquisition 10, 30 ou 60 secondes plus tôt rapporte un déclin des performances entre 40 et 70 ans pour tous les délais testés (Choudhury et al., 2003). Ce résultat peut être plus facilement interprété en termes de déficit de mémoire à court terme de l'odeur. Les déficits d'identification observés avec l'âge pourraient donc résulter d'une double altération des capacités cognitives sémantiques et de mémoire sensorielle olfactive.

En conclusion des études portant sur le vieillissement de la perception olfactive chez l'homme, nous pouvons dire que le vieillissement altère la sensibilité à l'odeur, les capacités de discrimination et la mémoire olfactive.

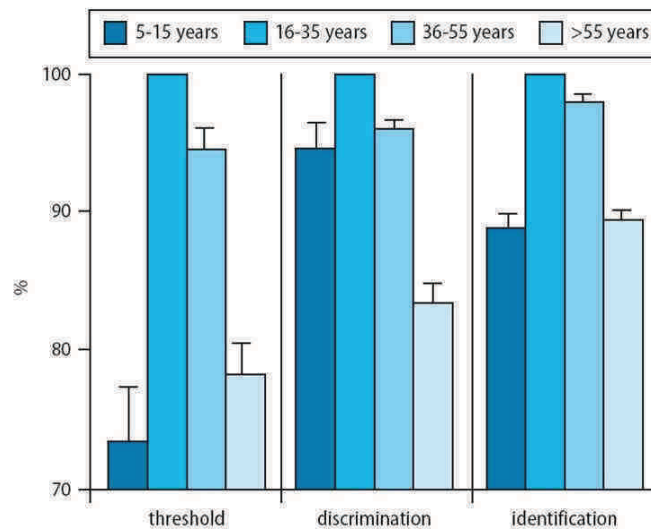


Figure 13 : Performances de détection, de discrimination et d'identification au cours du vieillissement. Les données sont exprimées sous forme de pourcentage en référence aux performances obtenues entre 16 et 35 ans. Les performances de détection, de discrimination et d'identification suivent le même décours temporel: elles sont faibles entre 5 et 15 ans, atteignent leur maximum entre 16 et 35 ans, puis diminuent légèrement jusqu'à 55 ans, et enfin, sont fortement altérées après 55 ans. D'après (Hummel et al., 2007; Steinbach et al., 2008).

1.2. Altérations structurales

Dans l'épithélium olfactif, des îlots d'épithélium respiratoire apparaissent avec l'âge à la place de l'épithélium olfactif (Paik et al., 1992). La cytoarchitecture du BO est conservée, mais celui-ci semble atrophié, avec une réduction de l'épaisseur des différentes couches bulbaires (Bhatnagar et al., 1987; Meisami et al., 1998; Kovacs, 2004).

Au niveau cellulaire, une diminution du nombre et de la taille des glomérules et une atrophie de la couche des cellules mitrales dont le nombre passerait de 60000 à 25 ans à 14500 cellules à 95 ans ont été décrites (Bhatnagar et al., 1987; Meisami et al., 1998). Ces pertes massives dans le BO semblent exceptionnelles par rapport à celles, très limitées, qui surviennent dans les autres régions cérébrales (Dickstein et al., 2007). Un réexamen de cette question à l'aide de techniques morphométriques améliorées serait sans doute nécessaire, mais aucune étude récente n'a exploré ces aspects anatomiques chez l'homme. Des dégénérescences fibrillaires identiques à celles que l'on trouve associées à la MA, apparaissent au cours du vieillissement normal dans le noyau antérieur olfactif et le cortex entorhinal ainsi que dans l'hippocampe et l'amygdale (Price et al., 1991). Toutefois, ces lésions n'atteignent pas la profondeur des signes histo-pathologiques trouvés dans la MA.

1.3. Corrélations entre aspects fonctionnels et structuraux

Les altérations des structures olfactives (épithélium et bulbe) pourraient sous-tendre une partie des pertes de sensibilité et de discrimination observées lors de tests psychophysiques chez les sujets âgés. Toutefois, les décours temporels des déficits olfactifs mesurés et des altérations structurales ne sont pas parallèles. Chez l'homme, des pertes cellulaires sont décrites dès l'âge de 40-60 ans, tandis que le déclin des performances olfactives est surtout marqué après 70 ans (Kovacs, 2004; Hummel et al., 2007). Le système posséderait la capacité de compenser les altérations structurales et/ou les tests perceptuels utilisés ne sont peut être pas suffisamment sensibles pour détecter l'étendue du déclin de la fonction olfactive à âge moyen. De plus, le manque de données structurales récentes et l'absence d'études corrélatives à différents âges permettant de relier les performances olfactives et des observations structurales rendent difficile l'établissement d'un lien entre aspects fonctionnels et structuraux.

L'imagerie cérébrale et les potentiels évoqués olfactifs (PEO) (Figure 14) permettent d'accéder plus facilement aux bases physiologiques des altérations olfactives liées à l'âge chez l'homme. Les PEO sont des enregistrements électro-encéphalographiques d'une réponse évoquée par un stimulus olfactif, dont la résolution temporelle est très élevée, mais la

résolution spatiale limitée. Les études en PEO ont montré que chez les sujets âgés, les ondes N1 et P2 qui reflètent le traitement sensoriel du stimulus, présentent des latences plus longues et des amplitudes plus petites que chez les sujets jeunes (Hummel and Kobal, 1992; Murphy et al., 1994; Evans et al., 1995; Morgan et al., 1997; Murphy et al., 1998; Covington et al., 1999; Murphy et al., 2000). La diminution de l'amplitude de N1 et P2 se corrèle avec l'élévation des seuils olfactifs mesurés par des méthodes psychophysiques (Murphy et al., 1994) et les scores d'identification d'odeur corrént avec l'allongement de la latence de P2 (Evans et al., 1995), suggérant un retard du rappel de l'information mnésique associée à l'odeur. Une réduction de l'amplitude et un allongement de latence de l'onde P3 ont été aussi rapportés (Murphy et al., 1998; Geisler et al., 1999; Morgan et al., 1999; Nordin et al., 1999; Murphy et al., 2000). L'onde P3 est une onde observée dans diverses modalités sensorielles qui reflète la mobilisation des ressources utilisées pour le traitement cognitif d'un stimulus.

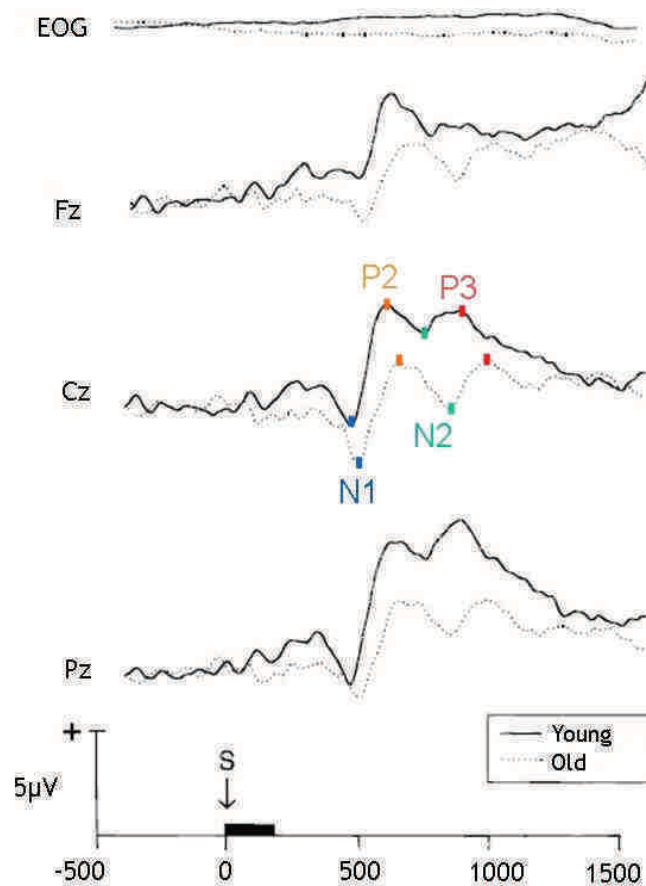


Figure 14 : Potentiels évoqués olfactifs. Exprimés sous forme de grande moyenne des réponses évoquées olfactives pour chaque site d'enregistrement suivant l'âge. Le zéro de l'échelle des abscisses correspond à la stimulation olfactive. La réponse des sujets âgés se caractérise par un retard des ondes N1, P2, N2 et P3, ainsi qu'une diminution de leur amplitude. D'après (Morgan et al., 1999).

D'autres études se sont intéressées à l'évolution avec l'âge des rythmes cérébraux en EEG lors de tâches olfactives. Au cours du vieillissement, on observe une diminution de la

puissance relative de la bande α lors de tâches de détection et d'identification ainsi qu'une augmentation de la puissance relative de la bande β dans les lobes frontaux et temporaux, suggérant une désynchronisation des activités corticales (Kemp et al., 2001). En IRMf ou TEP, techniques qui offrent à l'inverse de l'EEG une bonne résolution spatiale mais une résolution temporelle plutôt médiocre, les sujets âgés présentent des activations dans des régions identiques aux jeunes, mais celles-ci sont atténuées dans de nombreuses régions directement impliquées dans le processus perceptif olfactif : amygdale, cortex piriforme, cortex entorhinal et orbitofrontal (Yousem et al., 1999; Cerf-Ducastel and Murphy, 2003; Kareken et al., 2003; Murphy et al., 2003; Wang et al., 2005).

1.4. Systèmes neuromodulateurs

Au cours du vieillissement, le LC présente des dégénérescences neurofibrillaires dans une moindre mesure par rapport au vieillissement pathologique, qui pourraient interférer avec son fonctionnement normal (Tomonaga, 1981; Grudzien et al., 2007).

Certaines études histologiques décrivent une perte de neurones noradrénergiques (Vijayashankar and Brody, 1979; Chan-Palay and Asan, 1989; Manaye et al., 1995; Marien et al., 2004), essentiellement dans la partie rostrale du LC, tandis que d'autres ne mettent en évidence aucune altération avec l'âge du LC (Mouton et al., 1994; Ohm et al., 1997). Plus récemment, une étude en imagerie TEP a révélé une diminution de la liaison d'un ligand du transporteur de la noradrénaline (NET) chez le sujet âgé, suggérant une diminution de l'activité noradrénergique (Ding et al., 2010).

Concernant les récepteurs noradrénergiques, les quelques études disponibles semblent contradictoires. Une diminution de la liaison aux récepteurs α_2 dans le cortex a été rapportée (Sastre and Garcia-Sevilla, 1994), alors qu'un autre travail décrit l'absence de modification des récepteurs noradrénergiques (Scarpace et al., 1991). Chez le primate, une diminution de densité des récepteurs α_1 et α_2 adrénergiques est décrite au niveau cortical sans modification de leur affinité (Bigham and Lidow, 1995; Moore et al., 2005).

Les systèmes cholinergique et sérotoninergique subissent également des altérations au cours du vieillissement chez l'homme. Le nombre de neurones cholinergiques décroît (Ransmayr et al., 2000) ainsi que la densité de récepteurs muscariniques et l'activité de la choline acétyltransférase (ChAT), l'enzyme qui catalyse la synthèse de l'ACh, suggérant une hypofonction du système (Schliebs and Arendt, 2006). Enfin, on observe également au cours du vieillissement, une perte de récepteurs sérotoninergiques (Lawlor et al., 1989).

2. Chez le rongeur

La littérature actuelle concernant les déficits olfactifs chez les animaux au cours du vieillissement est très succincte et regroupe des données obtenues dans des paradigmes comportementaux différents et donc difficilement comparables les uns aux autres.

2.1. Altérations fonctionnelles

2.1.1. Détection

La détection est évaluée le plus souvent grâce à un test de choix entre une odeur et de l'air non odorisé, après un conditionnement au cours duquel l'odeur est renforcée par une récompense alimentaire ou hydrique. La majorité des études montrent une augmentation significative des seuils de détection avec l'âge, d'un facteur 10 chez le rat (Kraemer and Apfelbach, 2004) et la souris (Patel and Larson, 2009) entre 2-3 et 25 mois. Cependant, les animaux ne sont pas anosmiques car ils restent capables de détecter une odeur à concentration supraliminaire.

2.1.2. Discrimination et apprentissage associatif

La discrimination a toujours été évaluée chez le rongeur âgé dans le contexte d'un conditionnement au cours duquel l'animal doit apprendre à associer une odeur à une récompense alors qu'une autre odeur (ou de l'air non odorisé) n'est jamais renforcée. Ce type de test nécessite que l'animal apprenne et retienne l'association odeur/récompense d'une part, et d'autre part, discrimine les deux odeurs proposées. Certaines études révèlent des déficits d'acquisition de la tâche ((Roman et al., 1996; LaSarge et al., 2007), rat Fisher (Dardou et al., 2008), rat Sprague Dawley (Patel and Larson, 2009), souris C57bl6) malgré une grande variabilité inter individuelle (Roman et al., 1996; LaSarge et al., 2007). D'autres études ont décrit un déficit seulement lors d'une réversion de consigne (Schoenbaum et al., 2002; Brushfield et al., 2008) (rats Long Evans). Ces résultats sont difficiles à interpréter car ils pourraient résulter d'un déficit dans la capacité à discriminer les stimuli ou d'un déficit dans la capacité de l'animal à associer l'odeur à sa récompense.

Une seule étude a évalué plus spécifiquement les performances de discrimination chez la souris âgée (Enwere et al., 2004). Dans cette étude, un test de discrimination est effectué

après le conditionnement. Un déficit de discrimination est observé lorsque les odeurs sont proches sur le plan perceptuel et que la discrimination est donc difficile, suggérant une altération de la discrimination fine. Là encore cependant, une différence dans la force de l'apprentissage initial pourrait interférer avec les performances au moment du test de discrimination. Enfin, dans un test de généralisation (conditionnement odeur-récompense puis présentation lors du test d'odeurs plus ou moins proches de l'odeur conditionnée), les souris âgées généralisent plus leurs réponses suggérant qu'elles discriminent moins bien (Mandairon et al., 2010).

La rétention à long-terme (72 heures) du conditionnement olfactif est altérée pour certains auteurs (Dardou et al., 2008) alors que d'autres n'observent aucun déficit de rétention après deux semaines chez des animaux du même âge (Patel and Larson, 2009).

On peut noter que le vieillissement de la fonction olfactive a fait globalement l'objet de très peu de travaux chez l'animal et que de plus, les tests utilisés ne sont pas parfaitement adaptés à la mesure spécifique des troubles de discrimination et de mémoire.

2.2. Altérations structurales

2.2.1. Altérations périphériques

Vers l'âge de 18 mois chez le rat on observe une réduction importante de l'épaisseur de l'épithélium olfactif (Weiler and Farbman, 1997; Rosli et al., 1999; Kwon et al., 2005), avec une diminution de la densité des neurones sensoriels (Hinds and McNelly, 1977) et de l'épaisseur de la couche des nerfs dans le BO (Rosli et al., 1999). Chez les souris SAMP1 caractérisées par un vieillissement accéléré, on observe aussi une réduction de l'épaisseur de l'épithélium olfactif (Nakayasu et al., 2000) (Figure 15).

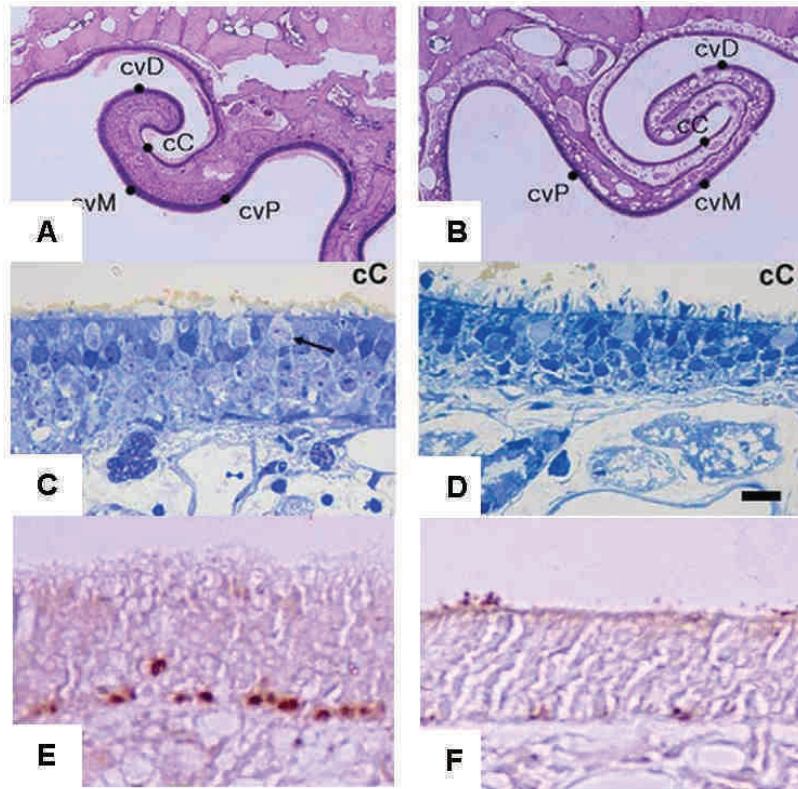


Figure 15 : Muqueuse olfactive de rat jeune (3 mois, A, C E) et âgé (25 mois, B, D, F). A, B: Marquage à l'hématoxyline et à l'éosine. C, D: marquage à la toluidine. E,F: marquage PCNA des cellules en cours de prolifération. D'après (Kwon et al., 2005).

La diminution du nombre de neurones sensoriels résulterait d'une mort neuronale accrue (Rosli et al., 1999; Conley et al., 2003; Kern et al., 2004) et d'une altération de leur capacité à se renouveler (diminution du pouvoir mitotique des cellules basales) (Loo et al., 1996; Weiler and Farbman, 1997). La partie antérieure de l'épithélium montre plus de dommages que sa partie postérieure suggérant que l'exposition à l'environnement externe contribuerait à la perte neuronale, qui serait moins compensée par la neurogenèse avec l'âge. Cette idée est renforcée par le fait que dans des conditions protectrices (air pur), l'épithélium est relativement peu abimé au cours du vieillissement (Loo et al., 1996). Compte tenu de la diminution du nombre de neurones, certains récepteurs aux odeurs sont moins exprimés chez les individus âgés, mais curieusement, certains restent exprimés à un niveau comparable à celui des jeunes (Lee et al., 2009). Dans tous les cas, à l'échelle individuelle, les neurones montrent une sensibilité à l'odorant identique à celle des animaux jeunes (Lee et al., 2009). En accord avec la diminution du nombre de neurones sensoriels, l'amplitude des réponses aux odeurs enregistrée par électro-olfactogramme (EOG) décroît avec l'âge (Gladysheva and Troitskaia, 1989; Nakayasu et al., 2000).

Ces données pourraient rendre compte de l'élévation des seuils olfactifs au cours du vieillissement. Cependant, en dépit des altérations périphériques, les odorants demeurent

capables d'activer les neurones sensoriels et les altérations de mémoire et/ou de discrimination dues à l'âge impliquent probablement des mécanismes plus centraux.

2.2.2. Altérations des structures olfactives centrales

La littérature récente s'accorde sur le fait que les pertes neuronales observées au cours du vieillissement cérébral ne sont pas généralisées, mais se limitent à des régions ou des types cellulaires ou même des groupes de synapses spécifiques (Burke and Barnes, 2006; Dickstein et al., 2007). Concernant le système olfactif, l'essentiel des données disponibles porte sur le BO.

Chez le rat et la souris C57Bl6, des données anciennes rapportent une augmentation du volume du BO au cours du vieillissement, suivie d'une atrophie assez généralisée apparaissant très tard, lorsque l'animal atteint l'âge de 24 mois (Hinds and McNelly, 1977, 1981; Mirich et al., 2002). La sévérité des altérations observées varie suivant la lignée de rongeurs étudiée. Les altérations relevées chez les rats Fischer 344 (Baker et al., 1995) s'avèrent moins sévères que celles observées chez les Sprague-Dawley (Hinds and McNelly, 1977, 1981). Chez les souris, des différences inter-lignées sont également observées: le volume du BO augmente chez les C57Bl6 et les DBA/2 entre 2 et 24 mois, mais pas chez les Balb/C (Mirich et al., 2002). Toutefois, une étude plus récente ne révèle aucun changement de volume des couches du BO au cours du vieillissement chez la souris C57Bl/J (Richard et al., 2010). Ces données obtenues entre 2 et 24 mois n'excluent pas de possibles variations du volume à un âge plus avancé.

A l'échelle cellulaire, certains auteurs décrivent une augmentation du nombre d'interneurones périglomérulaires au cours du vieillissement (Altman, 1969; Bayer, 1983; Alvarez-Buylla and Lois, 1995), tandis que des données récentes indiquent une stabilité de la densité de cellules périglomérulaires, granulaires et mitrales entre 2 et 24 mois, chaque population étant reconnue par des marqueurs spécifiques (Richard et al., 2010). L'observation d'une stabilité des projections des neurones sensoriels vers les glomérules (pas de variation du volume, du nombre de glomérules et de leur position) (Richard et al., 2010), contredit également l'idée d'une perte massive de neurones sensoriels au cours du vieillissement. Toutefois, une réduction de densité synaptique est observée dans les glomérules, qui pourrait refléter les pertes périphériques et conduire à un déséquilibre du traitement de l'information olfactive par le réseau bulbaire au cours du vieillissement (Richard et al., 2010).

2.3. Altérations neurogéniques bulbares

Relativement peu d'études à ce jour se sont intéressées aux effets de l'âge sur les processus neurogéniques olfactifs.

Lors du vieillissement, l'épaisseur de la ZSV est réduite, les clusters de neuroblastes sont plus clairsemés le long de l'axe antéropostérieur (Luo et al., 2006) et le taux de prolifération des progéniteurs dans la ZSV décroît fortement chez la souris entre 2 et 22-25 mois (Tropepe et al., 1997; Jin et al., 2003; Maslov et al., 2004). Cette décroissance apparaît relativement tôt puisque Luo et al (2006) observent déjà un déclin de prolifération entre 2 et 10 mois. Cette diminution de prolifération serait due à un allongement de la durée du cycle cellulaire. Une diminution du nombre de progéniteurs contribue aussi certainement à la baisse du taux de prolifération car une augmentation de la mort cellulaire est observée dans la ZSV (Tropepe et al., 1997; Luo et al., 2006). Le nombre de nouveaux neurones dans le BO est diminué chez la souris (Tropepe et al., 1997; Enwere et al., 2004). La diminution de prolifération contribue certainement à cette baisse du nombre de neurones néoformés dans le bulbe mais de possibles altérations d'intégration et de survie des nouveaux neurones dans le réseau bulbaire âgé n'ont pas été étudiées.

2.4. Atteintes des systèmes neuromodulateurs

Sur la base de la relative conservation des corps cellulaires dans le cerveau âgé et de l'observation de la perte préférentielle des éléments présynaptiques comme par exemple les éléments cholinergiques dans le cortex chez le rat âgé (Strong et al., 1980; Pepeu, 1988; Casu et al., 2002), il a été suggéré que les neurones des systèmes neuromodulateurs pourraient être particulièrement sensibles au vieillissement. Allant dans ce sens, une étude assez complète menée chez le rat rapporte une diminution marquée des taux de dopamine, de sérotonine et de NA dans le cortex cérébral (Lee et al., 2001). Des résultats similaires ont été obtenus chez des rats Sprague-Dawley dans l'hippocampe et le striatum (Esteban et al., 2010) et chez la souris SAMP8 dans le cortex et l'hippocampe (He et al., 2010). Des données spécifiques à chaque système neuromodulateur sont décrites plus en détails ci-dessous.

2.4.1. Atteintes du système noradrénergique

Des données anatomiques et électrophysiologiques (Ishida et al., 2001b; Allard et al., 2010) suggèrent que les projections noradrénergiques sur le cortex frontal se réduisent avec l'âge. Cependant, des mécanismes compensatoires de sprouting (développement dendritique) sont présents et s'accroissent après 15 mois chez le rat (Ishida et al., 2000). Ces mécanismes pourraient suffire à maintenir un niveau de NA stable dans le cortex frontal de rats âgés (25 mois) (Ishida et al., 2001a) et expliqueraient l'augmentation de l'expression de l'ARNm de la tyrosine hydroxylase (TH) observée dans le LC (Shores et al., 1999). Cependant, les conséquences du sprouting sur le taux de NA libérée restent difficiles à évaluer. En effet, la libération de NA dans le cortex frontal médiée par les autorécepteurs noradrénergiques $\alpha 2$ semble inchangée au cours du vieillissement, tandis que la recapture de la NA décline au cours du vieillissement (Shirokawa et al., 2003).

Les récepteurs adrénergiques sont eux aussi soumis à des modifications au cours du vieillissement. Il semblerait que les récepteurs $\alpha 1$ (Viticchi et al., 1989; Viticchi et al., 1994) et $\alpha 2$ adrénergiques (Hamilton et al., 1984; Qi and Nomura, 1988; Gelbmann and Muller, 1990; Kalaria and Andorn, 1991; Haapalinna et al., 2000) subissent une diminution de densité au niveau cortical. Les données concernant les récepteurs β sont plus variables. Certaines études décrivent une diminution de leur densité corticale (De Blasi et al., 1982; Viticchi et al., 1989; Scarpace et al., 1991; Viticchi et al., 1994), tandis que d'autres ne rapportent aucun changement (Maggi et al., 1979; Pittman et al., 1980; Miller and Zahniser, 1988).

La littérature s'accorde mieux sur les altérations des mécanismes d'autorégulation des récepteurs noradrénergiques : la régulation à la baisse des récepteurs β reste intacte, tandis que la régulation à la hausse n'a plus lieu lors respectivement de la stimulation ou du blocage de la transmission noradrénergique (Greenberg and Weiss, 1979; Zaia et al., 1992). De même, l'autorégulation des récepteurs $\alpha 2$ diminue au cours du vieillissement (Daly et al., 1989; Haapalinna et al., 2000). Ces données vont dans le sens d'une altération de la régulation de la synthèse ou du trafic de ces récepteurs et donc d'une moindre réactivité et plasticité de ce système.

En conclusion, au cours du vieillissement, les atteintes noradrénergiques diffèrent selon la région cible de mêmes neurones noradrénergiques. De plus, il apparaît que les neurones du LC gardent une forte capacité de remodelage de leurs terminaisons axonales à un âge avancé alors que la régulation de l'expression des récepteurs semble moins bonne. Enfin, on peut noter que l'effet du vieillissement sur les projections et la fonction noradrénergiques dans le BO est inconnu.

2.4.2. Atteintes des autres systèmes neuromodulateurs

Une réduction marquée de libération d'ACh du cortex cérébral et de l'hippocampe est observée chez le rat âgé (Gibson et al., 1981; Takei et al., 1989). La densité de récepteurs muscariniques diminue chez le rat (Gurwitz et al., 1987). De plus, des études morphologiques et biochimiques ont mis en évidence une atrophie des neurones cholinergiques du télencéphale basal et un rétrécissement de leurs projections (Mesulam et al., 1987; Rylett and Williams, 1994) avec perte de boutons cholinergiques dans le cortex pariétal (Casu et al., 2002).

Le système sérotoninergique est également touché au cours du vieillissement. Les dosages de la 5-HT et de ses métabolites par HPLC révèlent une réduction importante dans l'hippocampe, le cortex et le striatum ainsi qu'un sprouting des projections (Nakai et al., 2006; Esteban et al., 2010; He et al., 2010). Les mécanismes de sprouting des projections sérotoninergiques sont fortement dépendants du système noradrénergique. En effet, la destruction du LC par traitement au DSP4 conduit à une altération du sprouting des axones sérotoninergiques (Nakai et al., 2006). Cette dépendance pourrait passer par l'action positive du BDNF (Mamounas et al., 2000) qui pourrait être synthétisé notamment par les neurones du LC et libéré par les terminaisons noradrénergiques (Thoenen, 1995; Fawcett et al., 1997; Fawcett et al., 1998).

III. La maladie d'Alzheimer

1. Historique

Décrite pour la première fois par Aloïs Alzheimer en 1907 (Alzheimer, 1907), la MA est une maladie neurodégénérative dont le principal facteur de risque est l'âge. C'est une démence qui conduit à une perte progressive et irréversible des fonctions mentales et notamment cognitives et mnésiques (Pour un historique complet, voir (Maurer et al., 1997)).

Le premier cas de MA a été décrit par Alzheimer qui avait observé chez une patiente de 51 ans une dégradation progressive des facultés cognitives avec perte du sens de l'orientation, aphasie, hallucinations auditives, confusion mentale, délires paranoïaques et inaptitude psychosociale. Voici les observations consignées par Alzheimer lors d'un entretien avec sa patiente:

« Elle s'assoit sur son lit, l'air hébété. Quel est votre nom ? Auguste. Votre nom de famille ? Auguste. Quel est le nom de votre mari ? Auguste, je crois. Votre mari ? Ah, mon mari. Elle semble ne pas comprendre la question. Etes-vous mariée ? A Auguste. Madame D. ? Oui, Oui, Auguste D. (...) Quand on lui montre des objets, elle ne se souvient pas, après un court instant, de ce qu'elle a vu. Entre-temps, elle parle continuellement de jumeaux. Quand on lui demande d'écrire, elle tient le livre de telle façon qu'on a l'impression qu'elle a perdu une partie du champ visuel droit » (Alzheimer, 1907).

Dans son article de 1907, Alzheimer décrit pour la première fois la MA comme *« une maladie caractéristique grave du cortex cérébral »* observée chez sa patiente Auguste D. *« Parmi les premiers symptômes de sa maladie »,* la patiente présentait *« des signes de dégradation importante de la mémoire; elle était désorientée, elle déplaçait les objets n'importe où dans son appartement et les cachait. Parfois elle avait l'impression que quelqu'un cherchait à la tuer, ce qui la faisait hurler. (...) Elle mourut après quatre ans et demi de maladie. A la fin, la patiente était incontinente et allongée dans une position fœtale complètement pathétique ».*

Post mortem, Alzheimer étudie le cerveau de sa patiente. Il y observe *« une atrophie cérébrale sans dégénération focale macroscopique »*. Au niveau cellulaire, il observe : *« Au centre d'une cellule apparemment normale se dressent une ou plusieurs fibrilles caractérisées par leur épaisseur et leur imprégnabilité particulière (à un colorant argenté)»* (fibrilles appelées maintenant dégénérescences neurofibrillaires). Il continue en décrivant ce que l'on désigne maintenant comme les plaques amyloïdes ou plaques séniles: *« De nombreux et petits foyers miliaires se trouvent dans les couches supérieures. Ils sont caractérisés par l'accumulation d'une substance particulière dans le cortex ».*

Au cours de ses observations, Alzheimer a identifié les deux principaux signes histologiques de la maladie : les plaques séniles, dépôts extracellulaires dont on sait aujourd'hui qu'ils sont constitués de l'accumulation du peptide β amyloïde (Glenner and Wong, 1984; Glenner et al., 1984) ainsi que les « neurones en flammes » ou dégénérescences neurofibrillaires dues à des dépôts intra-neuronaux constitués de l'agrégation de la protéine Tau hyper-phosphorylée (Ballatore et al., 2007).

La description des troubles cognitifs et des signes histo-pathologiques de la maladie faite par Alzheimer était d'une grande précision et reste valide aujourd'hui.

2. La maladie aujourd'hui

La MA est la démence la plus fréquente chez les sujets âgés. Aujourd'hui, avec le vieillissement global de la population, elle touche 35 millions de personnes dans le monde (*Alzheimer disease International, UK*). Les études démographiques indiquent que la population âgée de plus de 65 ans constitue à l'heure actuelle 17,1% de la population totale européenne et en constituera plus de 30% en 2060 (Office statistique des communautés européennes Eurostat). Face à cet allongement de la durée de vie, la prise en charge et le traitement des pathologies liées à l'âge et singulièrement de la MA, apparaissent comme de lourds défis humains et financiers à relever.

Les premiers signes cognitifs de la maladie sont des troubles légers de mémoire qui sont souvent confondus avec des troubles apparaissant au cours du vieillissement normal, ou dans d'autres pathologies neurologiques. Le diagnostic précoce de la maladie reste donc difficile. Par ailleurs, les signes cognitifs initiaux apparaîtraient plusieurs années après le début des altérations histo-pathologiques, confirmant que le diagnostic de la maladie se fait de manière plutôt tardive. La vitesse d'évolution de la maladie est variable d'un individu à l'autre mais l'on estime que l'espérance de vie après diagnostic est de 3 à 9 ans selon l'âge au moment du diagnostic et la sévérité des troubles observés. A l'heure actuelle, en dépit de la connaissance accrue des processus pathogènes à l'échelle cellulaire ou moléculaire, il n'existe pas de traitement efficace contre la MA, mais seulement des traitements symptomatiques qui permettent de ralentir la progression de la maladie (pour revue, voir (Querfurth and LaFerla, 2010)).

On distingue la forme sporadique de la forme familiale de la MA. La forme sporadique concerne plus de 90 % des cas. L'âge en est le principal facteur de risque, risque qui double par tranches d'âge de 5 ans au-delà de 65 ans (Mucke, 2009; Querfurth and LaFerla, 2010).

La forme familiale se différencie de la forme sporadique par une atteinte beaucoup plus précoce (avant 60 ans) et est induite par des mutations géniques au niveau des chromosomes 1, 14 ou 21 (Williamson et al., 2009). Toutes ces mutations affectent soit le gène de la protéine précurseur de l'amyloïde (Amyloid precursor protein, APP) soit des gènes contrôlant le clivage de cette protéine. Dans tous les cas, les mutations conduisent à la surproduction à partir de l'APP du peptide β amyloïde, constituant essentiel des plaques séniles. La découverte des formes génétiques de la maladie a fortement contribué à la théorie dite 'amyloïde' de l'origine de la maladie. De plus, ces données génétiques ont permis l'élaboration de modèles animaux de la maladie (voir plus bas).

3. Signes cognitifs

Les troubles cognitifs dans la MA se caractérisent par leur aspect évolutif (Morris and Salmon, 2007). La maladie débute par des pertes légères et fluctuantes, de mémoire épisodique concernant des événements récents, qui s'aggravent progressivement. De tels troubles ne sont pas spécifiques de la MA, pouvant être observés au cours du vieillissement normal ou dans d'autres pathologies neurodégénératives. A ce stade, les personnes atteintes ont recours à des aide-mémoires et à l'aide de leurs proches pour compenser leur déficit. Puis les sujets deviennent incapables d'enregistrer de nouveaux événements, alors que les souvenirs plus anciens sont bien conservés. Ces pertes de mémoire lorsqu'elles deviennent handicapantes conduisent les sujets à consulter. Avec l'évolution de la maladie, des troubles du langage apparaissent (aphasie), de coordination du mouvement (apraxie), ainsi que de reconnaissance (agnosie) d'objets et de visages, et la perte des repères temporels et spatiaux. Les personnes atteintes montrent des difficultés de planification et de jugement (incapacité à gérer l'argent et à planifier des activités quotidiennes) conduisant à la dépendance. L'apprentissage et la rétention d'informations nouvelles s'avèrent toujours plus difficiles, tandis que les souvenirs de jeunesse sont encore préservés.

Apparaissent alors des atteintes comportementales comme de l'agressivité, une agitation, des troubles dépressifs et l'utilisation d'un langage parfois ordurier. Ceci est ensuite accompagné d'hallucinations, de paranoïa, de comportements désinhibés et d'une altération profonde de la personnalité. Les malades sont également sujets à des troubles du sommeil, et négligent leur hygiène corporelle. Les troubles s'étendent ensuite aux fonctions autonomes affectant alors les fonctions vitales et causant le décès (Figure 16).

Ce tableau clinique de la MA peut se présenter de manière très hétérogène au sein de la population. Par exemple, certains patients présentent des troubles mnésiques isolés des années avant le développement d'autres troubles cognitifs, tandis que d'autres présentent préférentiellement des troubles marqués du langage, de la perception ou de la préhension avec des troubles mnésiques très discrets. Certaines de ses hétérogénéités pourraient avoir diverses origines comme l'histoire familiale, l'âge d'apparition des troubles, et la présence ou non de l'allèle ApoE4 de l'apolipoprotéine E, facteur aggravant (Snowden et al., 2007).

Le caractère léger et hautement variable des troubles cognitifs initiaux rend difficile le diagnostic. A l'heure actuelle, il repose sur l'utilisation de tests neuropsychologiques. Le test le plus couramment utilisé est le MMSE (Mini Mental State Examination). L'orientation dans le temps et l'espace, le calcul, l'apprentissage, l'attention, le langage, la mémoire à court terme et la praxie constructive sont évalués dans ce test. Il est standardisé à l'échelle internationale, rapide à faire passer, aussi bien en recherche qu'en clinique. Le score est noté sur 30. On considère la démence légère lorsque le score reste supérieur à 20; entre 20 et 10, la démence est dite modérée et en dessous de 10, sévère. La limite de ce test réside dans le fait que le score au MMSE varie chez le sujet sain selon l'âge et le niveau culturel. Un score inférieur à 24 ne traduit pas systématiquement une atteinte cognitive, mais peut être lié à un niveau culturel faible ou bien à une atteinte psychiatrique autre que la MA. Les résultats sont donc à interpréter avec prudence, mais sont d'une grande utilité lorsqu'ils sont associés à d'autres tests.

L'utilisation d'une batterie de tests neuropsychologiques a permis de définir un stade intermédiaire entre vieillissement normal et pathologique, celui des atteintes cognitives légères (MCI- Mild Cognitive Impairment). Au sein de la population MCI, les individus ont un risque multiplié par 10 de développer une démence de type Alzheimer par rapport au reste de la population de même âge (Petersen et al., 2001). Les tests neuropsychologiques ne permettent donc pas un diagnostic précoce complètement spécifique de la maladie mais les sujets MCI constituent une population intéressante pour la recherche et l'évaluation de marqueurs précoces de la MA.

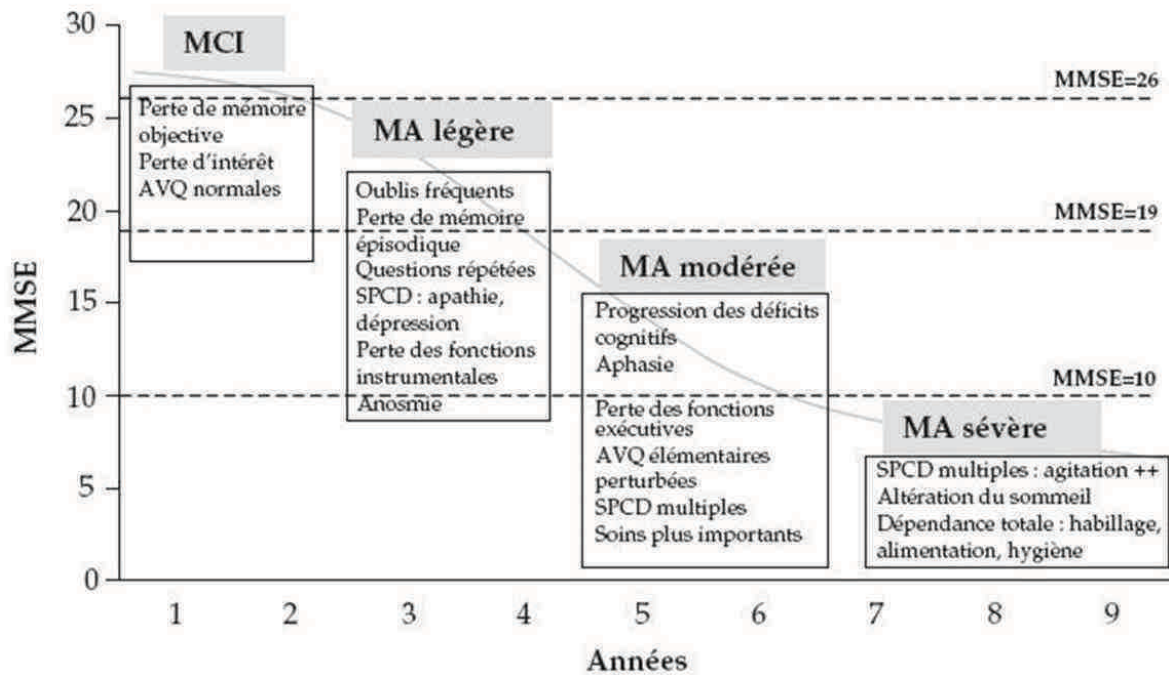


Figure 16: Progression des symptômes de la maladie d'Alzheimer. MMSE: mini mental State Examination MCI: Mild Cognitive Impairment MA: Maladie d'Alzheimer AVQ: Activités de la vie quotidienne SPCD: Symptômes psychologiques et comportementaux de démences. D'après (Feldman and Woodward, 2005).

4. Altérations structurales

4.1. Signature histo-pathologique

4.1.1. Plaques séniles

On distingue des plaques formant des dépôts diffus, volumineux, faiblement concentrés en peptide β amyloïde et des plaques denses, constituées de dépôts focaux et sphériques (Metsaars et al., 2003) (Figure17).

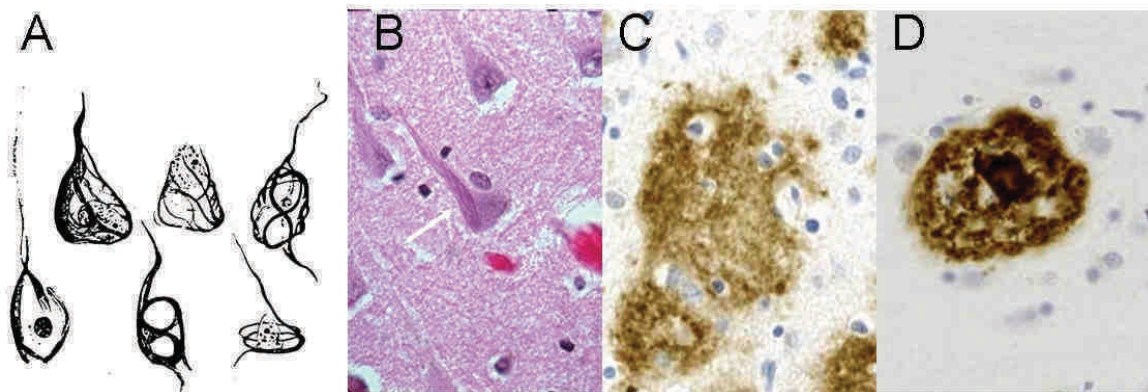


Figure 17 : Signes histopathologiques de la maladie d'Alzheimer. A-Dégénérescences neurofibrillaires « neurones en flamme » dessinés par Aloïs Alzheimer. B-Dégénérescences neurofibrillaires (<http://medgen.genetics.utah.edu>). C-Plaques amyloïde primitive (Cecchi et al., 2002). D-Plaque sénile à dépôt dense (Cecchi et al., 2002).

Une étude a proposé 5 phases d'envahissement du cerveau par les plaques séniles (Thal et al., 2002) (Figure 18). Lors d'une première phase, les dépôts sont diffus et se retrouvent uniquement au niveau néocortical (frontal, temporal, pariétal et occipital). Au cours de la phase 2, des dépôts apparaissent dans le cortex entorhinal et insulaire, ainsi que dans le CA1 de l'hippocampe. Chez certains patients, on en trouve également dans l'amygdale et le gyrus cingulaire. Les dépôts apparaissent ensuite (phase 3) dans des régions sous-corticales comme les noyaux gris centraux, le thalamus et l'hypothalamus. Dans la phase 4, les dépôts s'étendent au tronc cérébral (substance noire, la formation réticulée, colliculi). Enfin, la phase 5 se caractérise par l'apparition de dépôts dans le cervelet, le LC et certains autres noyaux du tronc cérébral.

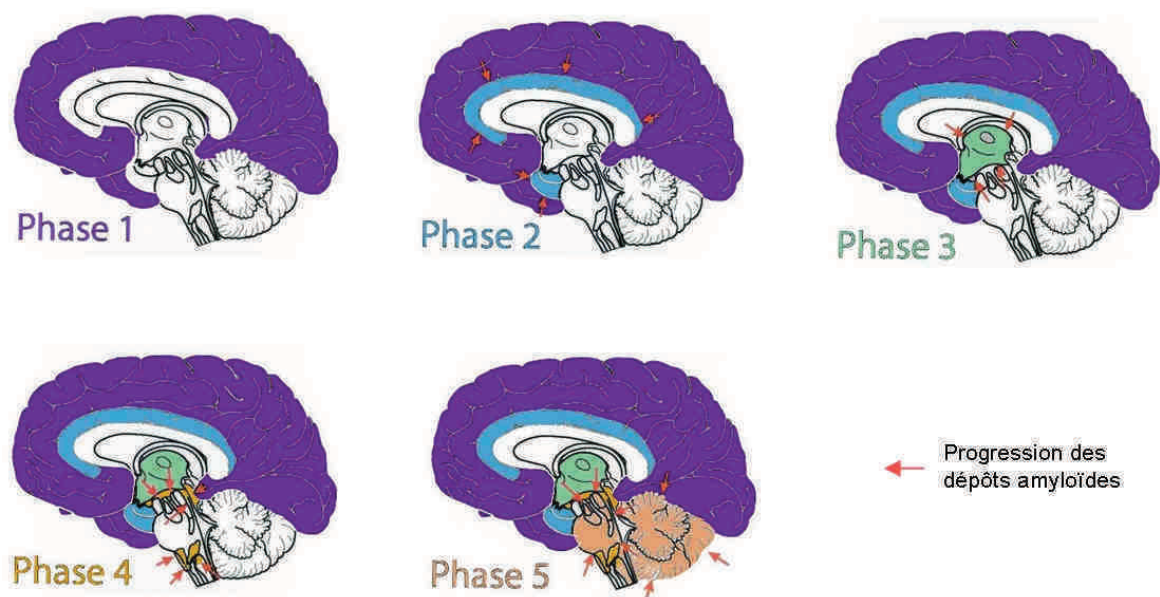


Figure 18 : Les stades de progression des dépôts amyloïdes. D'après (Thal et al., 2002). L'échelle de couleur indique les régions des moins sévèrement touchées (bleu) aux plus sévèrement touchées (rouge). On note l'atteinte très sévère du cortex trans-enthorinal et entorhinal (rouge, et orange).

L'idée d'un rôle majeur du peptide β amyloïde dans la MA est soutenue par de nombreuses observations. Tout d'abord, les dépôts amyloïdes sont un des signes de la MA et sont la clé du diagnostic différentiel entre MA et autres démences. De plus, les mutations causales observées dans les formes familiales de la MA accroissent toutes l'amyloïdogénèse. Ces observations ont conduit à la théorie 'amyloïde' de la MA, attribuant au peptide β amyloïde un rôle majeur dans le développement de la MA. Cette théorie a formé la cadre conceptuel dominant de nombreux travaux sur la MA au cours des dernières années.

4.1.2. Les dégénérescences neurofibrillaires

La protéine Tau intervient normalement dans la stabilisation des microtubules en se liant à l'actine (Fulga et al., 2007). Hyper-phosphorylée dans la MA, la protéine ne stabilise plus les microtubules ce qui entraîne son agrégation anormale (Ballatore et al., 2007). L'étude de l'apparition des dégénérescences neurofibrillaires et de leur localisation a permis de définir 6 stades de leur développement (Braak and Braak, 1991) dont l'évolution peut prendre des dizaines d'années (Figure 19).

Au cours du stade 1, la protéine Tau commence à s'agréger dans le cortex trans-entorhinal. Le stade 1 est atteint par quasiment toutes les personnes de 40 à 90 ans en l'absence de toute pathologie. Il peut ne montrer aucune évolution vers les stades suivants pendant plusieurs dizaines d'années.

Le stade 2 correspond à l'apparition de mort des neurones contenant des dégénérescences neurofibrillaires au niveau trans-entorhinal. La protéine Tau commence aussi à s'agréger dans l'hippocampe et le cortex. A ce stade, les tests neuropsychologiques ne mettent en évidence que des troubles cognitifs mineurs.

Au stade 3, les dégénérescences neurofibrillaires se généralisent dans l'hippocampe en association avec une perte neuronale élevée, et commencent à se former dans les structures néocorticales. Des déficits mnésiques apparaissent, mais seulement 10% des patients à ce stade sont diagnostiqués comme souffrant de démence.

Au stade 4, les dégénérescences neurofibrillaires se forment en abondance dans les structures néo-corticales. 75% des patients sont alors diagnostiqués comme atteints de la MA.

Dans le stade 5, les dégénérescences neurofibrillaires sont très présentes dans l'ensemble des cortex, et une mort neuronale sévère est observée. 80% des patients sont diagnostiqués comme souffrant de démence modérée à sévère.

Au dernier stade (stade 6), le développement des dégénérescences neurofibrillaires dans le néocortex est très avancé. Delacourte propose une subdivision du stade 6 en 5 étapes, en

fonction des régions néocorticales touchées et de la présence de plaques séniles (Delacourte et al., 1999). L'ensemble des patients à ce stade est diagnostiqué pour une démence.

Les relations temporelles et fonctionnelles entre dépôts amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires ne sont pas claires. Pour certains, l'apparition des dépôts est plus tardive que celle des dégénérescences neurofibrillaires (Yilmazer-Hanke and Hanke, 1999; Kovacs et al., 2001) mais quand ces deux signes histo-pathologiques sont présents (aux stades avancés de la maladie), le nombre de plaques se corrèle à la densité de dégénérescences neurofibrillaires dans la plupart des régions étudiées. A l'inverse, certains travaux suggèrent que l'accumulation de peptide β amyloïde précède l'apparition des dégénérescences neurofibrillaires et a lieu très précocement dans la MA (Tiraboschi et al., 2004). Ces écarts pourraient provenir au moins en partie des critères d'inclusion de patients dans ces études et de leur degré d'atteinte.

Par ailleurs, la quantité de dégénérescences neurofibrillaires se corrèle mieux au déclin cognitif que la quantité de plaques amyloïdes (Braak and Braak, 1991).

Jusqu'à une époque très récente, seule l'étude *post-mortem* du tissu cérébral avec mise en évidence des plaques séniles et des figures de dégénérescence neurofibrillaire permettait de confirmer définitivement le diagnostic de MA, en appui des tests neuropsychologiques. Actuellement se développe le marquage en imagerie des plaques séniles (marqueur PIB, imagerie TEP) qui pourrait en association avec d'autres techniques (notamment l'analyse du fluide cébrospinal et l'IRM) bientôt contribuer au diagnostic clinique de la MA (Rogers and Lue, 2001; Dubois et al., 2007; Nordberg, 2008; Berti et al., 2010; Fagan and Holtzman, 2010; Hampel et al., 2010; Morinaga et al., 2010; Weiner et al., 2010; Yakushev et al., 2010).

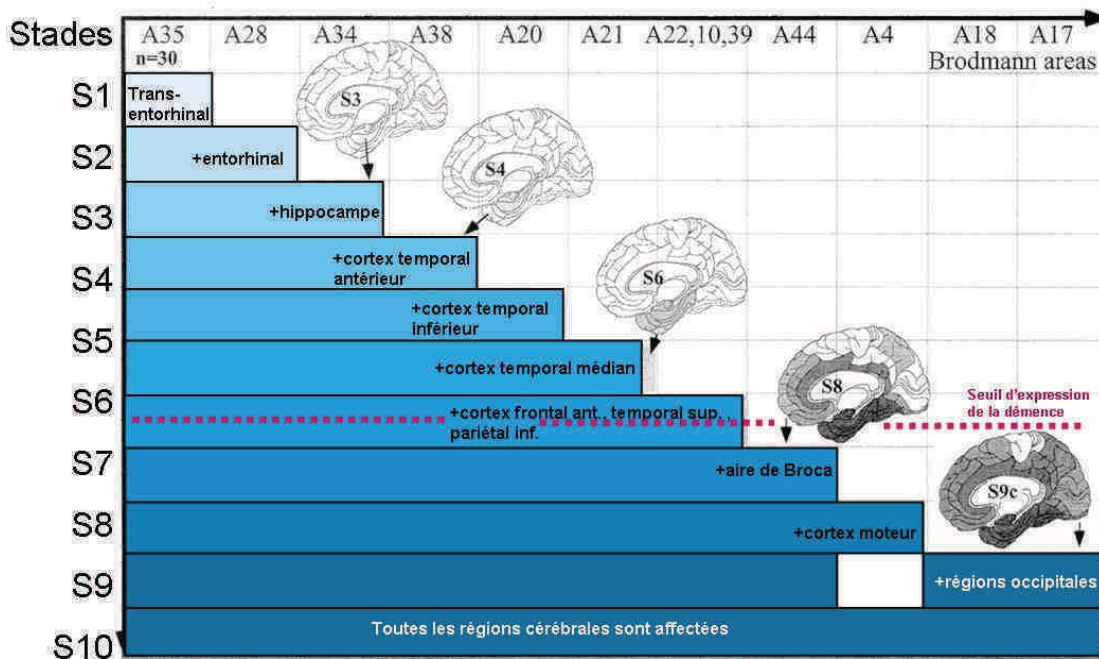


Figure 19 : Les stades de progression des dégénérescences neurofibrillaires. D'après (Delacourte et al., 1999).

4.2. Inflammation

La MA se caractérise par une inflammation sévère du tissu cérébral. Les cytokines pro-inflammatoires sont surexprimées et une activation gliale et microgiale se met en place avec synthèse d'auto-anticorps dirigés contre les neurones ou d'autres types cellulaires. Ces réactions inflammatoires indésirables peuvent amplifier le processus dégénératif et accélérer la destruction du tissu neuronal (pour une revue récente voir (Heneka et al., 2010a)).

4.3. Atteinte des systèmes neuromodulateurs

4.3.1. Système cholinergique

Les travaux pionniers sur les cerveaux de patients décédés de la MA ont mis en évidence une perte de neurones cholinergiques dans le noyau de Meynert (de 30 à 90%) (Whitehouse et al., 1982; Wilcock et al., 1983) et une baisse de l'activité de la ChAT, corrélée à la sévérité de la maladie (Davies, 1999). La baisse d'activité de la ChAT, sévère aux stades avancés de la maladie, est précédée par une hausse d'activité lors des stades les plus précoces (préclinique et MCI). En effet, certaines études plus récentes ont montré une activation de la ChAT aux

stades précoces de la maladie, peut être en compensation d'une perte débutante de neurones cholinergiques (DeKosky et al., 2002; Frolich, 2002; Ikonovic et al., 2007).

Les atteintes cholinergiques ont suscité beaucoup d'intérêt car d'une part la diminution de l'activité de la ChAT se corrèle dans certains travaux au degré de démence, et d'autre part en raison du rôle bien connu depuis longtemps de l'ACh dans les processus mnésiques et cognitifs (Frolich, 2002). Ces observations ont donné naissance à la théorie 'cholinergique' de la MA selon laquelle le déficit cholinergique jouerait un rôle majeur dans l'apparition des signes cognitifs de la maladie. Confirmée par de nombreuses études (Frolich, 2002), cette dégénérescence cholinergique dans la MA a conduit à la mise en place de traitements qui visent à augmenter le niveau d'ACh en inhibant l'activité de l'acétylcholine estérase (AChE) dont le rôle est de dégrader l'ACh synaptique. Toutefois, les différentes drogues utilisées (tacrine, donepezil, rivastigmine et galantamine) n'améliorent que de façon modeste et transitoire les symptômes (Davis et al., 2001; Doody et al., 2001; Silvestrelli et al., 2006), suggérant que le déficit cholinergique ne permet pas d'expliquer l'ensemble des symptômes et n'est pas le seul mécanisme pathogène mis en jeu.

Parmi les mécanismes possibles de la dégénérescence cholinergique figurent celui impliquant le NGF. En effet, les neurones cholinergiques adultes conservent une dépendance pour leur survie vis-à-vis de la fourniture en NGF par leur cible. Or, une baisse de l'expression des récepteurs au NGF est observée dans le cortex au stade précoce de la MA et l'infusion de NGF pourrait contrer la dégénérescence des neurones cholinergiques (pour revue (Tapia-Arancibia et al., 2008)).

La MA se caractérise par des altérations de nombreux autres systèmes neurochimiques. Ainsi, des modifications des taux de NA, glutamate, sérotonine, somatostatine et substance P sont également observées (Marien et al., 2004).

4.3.2. Système noradrénergique

Le système noradrénergique subit une dégénérescence profonde avec disparition des neurones noradrénergiques du LC (Chan-Palay, 1991; Forno, 1992; German et al., 1992; Forstl et al., 1994; Hoogendijk et al., 1995; Busch et al., 1997; Burke et al., 1998; Hoogendijk et al., 1999; Lyness et al., 2003; Zarow et al., 2003; Marien et al., 2004) (Figure 20), et des projections ascendantes conduisant à des niveaux de NA et d'expression de la dopamine β hydroxylase (DBH), enzyme de synthèse de la NA, anormalement bas (Iversen et al., 1983; Palmer et al., 1987b; Palmer et al., 1987a; Matthews et al., 2002). La mort neuronale dans le LC ainsi que le taux cortical de NA se corrèlent avec la sévérité de la démence (Iversen et al., 1983; German et al., 1992; Marien et al., 2004).

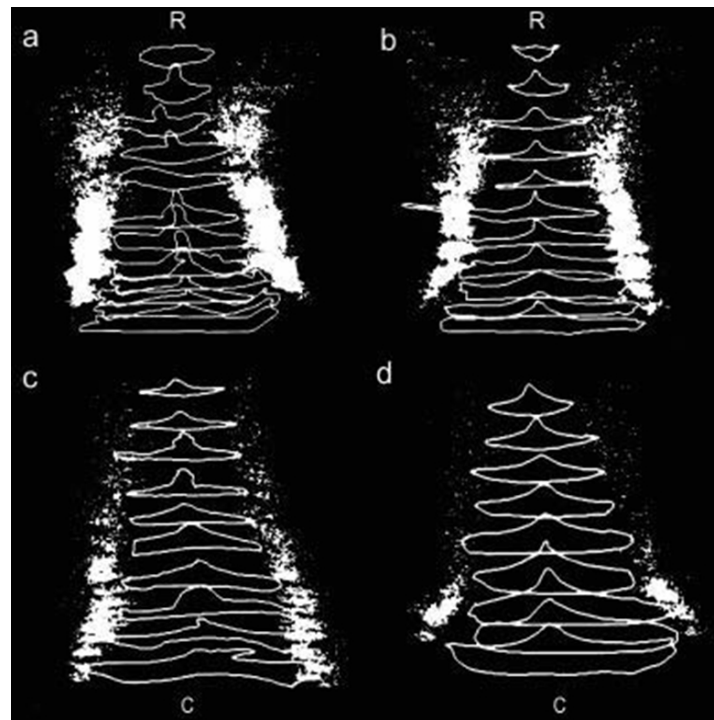


Figure 20 : Atteinte du LC dans la MA. Reconstitution du LC humain au cours du vieillissement normal et lors de la MA. A: témoin de 55 ans. B: témoin de 78 ans. C: patient atteint de MA 78 ans. D: patient très sévèrement atteint de MA 77 ans. R: rostral; C: caudal (rapporté dans (Marien et al., 2004)).

Les pertes neuronales dans le LC sont majeures dans la partie centrale de ce noyau qui projette préférentiellement vers le cortex frontal et l'ensemble du lobe temporal (Marcyniuk et al., 1986). Ces pertes neuronales ont lieu très précocement puisqu'on les observe déjà chez des patients au stade MCI (Grudzien et al., 2007). Il semble bien que la perte des neurones du LC ne soit pas due à un processus de dégénérescence rétrograde résultant de la mort neuronale corticale car elle la précède (German et al., 1992).

D'après la littérature, la dégénérescence noradrénergique serait aussi présente plus précocement que celle du système cholinergique dans la MA et se corrèle mieux avec la sévérité de la maladie que les altérations cholinergiques (Forstl et al., 1994; Zarow et al., 2003).

Les pertes neuronales dans le LC pourraient contribuer de différentes manières à la MA (pour revue, voir (Weinshenker, 2008)). Nous savons que la NA corticale intervient de manière critique dans diverses formes d'apprentissage et de mémoire qui sont altérées dans la MA (Dluzen et al., 1998; Shang and Dluzen, 2001; Berridge and Waterhouse, 2003; Murchison et al., 2004; Marino et al., 2005)). Sa déplétion pourrait donc jouer un rôle dans l'apparition des signes cognitifs de la maladie. La NA est également connue pour ses propriétés anti-inflammatoires, supprimant l'expression de gènes pro-inflammatoires, et augmentant celle des molécules anti-inflammatoires (Feinstein et al., 2002; Heneka et al., 2003; Marien et al., 2004). Ainsi les pertes noradrénergiques observées dans la MA pourraient être responsables

d'une neuroinflammation et de mort cellulaire accrues. Enfin, les neurones du LC synthétisent, en plus de la NA, de nombreux autres neuromodulateurs (ATP, Neuropeptide Y, galanine, enképhaline, BDNF, et d'autres types de neurotrophines) (Morita et al., 1990; Castren et al., 1995; Conner et al., 1997; Numan et al., 1998; Xu et al., 1998; Koylu et al., 1999), dont la diminution pourrait contribuer au processus pathogène (Morse et al., 1993; Pringle et al., 1996; O'Meara et al., 2000; Elliott-Hunt et al., 2004).

Tout comme dans le vieillissement normal, certaines données laissent penser qu'au cours de la MA des mécanismes compensatoires se mettent en place afin de maintenir le taux de NA corticale : une augmentation de l'expression de la TH est observée dans le LC de patients traduisant une augmentation de la capacité de synthèse de NA par ces neurones (Szot et al., 2000; Szot et al., 2006). De plus, le niveau de métabolites de la NA est fortement augmenté dans le liquide céphalorachidien (LCR) des patients tout comme le ratio MHPG/NA (MHPG : 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol, métabolite de la NA) (Raskind et al., 1984; Nyback et al., 1987; Palmer et al., 1987b; Palmer et al., 1987a; Tohgi et al., 1992) qui est inversement corrélé au nombre de neurones noradrénergiques restant dans le LC (Hoogendijk et al., 1999). Des compensations noradrénergiques semblent également se manifester au niveau des projections noradrénergiques: les projections noradrénergiques pourraient s'étendre et ré innervent certaines régions cérébrales (Szot et al., 2006, 2007).

4.3.3. Système sérotoninergique

Les troubles cognitifs observés dans la MA sont souvent accompagnés de problèmes psychiatriques comme la dépression ou les hallucinations. Or ces troubles sont souvent associés à des altérations du système sérotoninergique (Lanctot et al., 2001) et une dégénérescence des neurones sérotoninergiques a été très souvent rapportée dans la MA (Wilcock et al., 1988; Burke et al., 1990; Aletrino et al., 1992; Halliday et al., 1992; Forstl et al., 1994; Chen et al., 2000a; Ouchi et al., 2009). Une étude récente en PET scan décrit une réduction importante de la liaison du radiotracer avec les récepteurs sérotoninergiques présynaptiques chez des patients non dépressifs, suggérant que les altérations sérotoninergiques pourraient précéder le syndrome dépressif (Ouchi et al., 2009). Enfin, la sévérité des symptômes psychiatriques observés dans la maladie semble être liée à la gravité de la dysfonction sérotoninergique (Ouchi et al., 2009).

4.3.4. Système dopaminergique

Des pertes de neurones dopaminergiques ont également lieu au cours de la MA (Forstl et al., 1994). Toutefois, les taux de dopamine chez des patients après autopsie ou lors de biopsies ne diffèrent pas des sujets sains (Palmer et al., 1987b; Palmer et al., 1987a), et la substance noire subit les pertes neuronales moins marquées que celles touchant les autres noyaux de systèmes neuromodulateurs (Lyness et al., 2003).

4.3.5. Système glutamatergique

Le glutamate est le principal neurotransmetteur exciteur du système nerveux central intervenant dans tous les circuits fonctionnels (fonctions cognitives, boucles sensori-motrices, régulations autonomes), et dans le développement cérébral (neurogenèse, migration cellulaire et synaptogenèse). L'excès de glutamate est toxique car il déclenche une entrée massive de calcium dans les neurones, entraînant leur mort par apoptose (Sims and Zaidan, 1995). Cette excitotoxicité semble intervenir dans de nombreuses pathologies (Dong et al., 2009). Dans la MA, un dysfonctionnement de la neurotransmission glutamatergique a également lieu : le nombre de boutons présynaptiques glutamatergiques augmente chez les patients MCI puis diminue ensuite au fil de la maladie (Bell et al., 2007), et le peptide β amyloïde induit des modifications d'expression des récepteurs glutamatergiques qui conduisent à une excitotoxicité (Parameshwaran et al., 2008). L'hypothèse selon laquelle l'altération de la transmission glutamatergique pourrait participer au déclin cognitif observé dans la MA a donné lieu à la mise au point d'un traitement ciblant les récepteurs NMDA par la mémantine. Cet antagoniste non compétitif des récepteurs glutamatergiques NMDA inhibe l'influx prolongé d'ions calcium responsable de l'excitotoxicité neuronale (Robinson and Keating, 2006; Thomas and Grossberg, 2009). Chez les patients fortement atteints, la mémantine semble avoir des effets bénéfiques sur les fonctions cognitives mais donne des résultats mitigés chez les patients moins sévèrement atteints (Thomas and Grossberg, 2009).

4.4. Altérations neurogéniques

Les données concernant les aspects neurogéniques chez l'homme dans la MA sont encore rares, et concernent essentiellement la neurogenèse hippocampique (pour revue, (Schaeffer et al., 2009)).

Dans le gyrus denté, les études *post-mortem* des cerveaux de patients révèlent une augmentation du nombre de cellules cyclantes (Nagy et al., 1997) et de l'expression de marqueurs de neuroblastes et de jeunes neurones (DCX, PSA-NCAM, NeuroD). Toutefois, l'expression des marqueurs de neurones matures comme NeuN, la calbindine, et MAP 2a / 2b reste inchangée (Jin et al., 2004; Boekhoorn et al., 2006; Li et al., 2008). Certains auteurs interprètent ces données comme le signe d'une absence de différenciation neuronale des cellules en prolifération et donc d'une absence d'augmentation de neurogenèse (Li et al., 2008).

Dans la ZSV, on observe une diminution de Musashi1, exprimé par des cellules de type astrocytaire, en cours de prolifération, suggérant une réduction de la prolifération (Ziabreva et al., 2006).

Les différences observées entre ZSV et gyrus denté sont difficilement explicables en l'état actuel de nos connaissances mais l'ensemble des données suggèrent des altérations du processus neurogénique dans les cerveaux atteints de la maladie.

IV. Une atteinte très précoce du système olfactif chez l'homme dans la maladie d'Alzheimer

1. Signes histo-pathologiques

Comme dans le reste du cerveau, des dégénérescences neurofibrillaires sont observées au cours de la MA dans les structures olfactives, et semblent apparaître très tôt dans le développement de la maladie (Kovacs et al., 2001). Les dégénérescences fibrillaires sont retrouvées presque systématiquement dans le BO ainsi que dans d'autres structures olfactives comme le noyau olfactif antérieur (Ohm and Braak, 1987; Hyman et al., 1991; Struble and Clark, 1992; Reyes et al., 1993; ter Laak et al., 1994; Kovacs et al., 1998; Kovacs et al., 1999, 2001; Christen-Zaech et al., 2003; Tsuboi et al., 2003; Kovacs, 2004; Attems et al., 2005; Jellinger and Attems, 2005; Attems and Jellinger, 2006), le cortex entorhinal et l'amygdale dans les démences modérées (Braak and Braak, 1991; Price et al., 1991) et dans l'épithélium olfactif (Arnold et al., 2010). Sur le plan chronologique, le BO et le noyau antérieur olfactif sont touchés très tôt par les dégénérescences neurofibrillaires, au cours des stades 0 et 1 de Braak, parallèlement au cortex entorhinal (Kovacs et al., 2001; Christen-Zaech et al., 2003; Attems and Jellinger, 2006). Parfois même, les dégénérescences neurofibrillaires sont présentes dans le noyau olfactif antérieur, bien avant d'atteindre le cortex trans-entorhinal (Kovacs et al., 2001). Des inclusions Tau hyperphosphorylées sont également observées dans les neurones sensoriels olfactifs (Talamo et al., 1989) et dans leurs axones (Kovacs et al., 1999). Les centres olfactifs (cortex periamygdalien, et amygdale antérieure) sont impliqués dans des stades de Braak plus précoces que les structures isocorticales avec connections olfactives.

La fréquence et la localisation des dépôts amyloïdes varient suivant les sujets ou le stade de développement de la démence (voir (Kovacs et al., 1999)). La présence de plaques séniles est surtout décrite dans le noyau olfactif antérieur mais elles sont présentes systématiquement aussi dans l'ensemble des structures olfactives périphériques et centrales sous la forme de plaques séniles denses (Ohm and Braak, 1987; Braak and Braak, 1991; Hyman et al., 1991; Struble and Clark, 1992; Reyes et al., 1993; Arnold et al., 1994; ter Laak et al., 1994; Kovacs et al., 1998; Kovacs et al., 1999, 2001; Kovacs, 2004). Chez les sujets sains âgés, des dépôts amyloïdes sont parfois présents mais il s'agit alors uniquement de

dépôts diffus. Des pertes neuronales sont également observées dans le BO et le noyau antérieur olfactif (ter Laak et al., 1994).

Le système olfactif est donc atteint par la pathologie à des stades très précoces, particulièrement pour ce qui concerne les dégénérescences neurofibrillaires. Ces atteintes précoces suggèrent que les dysfonctions olfactives résulteraient de ces dommages primaires aux structures olfactives, plutôt que des dommages subis par les aires associatives et néocorticales, atteintes plus tardivement. Les signes olfactifs pourraient donc constituer un indice précieux des stades précoces de la maladie.

2. Altérations olfactives chez l'homme

Dans la MA, les troubles olfactifs sont très fréquents et affectent 85 à 90% des patients testés. Très précoces, ils s'aggravent lors de la progression de la maladie. Rarement rapportés par les patients (6%), ils nécessitent une évaluation par des tests olfactifs pour être décelés (Demarquay et al., 2007).

2.1. Performances olfactives

2.1.1. Détection / sensibilité olfactive

Chez les patients Alzheimer, le seuil de détection est significativement augmenté par rapport aux sujets sains appariés en âge ((Morgan et al., 1995; Nordin et al., 1996; Lehrner et al., 1997) mais voir aussi (Koss et al., 1988)), de manière corrélée avec la sévérité de la maladie (Murphy et al., 1990). L'élévation des seuils est un événement précoce de la maladie. En effet, des études longitudinales ont montré que les patients présentaient une modification des seuils olfactifs deux ans avant le diagnostic de MA (Bacon et al., 1998) et que plus ce déficit était important, plus le risque d'apparition de la démence était grand (Graves et al., 1999).

2.1.2. Identification

Les performances d'identification sont altérées dans la MA de manière encore plus précoce que les seuils (Koss et al., 1988; Serby et al., 1991; Lehrner et al., 1997; Larsson et al., 1999; Kovacs, 2004) et cette altération se corrèle mieux avec le score MMSE que les performances de détection (Djordjevic et al., 2008; Fusetti et al., 2010). Ainsi, un patient dans les premiers stades de MA peut avoir des difficultés à choisir entre deux noms pour identifier un odorant,

mais est capable de détecter la présence de l'odeur (pour revue (Demarquay et al., 2007)). Ce déficit pourrait être un prédicteur de la maladie. D'une part, il précéderait les pertes mnésiques (Kovacs, 2004), d'autre part, deux tests réalisés sur des patient MCI à 6 mois d'intervalle permettraient d'après l'évolution des scores de prédire ou non l'apparition de la maladie (Devanand et al., 2000). L'identification d'odeur nécessite de bonnes capacités à la fois de discrimination et de mémoire sémantique de par le fait qu'elle nécessite le classement d'une sensation vers un terme approprié stocké en mémoire. Les tests reposant sur une fonction lexicale ne reflètent donc probablement pas directement ou pas exclusivement des dysfonctions olfactives chez les patients présentant une démence, des interférences entre mémoires sémantique et olfactive pouvant intervenir de manière encore plus marquée que chez les sujets âgés sains (Morgan et al., 1995). Une étude a testé ces éventuelles interférences grâce à l'utilisation d'un test lexical (identification de l'odeur à l'aide de mots) ou non lexical (identification à l'aide d'images) (Suzuki et al., 2004). Les résultats montrent des performances réduites chez les patients par rapport aux sujets sains dans les deux types de tests. Toutefois, le déficit dans le test lexical se corrèle mieux avec les scores MMSE que celui observé dans le test non lexical. Ces données suggèrent une altération cognitive d'ordre sémantique, non olfactive couplée à une altération plus spécifique du traitement de l'odeur.

2.1.3. Discrimination

Cet aspect de la perception olfactive a été beaucoup moins étudié que les capacités d'identification. Les performances de discrimination sont altérées chez les patients (Luzzi et al., 2007) et semblent, comme les performances d'identification, mieux corrélées avec le score MMSE que les performances de détection (Fusetti et al., 2010). La diminution des capacités de discrimination pourraient interagir avec le processus d'identification des odeurs et contribuer à son déclin pathologique dans la MA (Luzzi et al., 2007).

2.1.4. Mémoire olfactive

Paradoxalement, bien que la MA se caractérise avant tout, surtout dans sa phase précoce par des troubles mnésiques, les déficits mnésiques olfactifs ont été relativement peu étudiés chez l'homme. Les patients s'avèrent beaucoup moins bons que des sujets sains appariés dans les tâches de rappel immédiat, à court terme ou à long terme d'une odeur, avec ou sans indice verbal (Moberg et al., 1987; Nordin and Murphy, 1998; Niccoli-Waller et al., 1999; Gilbert et al., 2004). De plus, le degré d'altération de la mémoire olfactive semble lié au degré de sévérité de la démence (Lehrner et al., 1997). De manière intéressante, une étude rapporte que la mémoire de reconnaissance des odeurs mais pas des visages, mesurée par le niveau

de familiarité, est altérée chez les patients suspectés de MA (Nordin and Murphy, 1998), suggérant une sélectivité de l'atteinte olfactive à ce stade.

L'altération des performances de discrimination et de mémoire de reconnaissance d'odeur seraient donc parmi les premiers symptômes de la MA (Gilbert et al., 2004).

2.1.5. Intensité perçue, hédonicité, familiarité, comestibilité

Les jugements d'intensité, d'hédonicité, de familiarité et de comestibilité ont été évalués chez des patients Alzheimer (Royet et al., 2001). Comparés aux sujets sains, les patients montrent une diminution des valeurs de jugement de familiarité, associée à un déficit d'identification. Les jugements de familiarité impliquent une mémoire de reconnaissance à long terme. Leur diminution chez les patients serait le reflet des déclinés cognitifs observés dans la MA. Aucune modification de jugement d'intensité, de comestibilité, et d'hédonicité n'est mise en évidence dans cette étude. Une étude récente effectuée dans notre laboratoire montre chez des sujets âgés sains que les odeurs plaisantes sont jugées moins agréables que par des sujets jeunes, traduisant une relative anhédonie, alors que le jugement concernant la valence hédonique des odeurs déplaisantes est inchangé (Joussain, 2009). Les patients Alzheimer eux, montrent une diminution du jugement hédonique, quel que soit le caractère plaisant ou déplaisant des odeurs, suggérant plutôt une apathie olfactive.

2.2. Bases neuronales des déficits olfactifs : apports de l'imagerie

Chez l'homme, le substrat neuronal des altérations fonctionnelles a été exploré par quelques rares études en imagerie fonctionnelle et en électroencéphalographie.

En TEP, on observe chez les patients une diminution de l'activation induite par une odeur dans les régions olfactives (Kareken et al., 2001). Une étude en IRM fonctionnelle a mis en évidence une diminution de la connectivité entre le cortex orbitofrontal et le lobe temporal chez les sujets âgés, diminution accrue chez les patients Alzheimer (Murphy et al., 2005). Actuellement, des recherches sont menées pour mettre en place un moyen de diagnostic de la conversion du statut MCI à la MA chez les patients en utilisant des méthodes d'imagerie combinées à des tests cognitifs et olfactifs (Devanand et al., 2008). En effet, la combinaison de la mesure de la réduction du volume hippocampique et de celui du cortex entorhinal, associée aux évaluations des déficits d'identification d'odeur, des performances cognitives, du statut cognitivo-social de l'individu et à son génotype Apo E permettrait de mieux prédire le passage du stade MCI à la maladie d'Alzheimer.

IV. Atteinte précoce du système olfactif chez l'homme dans la maladie d'Alzheimer

Les études d'EEG et de potentiels évoqués olfactifs montrent que la réponse évoquée par l'odeur dans le cerveau est significativement réduite en amplitude et que sa latence est retardée chez les sujets âgés. Ce retard de réponse est drastiquement aggravé chez les patients Alzheimer (Murphy et al., 2005). Cependant, la corrélation de ces anomalies avec les performances olfactives n'est pas claire. Dans une étude, des potentiels évoqués anormaux sont observés malgré l'absence de dysfonctions psychophysiques (Sakuma et al., 1996), alors qu'une autre étude rapporte des potentiels normaux chez 4 patients, malgré des scores faibles d'identification d'odeur (Hawkes and Shephard, 1998).

V. Bases cellulaires et moléculaires de la maladie d'Alzheimer : apport des modèles animaux

1. Principaux modèles animaux

Les lésions de la MA ne sont pas observées spontanément chez l'animal vieillissant, à quelques exceptions près (Härtig et al., 2000 ; Härtig, 2001). Plusieurs études ont notamment rapporté chez le microcèbe âgé (*Microcebus murinus*) la présence de dégénérescences neurofibrillaires et de dépôts amyloïdes ; il s'agit néanmoins d'un modèle rare et difficile à élever (Bons et al., 1992; Bons et al., 2006). L'étude de la maladie chez l'animal a donc recours à des modèles expérimentaux, lésionnels ou génétiques qui reproduisent plus ou moins complètement les différents aspects de la maladie (pour revue, (Duyckaerts et al., 2008)).

La combinaison de lésions cholinergiques et d'injections de peptide β amyloïde conduit à l'apparition de processus neuroinflammatoires dans le cerveau mais pas à un phénotype Alzheimer (Geula et al., 1998). Les souris SAMP-8, modèle de vieillissement accéléré, présentent une augmentation du taux de peptide β amyloïde diffus. Toutefois, leur utilisation comme modèle de MA reste controversée (pour revue, (Philipson et al., 2010)) .

La découverte des formes familiales de MA a permis de transposer la pathologie amyloïde chez l'animal par la création de modèles transgéniques exprimant les mutations humaines de l'APP et/ ou une préséniline mutée (élément de la γ sécrétase responsable du clivage amyloïdogène de l'APP) et/ ou une protéine Tau mutée (Duyckaerts et al., 2008). Les modèles transgéniques simples (APP) comme par exemple les modèles PDAPP (Games et al., 1995), Tg2576 (Hsiao et al., 1996) ou APP23 (Sturchler-Pierrat et al., 1997) présentent des dépôts amyloïdes et des signes d'altérations mnésiques (avec altération de la LTP) mais ni perte neuronale massive ni dégénérescences neurofibrillaires. Les modèles de mutation simple sur la préséniline ne montrent pas de signes histo-pathologiques et présentent des altérations comportementales modestes (Duyckaerts et al., 2008). Des modèles transgéniques doubles exprimant la protéine APP mutée ainsi qu'une préséniline mutée (APP-PS1) (Duff et al., 1996) présentent un phénotype très proche des modèles simples mutés sur l'APP mais avec une accélération de l'accumulation de peptide β amyloïde par rapport aux modèles transgéniques simples. Parmi ces doubles transgéniques nous retrouvons notamment les souris PSAPP (Holcomb et al., 1998) issues du modèle Tg2576 et les souris APP/PS1 (Borchelt et al., 1997; Garcia-Alloza et al., 2006).

Enfin, des triples transgéniques exprimant trois protéines mutées (APP, préséniline1 et Tau) développent la pathologie amyloïde ainsi que des accumulations de protéine Tau donnant des

figures de dégénérescences neurofibrillaires, se rapprochant ainsi plus de la maladie humaine sur le plan histo-pathologique. Ces animaux présentent aussi des troubles de mémoire et de LTP (Oddo et al., 2003b).

Ces modèles ont permis d'aborder des questions centrales telles que la production du peptide β amyloïde, l'évolution avec l'âge des dépôts amyloïde et des déficits cognitifs, les liens entre troubles mnésiques et charge amyloïde, entre dépôts amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires, ou encore les effets cellulaires du peptide β amyloïde (Walsh and Selkoe, 2004).

2. Troubles fonctionnels chez les modèles murins transgéniques

2.1. Troubles mnésiques et comportementaux

La mémoire spatiale évaluée dans le labyrinthe aquatique (Morris water maze) est de loin l'aspect cognitif le plus étudié dans les modèles animaux de la MA, avec dans une moindre mesure la mémoire de reconnaissance d'objet et la mémoire de travail. Les principaux résultats et les références correspondantes sont regroupés au sein du tableau 3.

Les souris transgéniques modèles de la pathologie amyloïde présentent des déficits de mémoire spatiale, des déficits de mémoire de travail mesurée en T maze ou dans un Y maze. Des déficits dans des tâches de conditionnement associatif aversif ou attractif sont aussi rapportés. Les données concernant la reconnaissance d'objets sont aussi très tranchées avec une majorité d'études rapportant des déficits de rétention dans les modèles transgéniques.

Un grand nombre de modèles transgéniques présente une hyperactivité locomotrice par rapport aux souris sauvages, réminiscence de l'hyperactivité rencontrée chez les patients dans les phases précoces de la maladie. Seules deux études rapportent une hypoactivité locomotrice. Enfin, des altérations du processus d'habituation (Deacon et al., 2009) et des rythmes circadiens (Sterniczuk et al., 2010) sont décrites. Récemment ont été développées des approches en imagerie chez la souris du métabolisme cérébral qui devraient permettre de développer l'étude longitudinale des altérations cognitives et de les corrélérer aux atteintes cérébrales (Dubois et al., 2010; El Tayara Nel et al., 2010).

Tableau 3 : Récapitulatif des troubles cognitifs et comportementaux observés chez les différents modèles murins transgéniques de maladie d'Alzheimer. Ob Re : object recognition ; Loc : locomotor activity, Sp mem : Spatial memory ; W mem : working memory ; A cond : associative conditioning ; Disc : discrimination ; Hab : habituation ; Sp Alt : spontaneous alternation. (+) : augmentation de l'activité locomotrice ; (-) : diminution des performances (ou de l'activité locomotrice) (0) : performances identiques aux contrôles (non tg).

VI. Bases cellulaires et moléculaires de la maladie d'Alzheimer : Apport des modèles animaux

Reference	AD model	Ob Re	Loc	Sp mem	W mem	A cond	Disc	Hab	Sp alt
(Tagliatela et al., 2009)	Tg2576	-				-			
(Deacon et al., 2009)	Tg2576		+					-	
(Mouri et al., 2007)	Tg2576			-		-			
(Quinn et al., 2007)	Tg2576			-		-			
(Dineley, 2007)	Tg2576					-			
(Zhuo et al., 2007)	Tg2576			0	0		-		
(Tsai et al., 2007)	Tg2576			-					
(Choi et al., 2007)	Tg2576			-		-			
(Gil-Bea et al., 2007)	Tg2576		+						
(Jacobsen et al., 2006)	Tg2576					-			
(Ohno et al., 2006)	Tg2576					-			
(Comery et al., 2005)	Tg2576					-			
(Ognibene et al., 2005)	Tg2576	-	+	-					
(Dong et al., 2005)	Tg2576			-		-			
(Barnes et al., 2004)	Tg2576				-		0		-
(Middei et al., 2004)	Tg2576			-		-			
(Lalonde et al., 2003)	Tg2576		+						-
(Stackman et al., 2003)	Tg2576			-					
(Corcoran et al., 2002)	Tg2576					-/0	0		-
(Kotilinek et al., 2002)	Tg2576			-					
(King and Arendash, 2002)	Tg2576	-	+	0		-			
(Westerman et al., 2002)	Tg2576			-					
(King et al., 1999)	Tg2576		+	-		-			
(Hsiao et al., 1996)	Tg2576		+	-					
(Westerman et al., 2002)	Tg2576			-					
(Jardanhazi-Kurutz et al., 2010)	APP/PS1			-					
(Cotel et al., 2010)	APP/PS1		+		-				
(Filali et al., 2009)	APP/PS1					-	-		-
(Pugh et al., 2007)	APP/PS1		-						
(Costa et al., 2007)	APP/PS1	-		-	-				
(Arendash et al., 2006)	APP/PS1	-		-					
(Sadowski et al., 2004)	APP/PS1			-					
(Howlett et al., 2004)	APP/PS1	-							
(Trinchese et al., 2004)	APP/PS1				-				
(Arendash et al., 2001)	APP/PS1		+	-					0
(Holcomb et al., 1999)	APP/PS1		+	-					
(Wirhith et al., 2008)	APP/PS1 ki				-				-
(Faure et al., 2009)	APP/PS1 ki		+	-					
(Hanna et al., 2009)	Tg CRND8			-		-			
(Gortz et al., 2008)	Tg CRND8			-					
(Lovasic et al., 2005)	Tg CRND8			-					
(Chishti et al., 2001)	Tg CRND8			-					
(Janus et al., 2000)	Tg CRND8			-					
(Adriani et al., 2006)	APPswe		+	-					
(Savonenko et al., 2003)	APPswe				0				
(Chapman et al., 1999)	APPswe				-				
(King et al., 1999)	APPswe		+	-					
(Kelly et al., 2003)	APP23			-	-	-			
(Van Dam et al., 2003)	APP23		+	-					
(Lalonde et al., 2002)	APP23		-	-					
(Huitron-Resendiz et al., 2002)	PDAPP		+	-					
(Chen et al., 2000b)	PDAPP	0			-				
(Dodart et al., 1999)	PDAPP	-		-					
(Leighty et al., 2004)	PDAPP (4 lignées ≠)	-		-					
(Morgan et al., 2000)	PS1 Tg2576				-				
(Arendash et al., 1999)	PS1 Tg2576								0
(Holcomb et al., 1998)	PS1 Tg2576		+						-
(Blanchard et al., 2009)	aAPP751SL		+	-		-			
(Blanchard et al., 2008)	APP751SL			-					
(Rustay et al., 2010)	B6SJL		+			-			-
(Rustay et al., 2010)		129	+			-			-
(Richardson et al., 2003)	TAS10			-	-				
(Moran et al., 1995)	NSE-βAPP51			-					-
(Devi and Ohno, 2010)	5xFAD					-			
(Moechars et al., 1999)	APPWU4		+	-					
(Moechars et al., 1999)	APP/Ld/2		+	-					
(Wang et al., 2010a)	3xTgAD					-			
(Sterniczuk et al., 2010)	3xTgAD		-						

2.2. Troubles olfactifs

Malgré un intérêt croissant pour les altérations olfactives observées au cours de la MA chez l'homme, les déficits olfactifs dans les modèles transgéniques ont été rarement étudiés, quatre études seulement étant disponibles dans la littérature. Le passage au modèle animal apparaît pourtant crucial pour l'étude des mécanismes patho-physiologiques sous-tendant les premières étapes et le développement de la maladie.

Les souris Tg2576 présentent un déficit d'habituation (Guérin et al., 2009; Wesson et al., 2010), indiquant un déficit de mémoire olfactive à court-terme alors que la détection des odeurs à niveau supraliminaire est normale. Les souris APP23 présentent par ailleurs un défaut de prise alimentaire et une perte de poids (Vloeberghs et al., 2008) mais qui n'ont pas été dans ce travail reliés à des troubles olfactifs. Enfin, une étude a mesuré le nombre d'odeurs qu'une souris peut garder en mémoire pour réussir un apprentissage dont la règle est que la récompense se trouve associée à une odeur nouvelle, alors que les odeurs présentées dans les essais précédents s'accumulent dans l'enceinte expérimentale. Les souris Tg2576 à 8 mois montrent un déficit dans ce test, faisant significativement plus d'erreurs dès que le nombre d'odeurs à retenir dépasse 8 (Young et al., 2009).

3. Apport des modèles animaux à la théorie amyloïde de la maladie d'Alzheimer

La découverte de mutations causales de la MA affectant le gène de l'APP ou de la préséniline qui contribue au clivage de l'APP, combinée à l'envahissement du cerveau par les plaques séniles ont conduit à l'idée selon laquelle le peptide β amyloïde serait au cœur du processus pathogène. Les modèles animaux transgéniques reproduisant les dépôts amyloïdes et les déficits mnésiques observés dans la MA ont été largement étudiés dans le but de mieux comprendre l'origine et le rôle du peptide β amyloïde, dans la physiologie et dans la pathologie.

3.1. Origine du peptide β amyloïde

Le peptide β amyloïde peut être constitué de 36 à 43 amino-acides. Ces peptides résultent du clivage de l'APP, protéine transmembranaire ubiquiste concentrée au niveau des synapses neuronales. Le mécanisme de clivage de la protéine est bien connu et peut mettre en jeu deux voies distinctes (pour revue, (Chow et al., 2010)). La voie non amyloïdogène consiste en un clivage de l'APP par l' α -sécrétase qui libère la partie N-terminale de l'APP, la protéine α -sAPP. Le fragment C-terminal résultant de ce clivage est la protéine CTF83 qui est ensuite clivée par la γ -sécrétase libérant les fragments AICD50 (facteur de transcription) et P3.

Le processus amyloïdogène est initié par la β -sécrétase ou BACE (β -site APP cleaving enzyme) qui clive l'APP au niveau N-terminal du domaine du peptide β amyloïde. Ainsi, une protéine soluble β -sAPP et un peptide C99 membranaire sont formés. Le segment CTF 99 est ensuite clivé par la γ -sécrétase libérant le peptide β amyloïde (Figure 21). Ce peptide s'agrège spontanément sous diverses formes qui coexistent : des oligomères de 2 à 6 peptides, des fibrilles (Jarrett et al., 1993; Bitan et al., 2003) et des feuilles qui constituent les fibres insolubles des plaques séniles (pour revue, (Querfurth and LaFerla, 2010)). L'activité neuronale module le métabolisme de l'APP : la stimulation de l'activité neuronale accroît la production de peptide β amyloïde tandis que le blocage de l'activité neuronale produit les effets inverses (Kamenetz et al., 2003; Cirrito et al., 2005).

Les rôles de l'APP et des différents éléments résultant de son clivage ne sont pas bien connus mais font l'objet de recherche intense qui dépasse le propos de notre travail (pour une revue sur ces questions (Chow et al., 2010)).

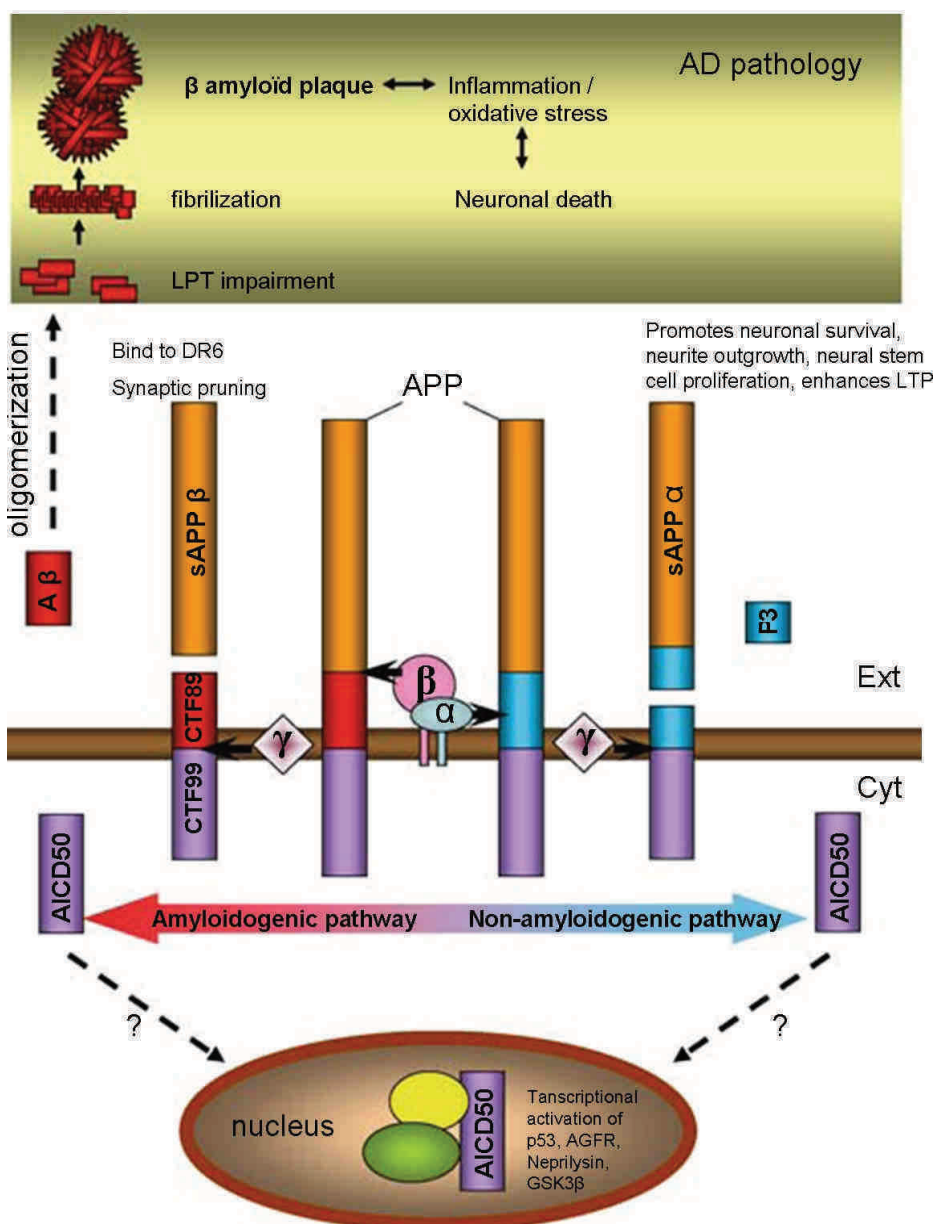


Figure 21 : Schéma des voies amyloïdogènes et non amyloïdogènes d'après (Chow et al., 2010).
 Ext : milieu extracellulaire ; Cyt : cytosol ; DR6 : Death Receptor 6

3.2. Toxicité synaptique et cellulaire du peptide β amyloïde

Des études récentes chez la souris puis confirmées chez l'homme montrent une corrélation robuste entre le niveau d'oligomères du peptide β amyloïde et l'étendue des troubles cognitifs et des pertes synaptiques (Lue et al., 1999; McLean et al., 1999; Wang et al., 1999; Naslund et al., 2000; Klein et al., 2001; Caughey and Lansbury, 2003; Savonenko et al., 2005; Chiti and Dobson, 2006; Ferreira et al., 2007; Haass and Selkoe, 2007; LaFerla et al., 2007; Selkoe, 2008). Les formes de peptide β amyloïde dimériques et trimériques sont les plus toxiques, induisant des dysfonctions cellulaires sévères (pour revue voir (Sakono and Zako,

2010)) altérant la plasticité synaptique (Klyubin et al., 2008; Selkoe, 2008) et plus particulièrement la LTP (Lambert et al., 1998; Kirkitadze et al., 2002; Walsh et al., 2005; Jacobsen et al., 2006; Lesne et al., 2006; Selkoe, 2008). Cette toxicité est variable suivant le type cellulaire (Kim et al., 2003), et la taille des oligomères (Ono et al., 2009).

L'augmentation synaptique d'oligomères de peptide β amyloïde perturbe la transmission glutamatergique (Selkoe, 2002; Hsieh et al., 2006) et la LTP, en réduisant l'activation des récepteurs NMDA, favorisant les processus de dépression à long terme au détriment de la LTP (Selkoe, 2008). Ces altérations de la transmission glutamatergique proportionnelles à la concentration en peptide β amyloïde et en oligomères, sont dans les premiers temps fluctuantes et très légères, et pourraient expliquer les altérations mnésiques très discrètes qui surviennent en tout début de maladie (Selkoe, 2002). Cette théorie synaptique de la MA rend bien compte du tableau clinique et de sa progression et permet de mieux comprendre la difficulté rencontrée pour corrélérer la densité en plaques séniles aux troubles cognitifs. Le critère pertinent serait donc plus la concentration en oligomères que les plaques qui reflèteraient plutôt le taux de peptide β amyloïde neutralisé par son agrégation en fibrilles.

Enfin, le peptide β amyloïde pourrait contribuer à la mort cellulaire par différents mécanismes comme par exemple l'induction de radicaux libres, entraînant un accroissement du stress oxydatif cellulaire (Butterfield and Bush, 2004), l'inhibition de la respiration mitochondriale (Casley et al., 2002), la modification du transport du cholestérol (Yao and Papadopoulos, 2002) ou l'accroissement de l'influx de calcium (Lin et al., 2001).

A l'appui d'un rôle majeur voire causal de l'accumulation du peptide β amyloïde, les traitements chez l'animal par vaccination anti-peptide β amyloïde ou par l'injection d'anticorps monoclonaux anti-peptide β amyloïde protègent des dépôts et limitent les pertes cognitives, voire les annulent (Dodart et al., 2002; Kotilinek et al., 2002; Morgan, 2006; Klyubin et al., 2008; Bach et al., 2009; Foster et al., 2009; Cribbs, 2010; Wang et al., 2010b). Les études menées chez l'animal semblent donc plutôt positives mais devront attendre confirmation de leur potentiel thérapeutique chez l'homme (pour revue voir (Wisniewski and Boutajangout, 2010).

3.3. Peptide β amyloïde et neuroinflammation

La neuroinflammation s'observe essentiellement autour des plaques séniles ((Delacourte, 1990; Heneka et al., 2006; Zilka et al., 2006; Eikelenboom et al., 2008; Wisniewski and Boutajangout, 2010); pour revue (Heneka et al., 2010a)) et est associée à une surexpression de cytokines pro-inflammatoires (Rogers and Lue, 2001).

La neuroinflammation, et plus précisément l'activation microgliale joue des rôles contradictoires au cours de la MA (Querfurth and LaFerla, 2010). Dans un premier temps, les

cellules microgliales phagocytent et dégradent le peptide β amyloïde. Dans un second temps, l'activation chronique de ces cellules conduit à la libération de molécules pro-inflammatoires telles que les chémokines et de cytokines (Akiyama et al., 2000).

Des études *in vitro* ont montré que le peptide β amyloïde induit l'expression de cytokines telles que l'IL-1 β , TNF- β , et IL-6 également par les astrocytes (Gitter et al., 1995; Mehlhorn et al., 2000). Des injections intra-corticales de β amyloïde induisent une réponse inflammatoire microgliale (iNOS et IL-1 β) et astrocytaire (Weldon et al., 1998; Heneka et al., 2002) et IL-6 est détectée dans les stades précoces de la formation de plaques séniles (Luterman et al., 2000; Mehlhorn et al., 2000). Or les cytokines pro-inflammatoires sécrétées par les cellules microgliales et les astrocytes en réponse à la présence de dépôts amyloïdes régulent à la baisse les gènes intervenant dans la clairance du peptide β amyloïde, et favorisent son accumulation (Hickman et al., 2008). De plus, l'augmentation du taux de libération de certaines interleukines favorise la phosphorylation de la protéine Tau (Quintanilla et al., 2004). Ainsi, astrocytes et cellules microgliales participeraient non seulement à l'enrichissement en dépôts amyloïdes, mais également à l'accroissement du taux de protéine Tau hyper phosphorylée. Le processus inflammatoire contribuerait par ces actions à la dysfonction neuronale et à la mort cellulaire dans la MA (Akiyama et al., 2000).

3.4. La cascade amyloïde : révision de la théorie

La théorie de la cascade amyloïde domine actuellement les hypothèses sur l'origine et le développement de la MA. Elle est soutenue par les nombreuses données que nous venons d'exposer (Price and Sisodia, 1998; Hardy and Selkoe, 2002). Certaines données cependant s'intègrent mal ou sont peu prises en compte par cette théorie comme la présence de plaques séniles chez certains sujets sains (Villemagne et al., 2008), l'apparition relativement tardive des dépôts amyloïdes dans les stades de Braak, la meilleure corrélation des altérations cognitives avec les dégénérescences neurofibrillaires qu'avec les dépôts amyloïdes (Braak and Braak, 1998; Gosche et al., 2002; Giannakopoulos et al., 2003; Josephs et al., 2008), ainsi que certains essais thérapeutiques dirigés contre la protéine amyloïde aux résultats incertains ((Wisniewski and Boutajangout, 2010) pour revue). De plus la théorie amyloïde n'explique pas la susceptibilité des systèmes cholinergique et noradrénergique dans la MA.

Ainsi, la théorie amyloïde proposée dans les années 90 (selon laquelle la production accrue et la diminution de la clairance du peptide β amyloïde est la cause de la MA) a évolué (Pimplikar, 2009). Les formes insolubles de la protéine amyloïde ne seraient pas responsables de processus pathologiques (Caughey and Lansbury, 2003). Par contre les formes solubles du peptide β amyloïde seraient des agents toxiques, les plaques représentant peut être une forme de stockage du peptide (Klein et al., 2001; Walsh and Selkoe, 2004; Glabe, 2005).

Enfin, le peptide β amyloïde s'accumulerait d'abord en intracellulaire pour un effet toxique encore à élucider (Gouras et al., 2000; Knobloch et al., 2007; LaFerla et al., 2007) (Figure 22). Cette hypothèse est compatible avec les effets limités observés dans les thérapies immunologiques (Pimplikar, 2009).

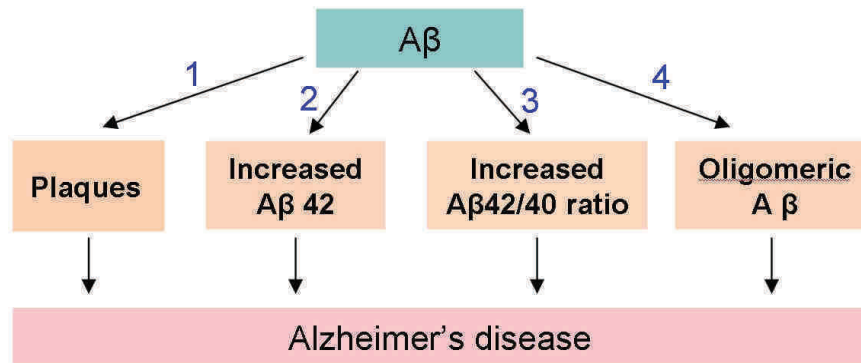


Figure 22: La théorie amyloïde (schéma d'après (Querfurth and LaFerla, 2010)). L'hypothèse amyloïde repose sur l'idée première selon laquelle le peptide $A\beta$ serait la première cause de la maladie d'Alzheimer. (1) La première proposition fut que la production accrue de $A\beta$ conduit à la formation de plaques, qui conduit à la maladie. Les observations de forme familiale de la maladie avec augmentation de formation de $A\beta$ 42 ont conduit à une seconde hypothèse (2) : L'accroissement de $A\beta$ 42 serait la cause pathogène de la MA. Une variation de cette hypothèse (3) propose que ce soit le ratio $A\beta$ 42/40 qui serait à prendre en compte, plutôt que la quantité absolue de $A\beta$ 42. Enfin, les données récentes ont conduit à l'hypothèse privilégiée selon laquelle ce sont les formes solubles de $A\beta$ (oligomères) qui seraient responsables de la pathologie (4).

4. Implication de la protéine Tau

Au même titre que la protéine β amyloïde, la protéine Tau serait un des facteurs conduisant aux modifications pathologiques dans la MA (Pimplikar, 2009). Nous avons vu précédemment que la protéine Tau anormale et hyperphosphorylée est le composant majoritaire des dégénérescences neurofibrillaires. En abondance dans la cellule, la protéine Tau favorise l'assemblage des microtubules, leur stabilité et le transport vésiculaire. Hyperphosphorylée, la protéine devient insoluble et perd son affinité pour les microtubules, finissant par s'associer en filaments hélicoïdaux qui s'agglomèrent ensuite (pour revue (Querfurth and LaFerla, 2010)). Tout comme dans la MA, ce sont les formes intermédiaires agrégées qui altèrent les performances cognitives (Santacruz et al., 2005; Oddo et al., 2006) et sont cytotoxiques (Khlistunova et al., 2006). De plus, les niveaux de protéine Tau phosphorylée dans le fluide cébrospinal sont corrélés avec les altérations cognitives chez les patients (Wallin et al., 2006).

Toutefois, aucune mutation de la protéine Tau n'est observée dans les cas de MA familiale (Querfurth and LaFerla, 2010), semblant exclure le rôle causal des dégénérescences

fibrillaires dans la MA. De plus, dans des modèles murins, l'accumulation de peptide β amyloïde précède et semble diriger l'agrégation de la protéine Tau (Gotz et al., 2001; Lewis et al., 2001; Oddo et al., 2003a).

5. Altérations des systèmes neuromodulateurs chez la souris

5.1. Système cholinergique

Les modèles amyloïdes montrent une perte de terminaisons cholinergiques à proximité des plaques séniles (Luth et al., 2003) et une altération globale des fibres cholinergiques corticales chez les animaux âgés (Hu et al., 2003; Klingner et al., 2003; Bell and Claudio Cuello, 2006; Bell et al., 2006), ainsi qu'une baisse du nombre de récepteurs muscariniques et nicotiques (Apelt et al., 2002). Des mécanismes compensatoires pourraient se mettre en place, comme par exemple une modulation des transporteurs de l'ACh, qui sont significativement augmentés dans les régions contenant de grandes quantités de plaques amyloïdes (Klingner et al., 2003).

5.2. Système noradrénergique

Une dégénérescence précoce du LC a été mise en évidence dans un modèle murin (Tg2576) (Guérin et al., 2009) alors que d'autres montrent un rétrécissement des corps cellulaires du LC (German et al., 2005) ou pas de modification chez les APP23 ou APP/PS1 (Heneka et al., 2006; Jardanhazi-Kurutz et al., 2010). L'origine de ces différences est intrigante et n'est pas connue à ce jour, mais elles suggèrent une possible interdépendance entre peptide β amyloïde et système noradrénergique, au moins dans certains modèles. Par ailleurs, une déplétion en NA chez les APP23 diminue la densité des boutons cholinergiques alors qu'aucun effet n'est observé chez les animaux âgés contrôles (Heneka et al., 2006). La dégénérescence du LC pourrait donc contribuer aux déficits cholinergiques observés dans la MA. Enfin, au niveau des terminaisons synaptiques, une amélioration de la liaison aux récepteurs noradrénergique $\alpha 1$ chez les souris Tg2576 est observée (Klingner et al., 2003). Ce type d'amélioration de la liaison pourrait exister chez l'homme et compenser partiellement la diminution d'expression des autorécepteurs $\alpha 1A$, $\alpha 1D$ et $\alpha 2C$ constatée (Szot et al., 2007). Malgré cette plasticité mise en jeu au cours de la maladie, la compensation noradrénergique semble insuffisante pour maintenir une fonction noradrénergique satisfaisante.

De manière très intéressante et nouvelle, il a été montré récemment que la déplétion noradrénergique expérimentale par injection systémique de DSP4 augmente les dépôts amyloïdes (Heneka et al., 2002; Heneka et al., 2006; Kalinin et al., 2007; Jardanhazi-Kurutz et al., 2010) alors que la dégénérescence cholinergique n'a pas d'effet sur l'amyloïdogenèse (Boncristiano et al., 2002). Cette donnée indique un lien possible entre la dégénérescence précoce des neurones NA et la progression des dépôts amyloïdes dans la MA chez l'homme et suggère une place importante du système noradrénergique dans la pathologie.

5.3. Systèmes sérotoninergique et dopaminergique

Le système sérotoninergique reste très peu exploré chez les modèles de MA, mais des altérations de la liaison aux récepteurs sérotoninergiques ont été décrites dans le modèle Tg2576 (Apelt et al., 2002; Klingner et al., 2003). Le système sérotoninergique semble moduler la production de peptide β amyloïde puisque la stimulation des récepteurs 5HT-4 inhibe la sécrétion de A β 40-42 (Lezoualc'h and Robert, 2003; Cho and Hu, 2007) et améliore les performances cognitives (Marchetti-Gauthier et al., 1997; Galeotti et al., 1998). Enfin, il semblerait que la dopamine puisse influencer également l'amyloïdogenèse : la dopamine et le L-dopa désagrègent les fibrilles de β amyloïde (Li et al., 2004).

6. Altérations neurogéniques

La neurogenèse au cours de la MA a été étudiée dans différents modèles, principalement dans le gyrus denté, (voir pour revue : (Lazarov and Marr, 2010)) alors que la neurogenèse bulbaire a très peu été étudiée.

Dans les deux régions, des observations parfois contradictoires sont publiées. Certaines études relatent une diminution de la prolifération dans la ZSG dans les modèles transgéniques de MA (Haughey et al., 2002a; Haughey et al., 2002b; Dong et al., 2004; Wang et al., 2004; Donovan et al., 2006; Zhang et al., 2007; Gan et al., 2008; Niidome et al., 2008; Rodriguez et al., 2008; Faure et al., 2009; Rodriguez et al., 2009) ainsi que dans la ZSV (Haughey et al., 2002a; Haughey et al., 2002b; Gan et al., 2008; Rodriguez et al., 2008; Rodriguez et al., 2009). D'autres travaux suggèrent une augmentation de prolifération dans la SGZ (Jin et al., 2004; Lopez-Toledano and Shelanski, 2007; Ermini et al., 2008) et dans la ZSV (Jin et al., 2004). Enfin, dans certains cas, aucune modification de prolifération dans la ZSG (Verret et al., 2007a) ou la ZSV (Niidome et al., 2008; Guérin et al., 2009) n'est détectée. Ces différences pourraient être liées aux âges des animaux au moment des observations et au modèle. L'altération de la prolifération est liée à la sévérité de l'accumulation de peptide β

amyloïde puisque la diminution de prolifération dans la ZSG se corrèle avec la quantité d'oligomères (Lopez-Toledano and Shelanski, 2007). Dans ce sens, une autre étude montre que l'immunothérapie favorise la survie des nouveaux neurones hippocampiques (Biscaro et al., 2009).

Très peu de données existent concernant la survie des nouveaux neurones dans le gyrus denté de l'hippocampe et dans le BO. Mais concernant cet aspect, la littérature semble équivoque, rapportant une diminution de la survie dans la ZSG (Haughey et al., 2002a; Wen et al., 2002; Donovan et al., 2006; Verret et al., 2007b; Verret et al., 2007a; Niidome et al., 2008; Faure et al., 2009) sauf chez les souris PrP-PS1de9 (Verret et al., 2007a). Une seule étude a mesuré la survie des néo-neurones dans le BO et montre une altération chez les Tg 2576 (Guérin et al., 2009).

La phosphorylation de la protéine Tau semble également avoir un effet sur la neurogenèse. Chez la souris, une suractivation de la GSK-3 une protéine kinase de la protéine Tau entraîne un accroissement de la prolifération dans le gyrus denté, sans effet sur la survie et la différenciation (Hong et al., 2009).

Enfin, nous avons évoqué le rôle positif de la NA pour la survie et l'intégration des nouveaux neurones. Les altérations précoces du système noradrénergique dans la MA pourraient également contribuer aux altérations neurogéniques observées dans la MA.

VI. Hypothèses de travail et objectifs de la thèse

La MA est une pathologie complexe, affectant de nombreux compartiments fonctionnels et structuraux du système nerveux, dont le diagnostic et le traitement restent peu satisfaisants alors que son poids sociétal grandit.

Il apparaît qu'en dépit d'un effort de recherche très important et malgré des avancées majeures dans la compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires altérés dans la pathologie, l'origine de la maladie n'est pas établie. Les efforts doivent donc porter sur l'étude des mécanismes initiaux de la maladie pour accéder aux événements primaires, déterminants pour son déclenchement et son évolution. Dans ce contexte, la présence de pertes olfactives précoces dans la MA suggère que le système olfactif pourrait constituer un bon modèle pour rechercher les mécanismes patho-physiologiques initiaux de la MA.

Les altérations olfactives précoces sont systématiquement reportées dans la MA chez l'homme, mais c'est seulement par l'étude de modèles animaux que nous pourrions accéder aux mécanismes sous-jacents responsables de ces altérations. L'étude de ces altérations pathologiques requiert avant tout la caractérisation du vieillissement normal du système olfactif chez l'animal. Or la littérature est très pauvre concernant ce sujet et les tests comportementaux réalisés sont peu spécifiques des différents aspects de la perception olfactive comme la discrimination ou la mémoire. De plus, la plupart des études comparent des animaux très jeunes avec des animaux très âgés, mais ne fournissent pas de données sur l'évolution chronologique des troubles observés.

Au cours d'une première étude, nous avons donc étudié le vieillissement normal du système olfactif chez la souris. Il était nécessaire de mettre au point des tests comportementaux permettant une évaluation de la sévérité des troubles olfactifs observés en termes de discrimination et de mémoire et à différentes étapes du vieillissement. A l'échelle cellulaire, nous avons choisi de nous focaliser sur le bulbe olfactif, une structure très plastique, lieu de neurogenèse et qui est fortement modulée par les neurotransmetteurs impliqués dans la MA, en particulier la NA. Plus précisément, nous avons fait l'hypothèse que les troubles olfactifs survenant au cours du vieillissement pourraient être liés à des altérations de la neurogenèse bulbaire, dont l'implication dans les processus cognitifs olfactifs est fortement suggérée par la littérature. Enfin, l'importance fonctionnelle du système noradrénergique pour les performances olfactives et ses interactions possibles avec la neurogenèse laissent penser que ce système pourrait aussi être impliqué dans le déclin des fonctions olfactives. Enfin, nous avons souhaité évaluer non seulement le fonctionnement de base du système olfactif mais aussi l'évolution de sa plasticité au cours du vieillissement. Pour cela, nous avons choisi

de tester l'effet d'un enrichissement olfactif, connu chez l'animal jeune pour ses effets bénéfiques sur la mémoire, la discrimination et la neurogenèse, et dont les effets sont en partie médiés par le système noradrénergique. Ainsi, dans cette première étude, la mémoire et la discrimination des odeurs ainsi que le taux de neurogenèse bulbaire (prolifération, différenciation neuronale et survie), l'état du LC et l'organisation générale du BO ont été évalués chez des souris de 2, 10 et 23 mois placées en environnement standard, ou en environnement enrichi en odeurs.

Dans un deuxième travail, nous avons comparé les performances observées chez des souris contrôles à celles observées chez des souris modèles de MA, les souris APP/PS1, possédant un phénotype amyloïde bien caractérisé, de façon à mettre en évidence les déficits spécifiquement liés à la pathologie et pas seulement au vieillissement normal. Dans ce travail également nous avons souhaité compléter le phénotype amyloïde des souris transgéniques par un déficit noradrénergique, de façon mieux à modéliser la pathologie humaine. En effet, un déficit noradrénergique profond existe dans la MA mais ses implications fonctionnelles ont été très peu étudiées. Des études récentes indiquant une aggravation de la charge amyloïde dans l'hippocampe après lésion du LC, nous ont conduits à rechercher l'impact du déficit noradrénergique sur l'évolution des troubles olfactifs. La déplétion noradrénergique a été induite par injections chroniques de DSP4, une neurotoxine qui conduit à la dégénérescence des neurones noradrénergiques issus du LC. Ces travaux constituent donc la seconde étude de la thèse dans laquelle nous avons évalué les performances comportementales des animaux dans les tests de mémoire et de discrimination olfactives et la charge amyloïde dans le BO chez des souris contrôles, APP/PS1 et APP/PS1 dont le LC a été lésé.

METHODES

Dans ces travaux, les capacités de discrimination spontanée sont mesurées par un test d'habituation-deshabituaiton (Cleland et al., 2002; Cleland and Narla, 2003), et la mémoire olfactive à court terme est mesurée par un test de reconnaissance d'odeurs (Veyrac et al., 2007; Veyrac et al., 2009). Ces tests reposent sur la mesure de temps d'investigation des odeurs. Dans l'étude 1, le temps d'investigation est acquis par un système de videotrack en utilisant une planche à trou odorisée. Ces méthodes sont décrites en détail dans l'article reproduit ci-après.

Dans l'étude 2, les temps d'investigation des odeurs lors du test d'habituation-deshabituaiton sont acquis manuellement en aveugle par l'expérimentateur car le test est effectué dans des cages identiques aux cages d'hébergement des animaux. Le test de mémoire est mené sur la planche à trou, et le temps d'investigation est acquis de manière automatisée grâce à des capteurs localisés dans les trous de la planche (Mandairon et al., 2009).

A computer-assisted odorized hole-board for testing olfactory perception in mice.

Mandairon N, Sultan S, Rey N, Kermen F, Moreno M, Busto G, Farget V, Messaoudi B, Thevenet M, Didier A.

J Neurosci Methods. 2009 Jun 15;180(2):296-303.



A computer-assisted odorized hole-board for testing olfactory perception in mice

Nathalie Mandairon*, Sébastien Sultan, Nolwen Rey, Florence Kermen, Mélissa Moreno, Germain Busto, Vincent Farget, Belkacem Messaoudi, Marc Thevenet, Anne Didier

Université Lyon 1, Université de Lyon, CNRS, UMR5020, Neurosciences Sensorielles, Comportement, Cognition, Lyon, F-69007, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 February 2009

Received in revised form 7 April 2009

Accepted 10 April 2009

Keywords:

Behavior

Olfaction

Hole-board

Mice

ABSTRACT

The present paper describes a behavioral setup, designed and built in our laboratory, allowing the systematic and automatic recording of performances in a large number of olfactory behavioral tests. This computerized monitoring system has the capability of measuring different aspects of olfactory function in mice using different paradigms including threshold evaluation, generalization tasks, habituation/dishabituation, olfactory associative learning, short-term olfactory memory with or without a spatial component, and olfactory preferences. In this paper, we first describe the hole-board apparatus and its software and then give the experimental results obtained using this system. We demonstrate that one single, easy-to-run experimental setup is a powerful tool for the study of olfactory behavior in mice that has many advantages and broad applications.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The olfactory system is unique among brain structures in that it (1) is the target of an important adult neurogenesis (Lledo et al., 2006), (2) is heavily innervated by well-defined neuromodulatory systems known to be important for memory and neural plasticity (Luskin and Price, 1982; Shipley et al., 1996; Linster et al., 2003; Mandairon et al., 2006a, 2008a), and (3) is impaired in normal (Thomas-Danguin et al., 2003; Seiberling and Conley, 2004; Westenhoefer, 2005; Wilson et al., 2006; Hummel et al., 2007) and pathologic aging for example in Alzheimer's disease (Devanand et al., 2000; Kovacs et al., 2001; Wilson et al., 2007). In the field of olfaction, there has been explosive growth over the past decade in the understanding of the behavioral consequences of network modulation (Kaba and Keverne, 1988; Ravel et al., 1994; Sullivan and Wilson, 1994; Linster et al., 2001; Mandairon et al., 2006b,c, 2008b; Kiselycznyk et al., 2006; Doucette et al., 2007; Guerin et al., 2008) as well as the consequences of learning on the neural network (Gray et al., 1986; Kay et al., 1996; Kay and Laurent, 1999; Buonviso and Chaput, 2000; Rochefort et al., 2002; Spors and Grinvald, 2002; Fletcher and Wilson, 2003; Martin et al., 2004, 2006; Alonso et al., 2006; Mandairon et al., 2006a, 2008b; Woo et al., 2007; Beshel et al., 2007). This explains the growing interest for behavioral research into olfaction in mice. The research

literature on olfactory system includes many behavioral studies that have used associative learning, positive or negative reinforcements, and observation of spontaneous behavior. However, because there exists no behavioral setup allowing a systematic and automatic recording of a large number of olfactory behavioral tests, the purpose of this paper is to describe a computerized monitoring system, designed and built in our laboratory, which has the capability of assessing olfactory detection, discrimination, memory and spontaneous preferences. This was done using olfactory threshold evaluation, habituation/dishabituation and generalization tasks, associative and non-associative learning (with or without a spatial component) and measurement of odor attractiveness. The detailed presentation of the experimental setup will be followed by the experimental results obtained using this system. The advantages and broader possible applications of this experimental setup will also be outlined.

2. Materials and methods

2.1. The apparatus

All behavioral experiments were conducted using a specially designed computer-assisted hole-board apparatus (Fig. 1A). This consisted of a flat, square board, 60 mm thick with 400 mm sides (Fig. 1B and C) with five holes (36 mm diameter) able to receive glass containers (30 mm inside diameter, 45 mm deep; Fig. 1D). Masks were used to hide or uncover the holes, meaning that the board could be configured with one to five holes, as required for each experiment (Fig. 1E). The masks were made of Teflon® PTFE (polytetrafluoroethylene) and were easy to remove and clean. When a hole

* Corresponding author at: Laboratoire de Neurosciences Sensorielles, Comportement, Cognition, Université de Lyon, 50 Avenue Tony Garnier, Lyon, F-69007, France. Tel.: +33 437 287 499; fax: +33 437 287 602.

E-mail address: nathalie.mandairon@olfac.univ-lyon1.fr (N. Mandairon).

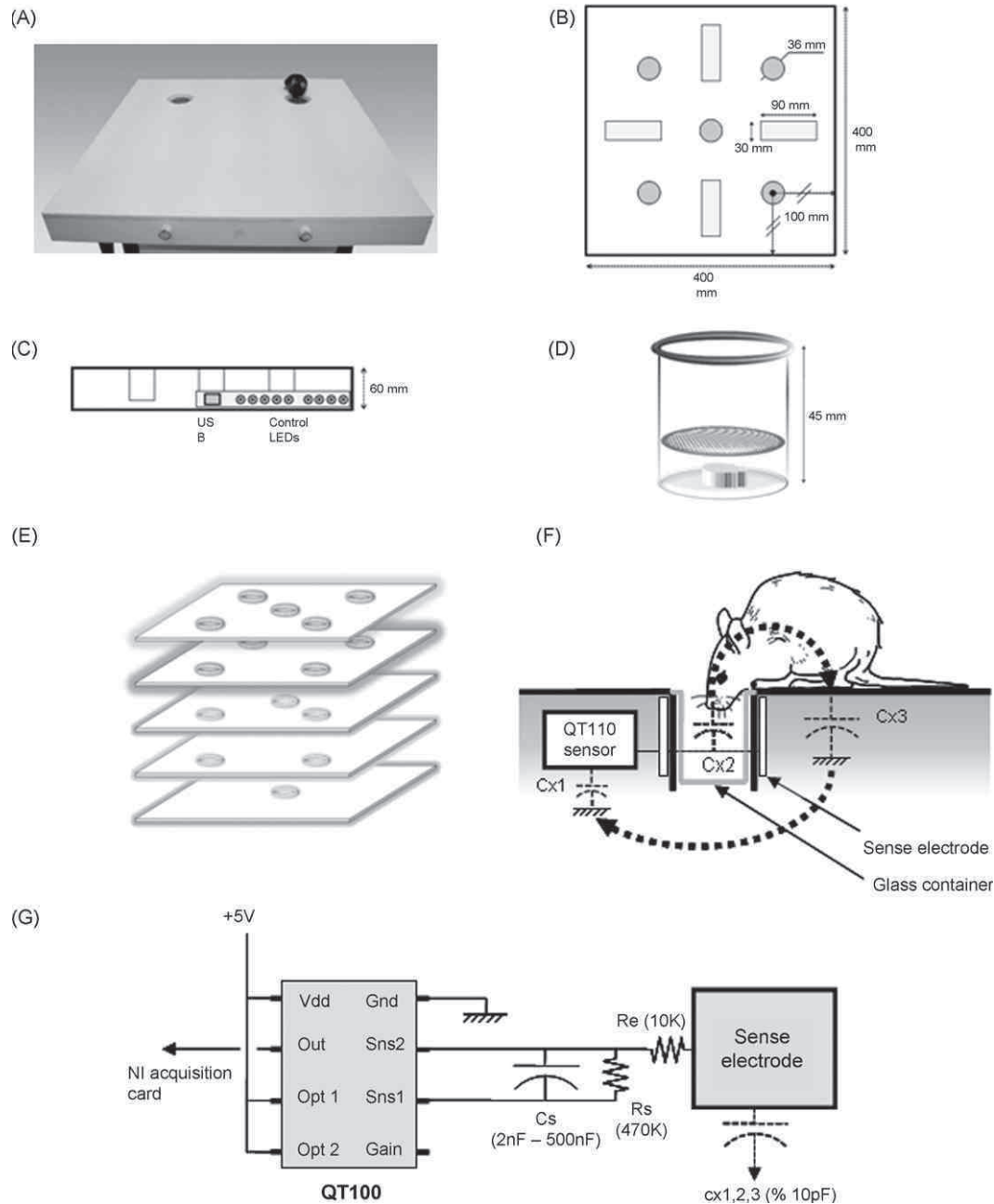


Fig. 1. Experimental setup. (A) The actual setup. (B and C) The computer-assisted hole-board apparatus consisted of a flat, square board, 60 mm thick with 400 mm sides in which five holes had been bored (36 mm diameter) to receive glass containers (30 mm inside diameter, 45 mm deep). The mouse could also be detected when traversing four rectangular areas located between the holes. (D) In each used hole, a polypropylene swab was placed under a metal grid at the bottom of the glass container and covered with bedding. (E) Several masks were used to hide or uncover the holes and allowed the hole-board to be configured for each experiment with from 1 to 5 holes. (F) The capacitance sensor uses Kirchoff's current law to detect a change of capacitance in an electrode. (G) Basic QT110 (Quantum Research Group®) circuit for the electronic cards used in the hole-board.

was in use, a polypropylene swab was placed under a metal grid at the bottom of the glass pot and covered with bedding (Fig. 1D). For trials involving odors, the swab was impregnated with the odorant at the appropriate concentration or with mineral oil for the controls. The bedding was replaced after each trial.

Five cylinder-shaped electrodes (positioned all around the hole) (Fig. 1F) were used to detect the presence of the mouse's nose in the holes and four rectangular electrodes, located between the holes were used to detect the position of the mouse on the board (Fig. 1B). The physical principle is based on charge-transfer. The presence of the mouse' nose in the hole induces a variation of capacitance detected by the electrode which is directly connected to an integrated circuit. This integrated circuit (QT110) uses Kirchoff's current

law to detect a change of capacitance in the electrode (Fig. 1F) and generates an output transistor-transistor logic (TTL) signal (5 V) which is sent to an acquisition card (Fig. 1G).

Finally, the nine electrodes, five for the holes and four for the areas between the holes, were connected to nine small electronic cards placed under the upper surface of the board. Adjusting the sensitivity of each detector was possible by modifying the capacity (C_s) in the electronic circuit. The nine TTL signals were sent to an analog data acquisition card (National Instrument® NI USB-6000 series card) with the USB connector located on one edge of the hole-board. LEDs were also added to give visual confirmation that the system was functioning correctly. The electronic cards were powered via the USB connection.

2.2. The hole-board software

Any PC with a USB port could use the software we developed under LabView 8.5 (using DAQmx) (see: <http://olfac.univ-lyon1.fr/unite/equipe-07/activite/holebox.html> and for the software, contact the authors) after installing the appropriate NI acquisition card driver and the run-time program. Acquisition signal frequency was set at 100 Hz per channel which was sufficient to sample mouse detection and poking.

A user graphic interface was designed to perform several tasks and each experimenter could be logged and retrieve his global parameters. In testing mode, the hole-board is manually configured for each trial and the experimenter is free to test any configuration (selected holes and areas, odors, sensitivity of sensors). In protocol mode, a tool allows for the creation of protocols where every detail of the experiment is described. A text file is written containing the list of trials, details of the activated holes and areas, the odor stimulus and its distribution, and the maximal duration of the current trial.

During acquisition, all events (TTL signals) and their latency are monitored and stored in a results table. The different events that may occur were:

- The first TTL signal, coming from one of the four position electrodes, which was used to start the timer.
- The mouse enters or leaves an area.
- The mouse's nose pokes into a hole or leaves a hole.
- Additional keyboard event to log specific information (user-defined).

Results can be exported to a data-base for off-line analysis. In protocol mode, the trials are automatically sequenced but an inter-trial pause is proposed so that the experimenter can change the odorant swab if necessary.

2.3. Odorants

The odorants were presented pure or diluted in mineral oil proportionally to their vapor pressure. Briefly, the vapor pressures of the pure odorants were estimated with ACD Chemskech software (Advanced Chemistry Development, Toronto, Ontario, Canada) and variously diluted in mineral oil to concentrations theoretically emitting the same vapor-phase partial pressure of each odorant (Cleland et al., 2002). All odorants used in this paper are reported in Table 1 with the corresponding dilutions. Because we wanted to demonstrate the maximum possibilities of the hole-board, we randomly used different odorants at different concentrations in the various behavioral tasks.

2.4. The olfactory tests

2.4.1. Animals

All the mice used in the experiments were housed upon arrival in the lab in groups of five in standard laboratory cages and were kept on a 12 h light/dark cycle (constant temperature) and with food and water *ad libitum*. Experiments were conducted in the afternoon (2–5 p.m.).

2.4.2. Olfactory detection

Odor set: We tested mice on threshold detection of propionic acid (PA) at different concentrations: 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} Pa (see Table 1).

Behavioral testing: Twenty mice were used in this experiment. The bedding was replaced after every trial. We used the hole-board in the one-hole configuration. The test consisted of two presentations of mineral oil, then one presentation of propionic acid at each

Table 1

Odors used for all experiments and corresponding dilutions.

Behavioral task	Odorants	Corresponding dilution (vol/vol)
Threshold detection	Propionic acid	0.000033%
		0.00033%
		0.0033%
		0.033%
Generalization	Eugenol	13.12%
	Guaiacol	2.08%
	Heptanal	0.07%
Habituation/dishabituation	Pentanol	0.074%
	Decanal	1.78%
Discrimination learning Olfactory short-term memory	+limonene	pure
	–carvone	pure
	+limonene	pure
	Citrate	pure
	Cineol	pure
Olfactory and spatial memory	Carvone	2.36%
	Geraniol	21.25%
	Dodecanal	2.74%
	Hexanol	0.07%
Olfactory preferences	Allyl caproate	0.55%
	Methylanthranilate	12.65%
	Amyl butyrate	0.51%
	Amyl phenylacetate	59.13%
	Valeric acid	0.18%
	Trimethyl amine	0.0002%

concentration (2 min per trial; intertrial interval, ITI, 3 min). The duration of nose poking between odor presentation and no odor trials was used as a measure of threshold detection.

Data analysis: All data analyses on time spent sniffing during odor presentation trials were performed with Systat software (SSI, Richmond, CA, USA). Outlier trials that deviated from the mean by more than two standard deviations were excluded from analysis. Data obtained for each concentration of the odor were averaged across animals and analyzed by ANOVA. The level of significance was set at 0.05.

2.4.3. Olfactory discrimination

2.4.3.1. Habituation–dishabituation paradigm. **Odorants:** All odorants were dissolved in mineral oil before the start of each experiment. Odors were presented by placing 60 μ l of the odor stimulus (1 Pa) onto a polypropylene swab. We tested mice on a pair of odorants: pentanol and decanal (see Table 1).

Behavioral testing: This olfactory habituation task assessed the degree to which the mice spontaneously discriminated odorants by habituating them to an odorant (Ohab) and measured their investigation response to a second odorant (Otest). If the second odorant was not discriminated from the first, there would be no increased investigation response by the mouse. Food and water were continuously available during the course of the experiment. Because no reward was associated with either odorant in this task, and each test odor was presented only once, the task is probably a measure only of the basic similarities between odorants, unaltered by reinforcement. The mice ($n=22$) were first familiarized with the experimental setup by a 3-min trial on the one-hole configuration of the board with no odorant. Then, habituation/dishabituation was assessed for the pair of odorants. A test session consisted of one 2-min presentation of plain mineral oil then four 2-min odor presentations of the Ohab at 5 min intervals, followed by one 2-min presentation of Otest.

Data analysis: All data analyses on time spent sniffing (nose poking) during odor presentation trials were performed with Systat software (SSI, Richmond, CA, USA). Outlier trials that deviated from the mean by more than two standard deviations were

excluded from analysis. Data obtained were averaged across animals and analyzed by unpaired *t*-tests to determine whether (1) the investigation time decreased between the first and the last Ohab trial and (2) the investigation time elicited by the test odor was significantly different from that elicited by the habituated odor during its fourth presentation. The level of significance was set at 0.05.

2.4.3.2. Generalization. Odor set: Three odorants were used, one conditioned odor (eugenol, odor C), and two test odorants: odorant 1 (guaiacol, O1) and odorant 2 (heptanal, O2) (see Table 1). The odors were diluted in mineral oil in such a way as to achieve an approximate vapor pressure of 1 Pa (Table 1).

Shaping: During shaping, the mice were exposed to the hole-board for 3 min over 2 days until they became accustomed to it. Then they were taught to retrieve a reward by digging in the holes. The hole-board was used in a two-hole configuration, one hole with the odor and a reward (a small bit of sweetened cereal, Kellogg's, Battle Creek, MI, USA) and the other hole with no reward and no odor. At the beginning of each trial, the mice were allowed to dig both holes until they retrieved the reward. During the first few trials, the reward was placed on the top of the odorized hole. After successful retrieval of the reward over several trials, the reward was buried deeper and deeper into the hole. Shaping was considered complete when a mouse would reliably identify the reward-containing hole and retrieve the deeply buried reward, and dig in the odor-containing hole even in the absence of a reward (thus controlling for the possibility of the mouse simply smelling the reward). Initial shaping was performed with odorants dissimilar to those used in other experiments (\pm limonene).

Behavioral testing: For this experiment, water was continuously available, but the mice were food-deprived for 8 h before the sessions. We used an odor generalization paradigm to measure the degree to which the mice generalized between odor C and the test odors. Each mouse was trained on odor C over six conditioning trials in which it had a choice between a scented hole containing the reward and an unscented hole containing no reward. Subsequently, three unrewarded test trials (in which the mouse was offered a choice between a hole scented with the test odorant and an unscented hole) were performed in a pseudorandom order; these test trials were separated by two rewarded conditioning trials to prevent extinction of the odor C-reward association. During the test trials, total digging times in the hole containing the test odor were recorded. The experimenter was unaware of the identity of the test odors during performance of these experiments. Trials were performed successively and only interrupted when it was necessary to change the odorant during which time the mice were put back in their cage.

Data analysis: The primary data consisted of digging times during the test trials. Outlier trials that deviated from the mean by more than two standard deviations were excluded from analysis. Data obtained for each odor test were averaged across animals. A paired *t*-test was performed in order to compare the digging time for the conditioned odor to the test odors (the level of significance was set at 0.05).

2.4.4. Olfactory memory

2.4.4.1. Associative learning. Odorants: We tested mice on a discrimination learning task between +limonene (20 μ l of the pure odorant stimulus on a polypropylene swab) and mineral oil (Table 1) using the hole-board in its 2-hole configuration.

Shaping: Naive mice ($n=15$) were first trained to retrieve a reward by digging through the bedding. The mouse was put in the start area and was allowed to dig for 2 min. During the first few trials the reward was placed on the top of the bedding of one of the two holes. After several successful retrievals, the reward was buried

deeper into the bedding. Shaping was considered to be complete when a mouse could successfully retrieve a reward that was deeply buried in the bedding (8–12 trials).

Conditioning: During the discrimination learning experiments, water was continuously available, but the mice were food-deprived for 8 h before the sessions. In this experiment, we investigated how mice learn to discriminate +limonene from mineral oil. Each mouse was presented with a choice of two holes (one rewarded with the odorant, one unrewarded with no odorant) for 4 trials per day (2 min) for 5 days. During each trial, we recorded the hole in which the mouse dug first to retrieve the reward (correct response) and also the time needed by the mouse to find the reward (latency) as indicative of learning. In a previous experiment, we had verified that the animals were not guided by the odor of the reward by removing the reward for one trial and the percentage of correct responses was compared to the other trials. No difference was observed (Mandairon et al., 2006b).

Data analysis: ANOVA for repeated measures were applied to the latency values to assess the learning process (time effect). Data analyses were also performed using the number of correct responses as the dependent variable. The criterion for significance was set at 0.05.

2.4.4.2. Short-term memory. Odor set: Two odorants were used in this experiment: –carvone, +limonene. Odors were presented by placing 20 μ l of the pure odor stimulus onto a polypropylene swab (Table 1).

Behavioral testing: 38 mice were first habituated to the experimental setup by a 2-min trial on the hole-board, with no odor. The mice then underwent the odor recognition task, which consisted of two trials each of 2-min duration. The hole-board was used in its two-hole configuration. During the first trial (acquisition) an unfamiliar odor (–carvone or +limonene) was presented in both holes. After 15, 30 and 60 min, the mice underwent the second trial (recall) in which one hole was odorized with the previously presented odor (–carvone or +limonene) and the other hole with a new odor (–carvone or +limonene). The odorants were randomized between the acquisition and recall trials. To avoid a place preference bias, odors were randomly placed in one or the other hole.

Data analysis: The time spent exploring the two holes during the recall was recorded. Results are expressed as the percentage of the time spent investigating the novel odor. Investigation of the novel odor above chance level indicated that it was recognized as novel and thus that the odor presented during acquisition had been recognized. Exploration of novel odor above chance level was evaluated using a one-sample *t*-test.

2.4.4.3. Spatial memory. Odor set: Four odorants were used: carvone, geraniol, dodecanal and hexanol. The odors were diluted in mineral oil in such a way as to achieve an approximate vapor pressure of 1 Pa (see Table 1).

Behavioral testing: Ten mice were individually habituated to the four-hole configuration for 2 min with no odorant. During the first two training sessions, four odorants were placed in the holes and the animal was allowed to explore for 6 min. During the last trial, two of the four odorants were switched and the animals were again allowed to explore freely for 6 min. During each trial, the number of visits was recorded for each hole. The animals were returned to their home cage for 3 min between each trial.

Data analysis: In order to measure olfactory spatial memory we compared, after habituation, the number of visits to the two control odorants versus the number of visits to the two odorants whose places on the board had been switched. Data obtained for each pair of odors (control and switched) were averaged across animals and analyzed by ANOVA followed by Fisher *post hoc* tests.

2.4.5. Olfactory preferences

Odor set: We tested the attractiveness of 6 odorants: methylanthranilate (MA), allyl caproate (AIC), amyl butyrate (AB), valeric acid (VA), trimethyl amine (TA), amyl phenylacetate (APA) (Table 1). A swab was impregnated with 60 μ l of odorant (1 Pa).

Behavioral testing: The bedding was replaced after every trial. We used the hole-board in the one-hole configuration. One odorant was presented per day (random order for each animal). Each trial lasted 2 min. Duration of nose poking into the hole was used as a measure of odor preference. Ten mice were tested in this experiment.

Data analysis: All data analysis on time spent sniffing during odor presentation trials were performed with Systat software (SSI, Richmond, CA, USA). Outlier trials that deviated from the mean by more than two standard deviations were excluded from analysis. Data obtained for each odor were averaged across animals and analyzed by ANOVA. The level of significance was set at 0.05.

3. Results

3.1. Threshold detection

In order to test the detection threshold, the mice were first exposed to the mineral oil and then to propionic acid at each of four concentrations from 10^{-4} to 10^{-1} Pa (2 min per trial; ITI 3 min). We observe a significant effect of odor concentration on perception (ANOVA $F(5, 68) = 3.386, p < 0.009$). Below 10^{-1} Pa concentration the odor was not explored above that for mineral oil setting the detection threshold for propionic acid at 10^{-1} Pa (Bonferroni $p < 0.05$ difference from mineral oil; Fig. 2).

3.2. Olfactory discrimination

3.2.1. Habituation–dishabituation paradigm

In this experiment, we tested spontaneous discrimination between two odorants: pentanol and decanal. *t*-Test showed significant habituation for pentanol (decrease in odorant exploration time between the first and the fourth habituation trial; $p = 0.003$; Fig. 3). After habituation with pentanol, we observed an increase in the investigation time when the decanal was presented ($p = 0.038$) indicating that the mice spontaneously discriminated decanal from pentanol.

3.2.2. Generalization

After conditioning to odor C (EUG), the mice responded strongly (long digging time) to that odorant in a choice test procedure, in

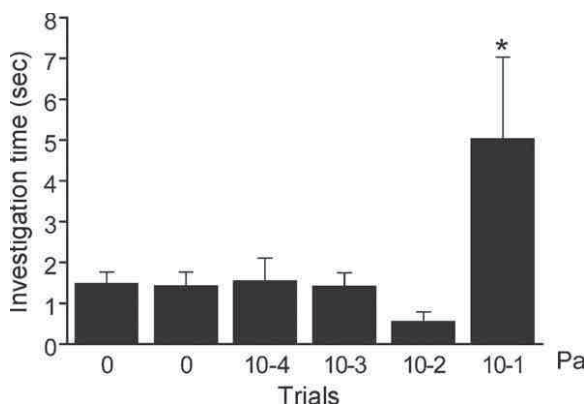


Fig. 2. Threshold detection. Mean investigation time of the odorized hole \pm s.e.m. is shown for propionic acid at 5 different concentrations during each 3-min trial. We observed significant detection of the propionic acid at a concentration of 10^{-1} Pa. The asterisks denote a significant difference in investigation time compared with the mineral oil trial ($*p < 0.05$).

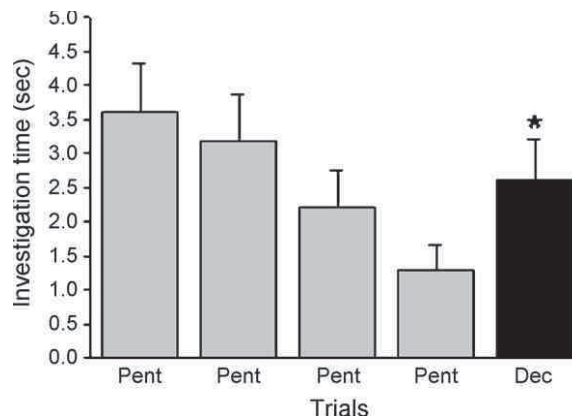


Fig. 3. Habituation/dishabituation task. Responses during the four habituation trials for pentanol declined with increasing numbers of trials. Conversely, the response times for decanal were high, indicating that mice discriminated pentanol from decanal. The asterisks indicate a significant difference ($*p < 0.05$) in response magnitude between Trials 4 and 5.

which they were presented with a hole scented with odor C and an unscented hole (Fig. 3). On average, the longest digging times were observed in response to odor C compared to the test odors (O1: GUA or O2: HEP; *t*-test, $**p < 0.01$; Fig. 4), suggesting no generalization between odor C and the test odors.

3.3. Olfactory memory

3.3.1. Olfactory discrimination learning

15 mice underwent a discrimination learning task using +limonene and mineral oil. +limonene was positively reinforced by a food reward. The first visit during a trial to the reinforced hole was recorded as a successful trial (correct response, Fig. 5A). The percentage of correct responses improved significantly over time (ANOVA for repeated measures, $F(4, 70) = 6.776, p < 0.0001$). The learning process was also reflected in the time spent to find the reward (latency). The evolution of latency across the learning sessions is presented in Fig. 5B. The latency decreased with learning (day effect ($F(4, 70) = 19.114, p < 0.0001$)). Taken together, these data indicate that the learning process was successful.

3.3.2. Olfactory short-term memory

15 min after first presentation of the novel odor, the mice explored it above chance level, in terms of number of visits, (one-sample *t*-test, $p = 0.002$). This was not so after 30 or 60 min ($p > 0.05$),

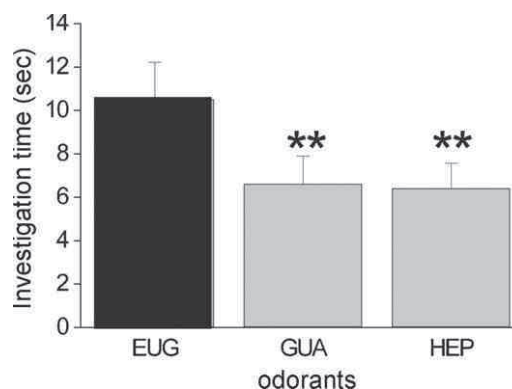


Fig. 4. Generalization task. Mean (\pm s.e.m.) digging times of 20 mice during non-rewarded test trials in response to the conditioned odor (eugenol, EUG) and the test odors guaiacol (GUA) and heptanol (HEP). The asterisks denote a significant difference in investigation time compared with Eugenol ($**p < 0.01$).

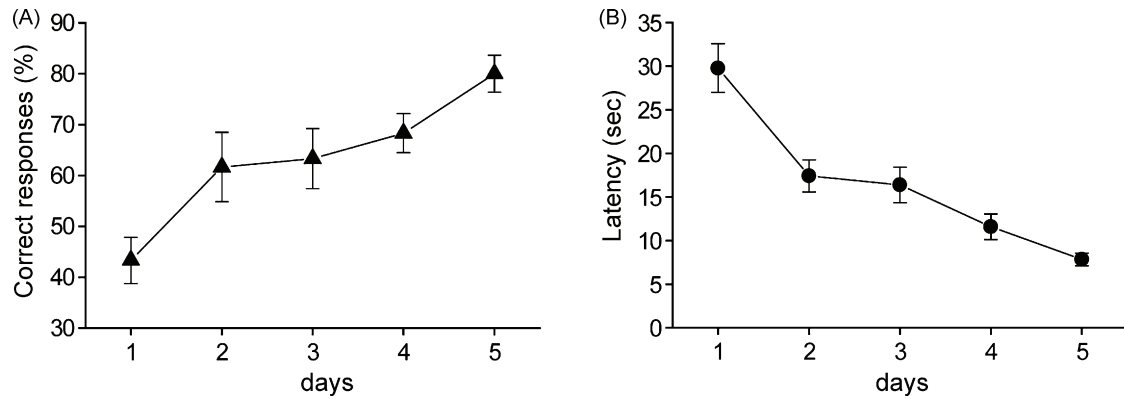


Fig. 5. Associative learning. (A) For conditioning, +limonene was systematically reinforced compared to unrewarded non-odorized hole. The first visit of a trial to the reinforced hole was recorded as a successful trial (correct response). Performance in the discrimination task increased significantly over time. (B) Latency is the time spent on the hole-board before the reward is found and also reflects the learning process. The latency decreased significantly with learning.

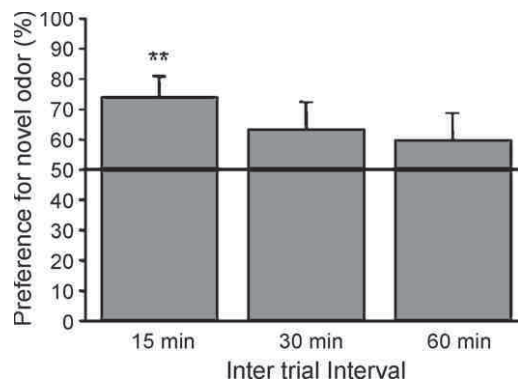


Fig. 6. Short-term memory. Effect of different inter-trial intervals on odor recognition. An investigation time for the novel odorant during recall above 50% (preference for novel odor) is indicative of a memory of the odor presented during acquisition. The preference for the novel odor was significant 15 min after the first exposure (one sample *t*-test for difference from 50%, ** $p < 0.001$) but not at 30 and 60 min.

indicating that the mice remembered the odorant only 15 min after the first presentation (Fig. 6).

3.3.3. Spatial memory

To assess spatial memory, we used a two-trial 6-min training protocol (see Section 2). During training, mice were allowed to explore odorants and the number of visits to these odorants was recorded. In a third recall trial, two of the four odorants were spatially switched and the animals were again allowed to explore for a further 6 min. We observed a significant difference in the number of

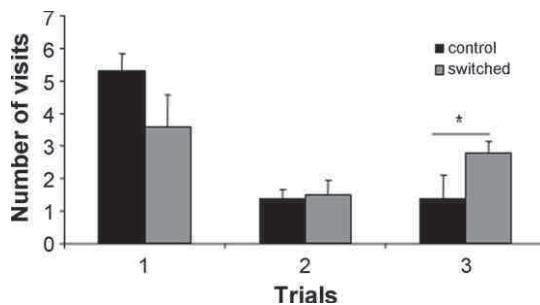


Fig. 7. Spatial odorant recognition memory. The number of visits to the four odorants was measured during two 6-min acquisition trials (trials 1 and 2). Then, two of the four odorants were spatially switched from one hole to another and the number of visits was assessed for a further 6-min (trial 3). The figure shows an increased number of visits to the two odorants which had been spatially switched. Data is expressed as mean \pm s.e.m. (* $p < 0.05$).

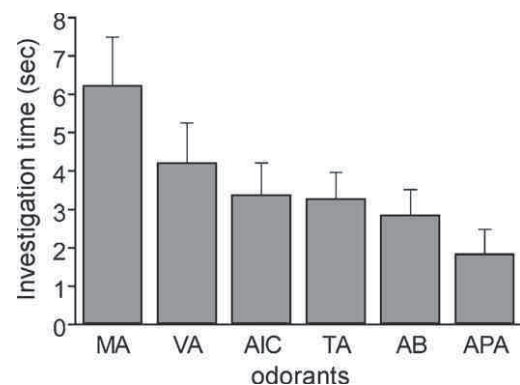


Fig. 8. Olfactory preferences. The duration during which the mouse investigated the hole was measured for various odorants. Mean investigation times (s) \pm s.e.m. are shown for each odorant during the 2-min test period. We observed significant differences in investigation time reflecting preferences for certain odors.

visits to the switched odorants compared to the others (Unilateral *t*-test $p < 0.05$; Fig. 7).

3.3.4. Olfactory preferences

In the preference test (Fig. 8), the hole containing the odorant was presented to the mice. The length of time the mouse spent investigating each odorant was automatically recorded. In this experiment, six odorants were selected (AIC, MA, AB, APA, TA, VA) and it was found that the mice demonstrated significant differences in their exploration time of these odorants ($F[5, 50] = 2.689$, $p = 0.031$) indicative of the differential attractiveness of the odorants (odor preferences).

4. Conclusions

The results of the present series of studies suggest that the olfactory hole-board provides a reliable method for measuring olfactory performance. The hole-board, which does not require complex and expensive olfactometric equipment, allows assessment of the main aspects of olfactory function such as olfactory threshold, discrimination or memory. For olfactory threshold evaluation, although the precise concentration of an odorant at the top of a hole is unknown it is still possible to compare behavior in response to different concentrations and establish a useful scale of detection abilities. Regarding discrimination and memory, each of the tasks described in this study aimed to measure one aspect of olfactory perception but one should be aware that none of them are totally specific. For instance, the habituation/dishabituation task depends on short-term mem-

orization of an odor between successive trials. Consequently, the shorter the interval between trials the more the memory component is reduced. Conversely, the associative memory task presented here requires discrimination between odor and mineral oil. However, since discrimination problem is very simple, the test mostly assesses associative memory.

Other published studies have suggested that with a very similar experimental design, the system is capable of assessing the affect of pathological aging on olfactory performance (Guerin et al., 2009). In this paper, we were able to characterize some discrete olfactory memory deficits in young Tg2576 mice, a model for Alzheimer's disease. The main deficit was found in the habituation task when the inter-trial interval was set at 15 min whereas when it was set at 5 min, no alteration was found.

The computerized system was also effective in demonstrating slight changes in behavior due to the difficulty of the task (Mandairon et al., 2006b). In this paper, the animals had to learn to discriminate between a pair of similar odorants (the two enantiomers of limonene) and a pair of dissimilar odorants (+limonene and propionic acid). Using a habituation/dishabituation task, we first showed that there was no spontaneous discrimination between \pm limonene. Despite this, adult mice learnt to discriminate them as shown by their ability to perform the associative task when one enantiomer of the pair was positively reinforced. The learning curve obtained in this group exhibited a 4-day lag compared with the learning curve obtained when two distinct odorants (+limonene and propionic acid) were used indicating that the more difficult the task, the more time is needed to perform it. Taken together, these data indicate that this set up is highly sensitive and is suitable for assessing small differences in olfactory performance.

In a previous study, we examined several combinations of drug treatments on olfactory memory performance and revealed the usefulness of the apparatus for pharmacological approaches to olfactory function. More specifically, a study examined the influence of pharmacological modulations of the *Locus Coeruleus* noradrenergic system on odor recognition in the mouse. Treatment with the $\alpha(2)$ -adrenoceptor antagonist dexefaroxan was able to increase the odor memory from 15 to 30 min post-training. In contrast, both the $\alpha(2)$ -adrenoceptor agonist UK 14304 and the noradrenergic neurotoxin DSP-4 prevented the recognition of the familiar odor 15 min after the first exposure (Veyrac et al., 2007).

Finally, using the experimental setup, we are able to assess olfactory preferences in mice. In a recent study, we compared the olfactory preferences of mice and humans to 19 odorants. We showed that odorants rated as pleasant by humans were also those which, behaviorally, mice investigated longer, thereby revealing for the first time a hedonic component of olfactory perception conserved across species. Consistent with this, we further showed that odor pleasantness ratings in humans and investigation time in mice were both correlated with the physicochemical properties of the molecules (Mandairon et al., 2009).

Therefore, this new olfactory setup may provide a valuable tool for the study of olfactory behavior in mice and more particularly to studying the link between the olfactory network and olfactory behavior. Moreover, the hole-board can be an interesting set up for screening olfaction in transgenic mice and drugs with therapeutic potential for use on memory.

Acknowledgment

Supported by Oseo-Anvar, contract EZUS Lyon1 E1482.037.

References

Alonso M, Viollet C, Gabellec MM, Meas-Yedid V, Olivo-Marin JC, Lledo PM. Olfactory discrimination learning increases the survival of adult-born neurons in the olfactory bulb. *J Neurosci* 2006;26:10508–13.

- Beshel J, Kopell N, Kay L. Olfactory bulb gamma oscillations are enhanced with task demands. *J Neurosci* 2007;27:8358–65.
- Buonviso N, Chaput M. Olfactory experience decreases responsiveness of the olfactory bulb in the adult rat. *Neuroscience* 2000;95:325–32.
- Cleland TA, Morse A, Yue EL, Linster C. Behavioral models of odor similarity. *Behav Neurosci* 2002;116:222–31.
- Devanand D, Michaels-Marston K, Liu X, Pelton G, Padilla M, Marder K, et al. Olfactory deficits in patients with mild cognitive impairment predict Alzheimer's disease at follow-up. *Am J Psychiatry* 2000;1399–405.
- Doucette W, Milder J, Restrepo D. Adrenergic modulation of olfactory bulb circuitry affects odor discrimination. *Learn Mem* 2007;14:539–47.
- Fletcher ML, Wilson DA. Olfactory bulb mitral-tufted cell plasticity: odorant-specific tuning reflects previous odorant exposure. *J Neurosci* 2003;23:6946–55.
- Gray CM, Freeman WJ, Skinner JE. Chemical dependencies of learning in the rabbit olfactory bulb: acquisition of the transient spatial pattern change depends on norepinephrine. *Behav Neurosci* 1986;100:585–96.
- Guerin D, Peace S, Didier A, Cleland T, Linster C. Noradrenergic neuromodulation in the olfactory bulb modulates odor habituation and spontaneous discrimination. *Behav Neurosci* 2008;22:816–26.
- Guerin D, Sacquet J, Mandairon N, Jourdan F, Didier A. Early locus coeruleus degeneration and olfactory dysfunctions in Tg2576 mice. *Neurobiol Aging* 2009;30:272–83.
- Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A. Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007;264:237–43.
- Kaba H, Keverne EB. The effect of microinfusions of drugs into the accessory olfactory bulb on the olfactory block to pregnancy. *Neuroscience* 1988;25:1007–11.
- Kay LM, Laurent G. Odor- and context-dependent modulation of mitral cell activity in behaving rats. *Nat Neurosci* 1999;2:1003–9.
- Kay L, Lancaster L, Freeman W. Reafference and attractors in the olfactory system during odor recognition. *Int J Neural Syst* 1996;7:489–95.
- Kiselycznyk C, Zhang S, Linster C. Role of centrifugal projections to the olfactory bulb in olfactory processing. *Learn Mem* 2006;13:575–9.
- Kovacs T, Cairns N, Lantos P. Olfactory centres in Alzheimer's disease: olfactory bulb is involved in early Braak's stages. *Neuroreport* 2001;12:285–8.
- Linster C, Garcia PA, Hasselmo ME, Baxter MG. Selective loss of cholinergic neurons projecting to the olfactory system increases perceptual generalization between similar, but not dissimilar, odorants. *Behav Neurosci* 2001;115:826–33.
- Linster C, Maloney M, Patil M, Hasselmo ME. Enhanced cholinergic suppression of previously strengthened synapses enables the formation of self-organized representations in olfactory cortex. *Neurobiol Learn Mem* 2003;80:302–14.
- Lledo PM, Alonso M, Grubb MS. Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:179–93.
- Luskin MB, Price JL. The distribution of axon collaterals from the olfactory bulb and the nucleus of the horizontal limb of the diagonal band to the olfactory cortex, demonstrated by double retrograde labeling techniques. *J Comp Neurol* 1982;209:249–63.
- Mandairon N, Stack C, Kiselycznyk C, Linster C. Broad activation of the olfactory bulb produces long-lasting changes in odor perception. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006a;103:13543–8.
- Mandairon N, Sacquet J, Garcia S, Ravel N, Jourdan F, Didier A. Neurogenic correlates of an olfactory discrimination task in the adult olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 2006b;24:3578–88.
- Mandairon N, Ferretti CJ, Stack CM, Rubin DB, Cleland TA, Linster C. Cholinergic modulation in the olfactory bulb influences spontaneous olfactory discrimination in adult rats. *Eur J Neurosci* 2006c;24:3234–44.
- Mandairon N, Didier A, Linster C. Odor enrichment increases interneurons responsiveness in spatially defined regions of the olfactory bulb correlated with perception. *Neurobiol Mem Learn* 2008a;90:178–84.
- Mandairon N, Peace S, Karnow A, Kim J, Ennis M, Linster C. Noradrenergic modulation in the olfactory bulb influences spontaneous olfactory discrimination in adult rats. *Eur J Neurosci* 2008b;27:1210–9.
- Mandairon N, Poncelet J, Bensafi M, Didier A. Humans and mice express similar olfactory preferences. *PLoS ONE* 2009;4:e4209, Epub 2009.
- Martin C, Gervais R, Hugues E, Messaoudi B, Ravel N. Learning modulation of odor-induced oscillatory responses in the rat olfactory bulb: a correlate of odor recognition? *J Neurosci* 2004;24:389–97.
- Martin C, Gervais R, Messaoudi B, Ravel N. Learning-induced oscillatory activities correlated to odour recognition: a network activity. *Eur J Neurosci* 2006;23:1801–10.
- Ravel N, Elaagouby A, Gervais R. Scopolamine injection into the olfactory bulb impairs short-term olfactory memory in rats. *Behav Neurosci* 1994;108:317–24.
- Rocheftort C, Gheusi G, Vincent JD, Lledo PM. Enriched odor exposure increases the number of newborn neurons in the adult olfactory bulb and improves odor memory. *J Neurosci* 2002;22:2679–89.
- Seiberling K, Conley D. Aging and olfactory and taste function. *Otolaryngol Clin North Am* 2004;37:1209–28, vii.
- Shiple MT, Fu L, Ennis M, Liu WL, Aston-Jones G. Dendrites of locus coeruleus neurons extend preferentially into two pericoerulear zones. *J Comp Neurol* 1996;365:56–68.
- Spors H, Grinvald A. Spatio-temporal dynamics of odor representations in the mammalian olfactory bulb. *Neuron* 2002;34:301–15.

- Sullivan RM, Wilson DA. The locus coeruleus, norepinephrine, and memory in newborns. *Brain Res Bull* 1994;35:467–72.
- Thomas-Danguin T, Rouby C, Sicard G, Vigouroux M, Farget V, Johanson A, et al. Development of the ETOC: a European test of olfactory capabilities. *Rhinology* 2003;41:142–51.
- Veyrac A, Nguyen V, Marien M, Didier A, Jourdan F. Noradrenergic control of odor recognition in a nonassociative olfactory learning task in the mouse. *Learn Mem* 2007;14:847–54.
- Westenhofer J. Age and gender dependent profile of food choice. *Forum Nutr* 2005:44–51.
- Wilson R, Arnold S, Tang Y, Bennett D. Odor identification and decline in different cognitive domains in old age. *Neuroepidemiology* 2006;26:61–7.
- Wilson R, Schneider J, Arnold S, Tang Y, Boyle P, Bennett D. Olfactory identification and incidence of mild cognitive impairment in older age. *Arch Gen Psychiatry* 2007;64:802–8.
- Woo CC, Hingco EE, Johnson BA, Leon M. Broad activation of the glomerular layer enhances subsequent olfactory responses. *Chem Senses* 2007;32:51–5.

RESULTATS

Etude 1

Behavioral and cellular markers of olfactory aging and their response to enrichment

Nolwen L. Rey*, Joelle Sacquet, Alexandra Veyrac^a, François Jourdan and Anne Didier

INSERM, U1028, Lyon Neuroscience Research Center, Neuroplasticity and neuropathology of olfactory perception Team, Lyon, F-69000, France.

CNRS, UMR5292, Lyon Neuroscience Research Center, Neuroplasticity and neuropathology of olfactory perception Team, Lyon, F-69000, France.

University Lyon, F-69000, France.

^a current affiliation : Laboratoire CNPS; CNRS, UMR 8195, Bât 446; Université Paris Sud XI; 91405, Orsay; France

Neurobiology of Aging, in press.

ABSTRACT

Aging of olfactory function (discrimination and short-term memory) was studied in 2, 10 and 23-month old mice. We also addressed the issue of the responsiveness of the aging system to olfactory experience-dependent plasticity by submitting mice of different ages to an enrichment paradigm, and assessed neurogenesis in the olfactory bulb and the status of the noradrenergic system, two effectors of enrichment. Discrimination ability and its response to enrichment were essentially preserved with aging. In contrast, memory and its improvement by enrichment were altered at 10 and 23 months. Regarding neurogenesis, we found less proliferation of progenitors at 10 months and then lower neuronal differentiation and survival at 23 months. Furthermore, enrichment did not improved neurogenesis beyond the age of 2 months. Noradrenergic markers and their response to enrichment were altered at 23 months in line with memory performance. Aging thus differentially affected olfactory discrimination and memory abilities and their responsiveness to enrichment. Bulbar neurogenesis was an early target of aging whose decline could contribute to age-dependent memory impairments.

Key words: olfaction-aging-enrichment-memory-discrimination-neurogenesis-olfactory bulb-noradrenalin-behavior-BrdU

1. Introduction

Olfactory deficits have been described in humans during normal aging which can lead to lower quality of life and impairment of food intake (Murphy, 1993; Seiberling and Conley, 2004). Olfactory impairments have also been described in the early stages of neurological diseases such as Parkinson's or Alzheimer's disease (Murphy, 1999; Hawkes, 2003). Previous experimental studies conducted in rats showed a decline in odor associative learning in aged compared to young animals (Roman et al., 1996; Schoenbaum et al., 2002; Prediger et al., 2005a; Prediger et al., 2005b; LaSarge et al., 2007; Brushfield et al., 2008) but there seems to be strain differences (Kraemer and Apfelbach, 2004). In aged mice, impairments in retention of an olfactory associative learning task (Patel and Larson, 2009) and discrimination abilities (Enwere et al., 2004) have also been reported. However, beyond these observations, which used different experimental settings to assess olfactory function, no comprehensive picture of olfactory aging exists and very little is known regarding the neural basis of olfactory aging.

We performed a behavioral investigation of two basic features of olfactory perception, namely spontaneous olfactory discrimination and short-term memory, in young (2 months) middle-aged (10 months) and aged (23 months) mice. Furthermore, in order to study not only basal olfactory function but also its plasticity in response to external challenges, we studied olfactory function following olfactory enrichment. Environmental enrichment is a well-known experimental paradigm enhancing neural plasticity and cognitive performance in young animals (Bennett et al., 1969; Rosenzweig and Bennett, 1996; van Praag et al., 2000; Sale et al., 2009). Furthermore, enrichment has been proposed as a tool to stimulate neural plasticity and prevent age- or disease-induced cognitive deficits (Nithianantharajah and Hannan, 2006). In the olfactory system of young mice, odor memory and discrimination are improved by olfactory enrichment (Rocheffort et al., 2002; Mandairon et al., 2006a; Veyrac et al., 2009).

However, how this odor enrichment-induced plasticity is maintained during aging is currently unknown.

The olfactory bulb (OB), the first central relay of the olfactory pathway, plays a central role in processing the olfactory signal in relation to discrimination (Yokoi et al., 1995; Cleland and Sethupathy, 2006) and memory (Kendrick et al., 1992; Kay and Laurent, 1999; Martin et al., 2006). Importantly, the OB is the target of permanent neurogenesis thanks to progenitors proliferating in the subventricular zone (SVZ) of the anterior forebrain and migrating along the rostral migratory stream to the OB (Lois and Alvarez-Buylla, 1994; Lledo et al., 2006). There, they integrate the pre-existing bulbar network as GABAergic inhibitory granular and, to a lesser extent, periglomerular interneurons (Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002; Belluzzi et al., 2003; Carleton et al., 2003), which control the output message of the OB (Shepherd et al., 2007). It has recently been suggested that adult-born neurons play a role in olfactory memory although this is still a matter of debate (Imayoshi et al., 2008; Breton-Provencher et al., 2009; Lazarini et al., 2009; Sultan et al., 2010). In addition, the OB receives strong noradrenergic innervations potentially important for discrimination (Guerin et al., 2008; Mandairon et al., 2008), short-term olfactory memory (Veyrac et al., 2007) and mediating the effect of olfactory enrichment (Veyrac et al., 2009). Based on these data, age-dependent changes to the rate of neurogenesis or noradrenergic mechanisms occurring in the OB could contribute to the decline in olfactory function. Consequently we coupled the behavioral characterization of olfactory aging and its responsiveness to enrichment with an analysis of bulbar neurogenesis and noradrenergic status as cellular markers of aging.

2. Material and methods

2.1. Animals

Adult male C57Bl/6J mice (Charles River Laboratory, Domaine des Oncins, France) aged 2 months (n= 38), 10 months (n=36) and 23 months (n= 24) were used. Mice

were purchased at the age of 6 weeks and aged in our animal facility. The mice were housed in groups of six in standard laboratory cages (43x15x18cm) covered with acrylic filtering lids, at a temperature of 20-24°C and under a constant inverted light-dark cycle (12:12h). They had free access to food and water. Every effort was made to minimize the number of animals used during the experimental procedure. In accordance with the policy of Claude Bernard-Lyon1 University, all experiments were conducted in compliance with the European Community Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC).

2.2. Experimental design

On day 0 of the experiment, half of each group of mice aged 2, 10 or 23 months was housed in olfactory enriched conditions while the other half was left in standard conditions. The enrichment lasted 34 days. On day 10, all the mice were injected with BrdU (see below). 2-3 animals from each group were then sacrificed the same day to assess cell proliferation in the SVZ. The other mice (10-15 per group) were allowed to survive until day 34 to assess survival of adult-born cells in the OB (Figure 1). Between day 29 and day 34, the mice underwent behavioral tests to assess their olfactory short-term memory and discrimination abilities and were sacrificed on day 34, 2 hours after the end of the behavioral session.

2.3. Olfactory enrichment

The enriched animals were exposed to a single odor placed in a tea ball, hung in the home cage and left there for 24 hours at which time it was replaced by a new odor. Odors used for the enrichment were natural odors, and were freshly prepared every day by placing small pieces of the product in the tea ball. Fifteen different odors were used for enrichment: pepper, star anise, fennel, cinnamon, garlic, ginger, clove, nutmeg, lemon, chocolate, cardamom, thyme, hot pepper, lavender, and orange. These odors were presented in the same sequence in all the cages housing enriched mice and repeated after 15 days. The non-enriched animals were housed in the same conditions except that the tea balls were empty.

2.4. Assessment of short-term memory

2.4.1. *Experimental set up and behavioral testing*

In order to assess short-term olfactory memory, mice were submitted to a two-trial odor recognition task conducted on a two-hole board (40x40 cm; diameter of the holes 2.5 cm) as previously described (Veyrac et al., 2007; Mandairon et al., 2009). During the first trial (Acquisition), the same unfamiliar odorant was presented in the two holes of the board. After 15, 30 or 60 min, the mice underwent a second trial (Recall) during which one hole was odorized with the previously presented odorant and the other with a novel odorant (Figure 2A). The time spent investigating the odorant was measured using a video tracking system (ViewPoint, Champagne au Mont d'Or, France). Odorant investigation was recorded when the nose of the animal approached within 1 cm of the hole. The two odorants of the pair (familiar and novel) were counterbalanced between the acquisition and recall trials. Each mouse performed the task with each pair of odorants in a randomized order.

2.4.2 *Odorants and odorant presentation*

When necessary, holes were odorized using a polypropylene swab impregnated with 20µL of odorant placed at the bottom of the hole, covered with a grid and bedding. Two pairs of odorants were used: -limonene (diluted 1:10, Sigma Aldrich) / +carvone (diluted 1:10, Merck) and amyl acetate (diluted 1:100, Sigma Aldrich) / anisol (diluted 1:100, Merck). These supraliminal concentrations were chosen in order to reach roughly equivalent perceived intensities. Using another group of mice, we had conducted a preliminary experiment to verify that both odorants in each pair were equally investigated during a one-test trial when presented simultaneously, indicating that the mice showed no spontaneous preference for either of the two odorants within each pair (data not shown).

2.4.3 *Data analysis*

The investigation time for each odorant was measured during acquisition and recall. Mice with an investigation time exceeding the group mean +/- 2SD or less than 5

seconds during acquisition were excluded from the analysis. An index of preference for the novel odorant was calculated as investigation time of the novel odorant / (investigation time of novel odorant + investigation time of familiar odorant) /100, during recall. If the mice remembered the familiar odorant, they significantly explored the novel odorant for over 50 % of the time. If they did not remember it, both odorants were equally explored. Significant investigation of the novel odorant above 50% was assessed by a one-sample t-test (Microcal Origin 5.0, Microcal software, Northampton, MA, USA).

2.5. Assessment of discrimination

2.5.1. *Experimental set up.*

In order to assess olfactory discrimination, the mice underwent a cross habituation task (Cleland et al., 2002) consisting in a habituation phase followed by a test of discrimination abilities between perceptually close or distant odorants. This test was conducted on a board (40X40cm) in the center of which we placed a Petri dish (diameter 3.5 cm) containing a swab impregnated with an odorant. Using the video tracking system to detect nose position, the time spent exploring an area of 1cm around the dish was measured.

2.5.2. *Behavioral testing.*

Animals were first familiarized with the apparatus during a trial of 90 sec with mineral oil placed in the Petri dish (Figure 3A). Habituation then consisted of three consecutive trials (90 sec duration) during which the same odorant was presented (habituation odorant, OHab). Habituation resulted in a decrease in the investigation time of the odorant across habituation trials. Habituation was followed by cross-habituation trials (discrimination phase) during which three different test odorants were presented (O test, O test', and O test'') (Figure 3A). Test odorants were either the habituation odorant (Test OHab) or an odorant with a carbon chain length containing one (Test C+1) or three (Test C+3) more carbons than the habituation odorant. The order of presentation of these odorants was randomized and test trials were separated by a

presentation of the habituation odorant. Discrimination was observed when the C+1 or C+3 odorants were significantly more investigated than the habituation odorant.

To overcome a possible memory effect in this test, delays between each trial were adjusted to each group according to the results obtained in the odor recognition test. For the 2 and 10-month old mice, the inter-trial interval was 15 min and was reduced to 5 min for 23-month old mice who showed a deficit in odor retention time at 15 min. The time spent investigating the odorant was measured when the video tracked nose broke the 1cm limit around the dish.

2.5.3. *Odorants.*

Two sets of 3 odorants were used at a vapor phase pressure of 1 Pa as previously validated (Cleland et al., 2002). These were homologous series of aliphatic molecules with unbranched carbon chains of increasing length: acetate esters or aldehydes (Table 1). The more the chain lengths differ, the easier it should be to discriminate between the odorants. This odor choice and experimental design allowed the assessment of gross and fine discrimination depending on the perceptual proximity of the tested odorants. Each animal performed the task with both sets of odorants.

2.5.4. *Data analysis.*

Odorant investigation time for each trial was measured and averaged within groups. Mice with investigation times exceeding group mean \pm 2SD were discarded from the analysis.

Habituation: Habituation was measured by the reduction in investigation time across trials, assessed by comparisons between habituation trials using 3-way ANOVA for repeated measures with trial, age and enrichment as factors and investigation time as the dependent variable, followed by *post hoc* tests (see 2.9).

Discrimination: investigation times of test odorants were first analyzed by two-way ANOVA for repeated measures with odorant (Test Ohab versus Test C+1 or Test C+3) and group (6 groups, 3 groups of age X 2 groups of odor environment) as factors. Pair comparison of investigation of the Test C+1 or Test C+3 odorant with that of the habituation odorant presented during the discrimination phase (Test OHab) were done

by LSD *post hoc* tests. An increase in investigation times of the test odorant compared to the habituation odorant indicated that the animals discriminated between the two odorants. In addition, we calculated a discrimination index defined as $[1 - (\text{Test OHab} / \text{Test C+1 or Test C+3})]$, where Test C+1 or Test C+3 was the time the test odorant was investigated, and test OHab, the time the habituation odorant was investigated. The discrimination index approaches 0 when Test C+1 or Test C+3 is similar to Test OHab (no discrimination) and 1 when Test C+1 or Test C+3 is much larger than Test OHab (high discrimination). These indices enable comparison of spontaneous discrimination performance independently of overall variations in investigation time (Cleland et al., 2002; Guerin et al., 2008). Indices were compared by two-way ANOVAs and pair comparisons were done using unpaired unilateral t-tests. In order to assess global exploratory behavior, mean exploration of the habituation odor during the habituation phase was calculated for each group, and compared by a two-way ANOVA for age and enrichment effects followed by *post hoc* tests (see 2.9) for between-groups comparisons.

2.6. Assessment of newly generated cell survival and proliferation

2.6.1. *BrdU administration.*

On day 10 of the experiment, the mice received 3 injections of 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU; Sigma; 50 mg/kg dissolved in saline) with a 2-h interval between injections. 16 mice (n=2-3 per experimental group) were killed 2 hours after the last injection to assess proliferation in the SVZ. To assess long-term newborn cell survival in the OB, 27 other mice (n=3-6 per experimental group) were sacrificed at the end of day 34.

2.6.2. *Tissue preparation and sectioning.*

Mice were anesthetized with pentobarbital (3.64 mg/kg) and killed by intracardiac perfusion with a solution of paraformaldehyde 4% in 0,1M phosphate buffer, pH 7,4. Brains were dissected out and post-fixed overnight in a fixative at 4°C, washed in PBS (3 x 15 min under agitation), and put in a solution of 20% sucrose in PBS at 4°C for 5 days. Brains were then frozen in isopentane, cooled with liquid nitrogen at -35°C and

stored at -20°C. Serial frontal sections (14µm) were cut at -22°C on a cryostat (Microm) from the anterior part of the brain from the OB to the SVZ and the brainstem. Adjacent sections were collected on 5 series of poly-L-lysine-coated slides (0,05%, Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France), in order to use different staining on homologous series of sections.

2.6.3. BrdU labeling.

Brain sections were incubated in Target Retrieval Solution (Dako, Trappes, France) for 20 min at 98°C. After cooling for 20 min, sections were incubated in a Triton 0.5% (Sigma x100) solution in phosphate buffered saline (PBS) for 30 minutes then for 3 minutes with pepsin (0.3U/mL in 0.1N HCl, Sigma). Sections were then incubated in a blocking solution 3% H₂O₂ in 0.1M PBS, to block endogenous peroxidase. Then sections were treated for 90 min in 5% normal horse serum (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) in 5% bovine serum albumin (BSA, Sigma) and 0.125% triton X-100 to block non-specific binding, then incubated overnight at 4°C with mouse anti BrdU primary antibody (1/100, MAB 4072, Chemicon). After that, sections were treated for 2 hours with a horse biotinylated anti-mouse secondary antibody (1/200, Vector) followed by incubation in an avidin-biotin-peroxydase complex (ABC Elite Kit, Vector) for 30 min and rinsed three times in PBS for 5 min. Sections were reacted in 0.05% 3, 3'-diaminobenzidine-tetra-hydrochloride (DAB, Sigma), 0.03% NiCl₂ and 0.03% H₂O₂ in Tris-HCl buffer (0.05M, pH 7.6), dehydrated in graded ethanols, and coverslipped in DPX.

2.6.4. BrdU-positive cells quantifications.

Quantifications of BrdU-positive cells were conducted with a computer-assisted mapping and image analysis system (Mercator Pro, Explora Nova, La Rochelle, France) coupled to a Zeiss microscope according to previously published methods (Mandairon et al., 2006b; Guerin et al., 2009). To assess proliferation rate, BrdU-positive cells were counted in the mice sacrificed immediately following BrdU injection, on 6 sections of the SVZ per animal spaced by 280 µm, starting from the opening of the lateral ventricle. To assess long-term survival of adult-born cells, BrdU-positive

cells were counted in mice sacrificed at the end of the experiment (24 days post BrdU administration) on 6 sections of the OB per animal distributed along the rostro-caudal axis (interval 280 μm). On each section, labeled cells were counted in the granular cell layer (GCL) and the glomerular layer (GL). Regions of interest (SVZ, GCL, GL) were delineated based on histological aspects using the mapping software. Finally, the number of BrdU-positive cells was related to the area of the region of interest, to express data as BrdU-positive cells per mm^2 (density). Comparisons between experimental groups were carried out by two-way ANOVA with enrichment and age as factors and BrdU-positive cell density as the dependent variable followed by *post hoc* tests (see 2.9).

2.6.5. Double BrdU/NeuN labeling.

To assess the neuronal differentiation of newborn cells, we used co-labeling of BrdU with the neuronal marker NeuN. Sections were incubated in solution with rat anti-BrdU primary antibody (1/100, Abcys) and mouse anti-NeuN antibody (1/500, Chemicon) at 4°C overnight. Sections were then treated with a goat anti-rat antibody conjugated to Alexa 546 (1/200, Molecular Probes, Invitrogen, OR, USA) and a horse anti-mouse biotinylated antibody (1/200, Vector lab, Burlingame, CA, USA) in 2% BSA PBS for 2 hours at room temperature. Sections were rinsed 3 times in PBS, and incubated for 90 min in streptavidin-coupled Alexa 488 (1/1000, Molecular Probes, Invitrogen) in PBS, rinsed again, and coverslipped in Vectashield containing DAPI (Vector). Co-localization of BrdU and NeuN labeling was evaluated in 15-20 cells from each animal (n=3-6 per group) by performing z-stack acquisitions using a Zeiss Apotome system. Results were expressed as a percentage of BrdU-positive cells co-labeled with NeuN. Comparisons between experimental groups were done by two-way ANOVA with age and enrichment as factors and the percentage of BrdU/NeuN co-labeled cells as the dependent variable. Pair comparisons were done by *post hoc* tests (see 2.9).

2.7. Assessment of the noradrenergic system

2.7.1. Dopamine Beta hydroxylase (DBH) immunohistochemistry and quantification

To detect NA neurons in the *Locus Coeruleus*, immunohistochemistry of the noradrenalin synthetic enzyme Dopamine- β -hydroxylase (DBH) was performed on brainstem sections including the LC of 3-4 animals per group. Brain sections were incubated in Target Retrieval Solution (Dako, Trappes, France) for 20 min at 98°C. After cooling for 20 min, they were incubated for 90 min in 5% normal serum, 5% BSA and 0.125% Triton X-100 to block unspecific binding, and incubated in rabbit anti-DBH primary antibody (1/200, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) for 40 hours at 4°C. Sections were then incubated in a biotinylated goat anti-rabbit secondary antibody (1/200, vector lab, Burlingame, CA, USA) for 2 hours, incubated in an avidin-biotin-peroxydase complex (ABC Elite Kit, Vector) for 30 min and then rinsed 3 times in PBS for 5 min. Sections were reacted in 0.05% 3,3'-diaminobenzidine-tetrahydrochloride (DAB, Sigma), 0.03% NiCl₂ and 0.03% H₂O₂ in Tris-HCl buffer (0.05M, pH 7.6), dehydrated in graded ethanols, and coverslipped in DPX.

For each animal, all sections (inter-section interval 140 μ m) containing DBH-positive cells were analyzed. The area containing DBH-positive cells was delineated and labeled cells (very dark cells with marked key lines) were counted. For the BrdU analysis, the number of positive DBH-positive cells was related to the selected area and data were expressed as the number of positive cells per mm² (density). Statistical analysis was carried out by two-way ANOVA with age and enrichment as factors and DBH-positive cell density as the dependent variable. ANOVA was followed by *post hoc* tests (see 2.9).

2.7.2. Norepinephrine transporter (NET) labeling and quantification

Immunohistochemistry of NET, a marker of noradrenergic terminals (Schroeter et al., 2000) was performed in the OB in order to assess the amount of noradrenergic fibers in the GCL of the OB. OB sections were rehydrated and incubated for 30 min in triton 0.1%, followed by a 90-min incubation in 5% normal horse serum in 5% BSA and 0.1% Triton X-100 to block unspecific binding, and incubated for 72h at 4°C in mouse Anti-

Rat NET antibody (1:1000, Mab Technologies). Sections were then incubated in horse anti-mouse biotinylated antibody (1/200, Vector Lab) for 2 hours. They were then incubated in streptavidin-coupled Alexa 488 (1/1000, Molecular Probe), rinsed 3 times in PBS, and coverslipped in Vectashield. NET-positive fibers were quantified from micrographs using MorphoExpert (Explora Nova, La Rochelle France). The total area of NET positive fibers was measured on a series of micrographs randomly taken from the GCL (60-80 images per group, 4-5 animals per groups). On each image, the area was calculated automatically using a simple luminance threshold algorithm (a single threshold was defined and used for all images) (Guerin et al., 2008). Results are expressed as the ratio between the NET-positive labeled area and the total area of the micrograph and between groups comparisons were made by two-way ANOVA with age and enrichment as factors and NET-positive fiber area as the dependent variable. Pair comparisons were done by *post hoc* tests (see 2.9).

2.8. Morphometric measurements of the OB

A series of Nissl-stained sections was used for morphometric measurements of the OB (3-4 animals per group). The different layers of the OB were delimited on 6 sections equally distributed along the antero-posterior axis (inter-section interval=280 μm) and the area of each layer was measured. Statistical analyses were performed using two-way ANOVA with age and enrichment as factors and layer surface area as the dependent variable followed by *post hoc* tests (see 2.9).

For all cell counts and area measurements, the experimenter was blind to the group to which the animals belonged.

2.9. Post ANOVA analysis

Following ANOVA, Fisher LSD *post hoc* tests were performed. Significance differences were also analyzed by the less liberal Tukey *post hoc* test. Differences were considered and reported as fully significant when significance for both Tukey and LSD. Unless specified, the p-values yield by Tukey are given in the text. Differences

significant only by LSD are discussed as less significant differences (Systat 7.0.1 software; SSI, Richmond, CA, USA).

3. Results

3.1. Olfactory functional correlates of aging

3.1.1. *Odor retention time during aging with and without enrichment*

To assess the retention time of an odorant, we used an olfactory recognition test. Mice were first exposed to a single odorant during acquisition, and re-exposed to both this odorant and a new one during recall (Figure 2A). A significantly higher exploration time for the novel odorant over the previously presented one during the recall test indicated that the mice remembered the first odorant as familiar. Results were expressed as the percentage of time spent exploring the novel odorant (preference for novel odorant) during the recall trial. In standard mice aged 2 and 10 months, the novel odorant was preferentially explored after 15 min ($p < 0.05$) but not after 30 and 60 min ($p > 0.05$) (Figure 2B, left panel) indicating that the 2 and 10-month old standard mice remembered the odorant 15 min after acquisition. Standard mice aged 23 months explored equally the novel and familiar odorants after 15, 30 and 60 min ($p > 0.05$) (Figure 2B) meaning that they did not remember the odorant at any of the time-delays tested.

In accordance with previously published literature (Rocheffort et al., 2002; Veyrac et al., 2009), enrichment greatly improved odor retention in the young, 2-month old mice. Indeed, we observed that they explored the novel odorant more than the familiar one after 15, 30, and 60 min ($p < 0.05$ for each time) (Figure 2B right panel). Interestingly, the 10-month old mice preferentially explored the novel odorant at 15 and 30 min ($p < 0.05$) but not at 60 min. Finally, enrichment had no effect on the 23-month old mice who investigated equally both odorants at 15, 30 and 60 minutes ($p > 0.05$), as did the 23-month old non-enriched mice (Figure 2B right panel).

In order to assess the potential effect of aging on the overall level of odorant exploration, we measured the mean investigation time of the two holes during the

acquisition trial (Exploration time in standard groups, mean \pm sem in sec: 2m: 15.54 \pm 1.05, 10m: 15.7 \pm 1.36, 23m: 12.3 \pm 1.14. In enriched groups: 2m: 20.7 \pm 1.1, 10m: 13.9 \pm 1.03, 23m:11.98 \pm 1.16). We found no age-dependent change in overall odor exploration among the standard mice ($F(2,130)=1.462$ $p>0.05$). Alterations in memory performance cannot thus be ascribed to altered exploratory behavior. Enrichment had no effect on odorant exploration except in the 2-month old animals who exhibited higher levels of investigation compared to the standard 2-month old mice ($p=0.003$ t-test) for difference between standard and enriched mice at 2 months), a difference that could contribute to their improved performance.

In summary, a deficit in short-term memory was observed in 23-month old mice. Olfactory enrichment improved short-term memory in 2-month old animals and to a lesser extent in 10-month old animals but had no effect in 23-month old mice.

3.1.2. *Effects of age and enrichment on fine olfactory discrimination abilities*

Spontaneous olfactory discrimination was assessed using a cross-habituation task, which measured to what extent a novel odorant was distinguished from a previously presented odorant. A habituation odorant was presented three times (Hab1, Hab2, Hab3) and then a test odorant was presented. This was either the habituation odorant (Test OHab) or molecules of the same family exhibiting a carbon chain with 1 (Test C+1) or 3 (Test C+3) more carbons than the habituation odorant (Figure 3A and Table 1). In this type of discrimination test, the more similar the chain lengths, the more difficult the odorants are to discriminate (Cleland et al., 2002). Using this protocol allowed varying perceptual proximity between odorants in order to assess gross or fine discrimination abilities.

-Habituation: this occurred regardless of the age of the animals as shown by the decrease in investigation times of the odorant across the habituation trials in all groups (trial effect $F(3,532)=9.69$, $p<0.001$; no interaction with age, $F(6,532)=0.96$, $p>0.05$) (Figure 3B).

-Discrimination: global two-way ANOVA analysis indicated that discrimination abilities differed between groups ($F(2,133)=13.13$, $p<0.001$) and between test odorants ($F(2,266)=8.72$, $p<0.001$). Results were then analyzed by pair comparisons of Test OHab and Test C+3 or Test C+1 odorant in each group.

We found the C+3 odorant in standard mice was investigated for longer than the habituation odorant ($p<0.01$) at all ages tested (Figure 3B). This result indicates that aging does not alter discrimination between distant odorants. In line with these results, the discrimination index measuring the strength of discrimination (see methods) was similar at all ages tested for the C+3 odorant in standard mice (age effect, $F(2,133)=1.07$, ($p<0.05$) (Figure 3C). After enrichment, the 2, 10 and 23-month old animals discriminated the C+3 odorant from the habituation odorant as did standard mice ($p<0.01$) (Figure 3B). Enrichment weakly improved the strength of discrimination in 10-month old animals (enrichment effect, $F(1,133)=5.43$, $p<0.05$, $p<0.05$ for difference between enriched and standard only in Fisher *post hoc* test) but not in 2 and 23-month old animals as measured by the discrimination index (Figure 3C).

The C+1 odorant was not discriminated from the habituation odor in standard animals in 2 or 23-month old animals (investigation time similar for test and habituation odor) although this was the case in mice aged 10 months ($p<0.05$) (Figure 3C). Thus in standard non-enriched animals the discrimination abilities of middle-aged mice was more refined than that of young or aged animals, as shown by the bell-shaped curve of the discrimination index for the C+1 odorant across ages (age effect, $F(2,133)=3.49$, $p<0.05$) (Figure 3C). Importantly, enriched animals became able to discriminate the C+1 odorant from the habituation odorant ($p<0.05$ for 2 and 23 months) (Figure 3B). This was accompanied by an increase in the discrimination index for the C+1 odorant in animals aged 23 months (enrichment effect, $F(1,133)=8.69$, $p<0.01$, $p<0.05$ for difference between enriched and standard mice at 23 months) (Figure 3C). In sum, these results showed an improvement of fine (C+1) discrimination following enrichment at both 2 and 23 months. In addition, 10-month old animals showed enrichment-induced enhancement in discrimination strength for the C+3 odorant (Figure 3C).

With the odor recognition test, we looked for potential age-related differences in global exploratory behavior in this cross-habituation task. Analysis of the mean odorant investigation times during the habituation trials indicated that both 10- and 23-month old mice globally explored the habituation odorant more than did the 2-month old mice (ANOVA age effect $F(2,133)=35.9$, $p<0.0001$, $p<0.0001$ for differences between 2 and 10 and between 2 or 23 months) (Figure 3D). Enrichment partially reversed this increase of exploration with aging (ANOVA enrichment effect, $F(1,133)=8.5$, $p<0.01$). Indeed, 10 and 23-month old enriched mice explored the habituation odorant significantly less than did the non-enriched animals of the same age ($p=0.022$ and $p=0.037$ respectively) (Figure 3D). This decrease in odorant investigation in enriched animals during habituation was unrelated to discrimination abilities since the 10 and 23-month old enriched animals explored the habituation odorant less than the non-enriched animals but overall showed better performance than non-enriched animals. In summary, gross discrimination abilities were not altered by aging. Fine discrimination was the highest in middle-aged mice. Enrichment improved discrimination strength according to a complex pattern, favoring fine discrimination in young and aged animals and discrimination between distant odorants in 10-month old mice.

3.2. A two-step reduction in neurogenesis with aging

The rate at which adult-born neurons are formed in the OB (neurogenesis) depends on the rate of proliferation of progenitors in the SVZ giving birth to neuroblasts, on their rate of long-term survival and on neuronal differentiation in the OB. Using the dividing cell marker BrdU, we measured both proliferation in the SVZ by sacrificing the animals shortly (2 hours) after BrdU administration and long-term survival of adult-born cells at a longer post-BrdU survival time (24 days) (Figure 1). We initially found that the density of BrdU-positive cells in the SVZ was strongly reduced (~by a factor of 3) between the age of 2 and 10 months (age effect, $F(2,10)=101.4$, $p<0.001$, $p<0.0001$ for difference between 2 and 10 months), (Figure 4 A and B). Then, from 10 to 23 months,

proliferation in the SVZ remained stable ($p > 0.05$) (Figure 4 B). We next measured the long-term survival of BrdU-positive cells in the GCL and in the GL of the OB. We observed in both layers that the density of newborn cells strongly decreased between 2 and 10 months and further decreased significantly between 10 and 23 months in the GCL (ANOVA age effect, $F(2,21)=219.4$, $p < 0.001$, ($p < 0.01$) for difference between 2 and 10 months or 10 and 23 months or 2 and 23 months) (Figure 4 C and D). The same was true in the GL (ANOVA Age effect $F(2,21)= 17.6$, $p < 0.001$) except that the significance of the difference between 2 and 10 months was lower than in the GCL ($p < 0.01$ in Fisher LSD only).

We then looked at the effect of aging on the neuronal differentiation of newborn cells. By analyzing the BrdU-positive cells co-expressing the neuronal marker NeuN, we showed that the rate of neuronal differentiation was in the order of 85 % in 2 and 10-month old animals and decreased significantly to $\approx 73\%$ at 23 months (age effect $F(2,21)=19.12$, $p < 0.01$) (Figure 4 E and F).

The strong reduction of neurogenesis with aging in the GCL was consistent with the reduction in the thickness of this layer revealed by morphometric measurements (age effect $F(2,21)=7.25$ $p < 0.01$) (Figure 4G).

In sum, during early adult life between 2 and 10 months, we observed a reduced proliferation in the SVZ leading to a reduced rate of adult-born neuron formation in the OB. Then between 10 and 23 months, the further reduction of neurogenesis was due both to a decreased supply of newborn cells to the OB independent of the rate of proliferation and to reduced neuronal differentiation.

3.3. Responses of neurogenesis to enrichment during aging

In line with previous studies (Rocheffort et al., 2002; Veyrac et al., 2009), enrichment did not affect proliferation of progenitors in the SVZ in young mice (enrichment effect, $F(1,10)=0.01$, $p > 0.05$). We expanded this finding to middle-aged and aged animals since no effect of enrichment on the density of BrdU-positive cells in the SVZ was found at these ages ($p > 0.05$) (Figure 4 B). Regarding the density of BrdU-positive cells

retrieved from the OB 24 days post BrdU, we found an effect of enrichment on BrdU-positive cell density in the GCL (enrichment effect, $F(1,21)=7.63$, $p<0.05$), but this effect was present only in young animals ($p<0.01$ for difference between standard and enriched at 2 months) (Figure 4 D). Enrichment had no effect on the GL, at any of the tested ages (enrichment effect, $F(1,21)=0.08$, $p>0.05$) (Figure 4 D). Neuronal differentiation in the OB assessed by BrdU/NeuN co-labeling was not affected by enrichment at any of the ages studied (enrichment effect, $F(1,21)=0.95$, $p>0.05$) (Figure 4 E, F). Finally, enrichment did not affect the surfaces of the OB layers (Figure 4G).

In summary, our findings indicate that the efficiency of enrichment in increasing the density of BrdU-positive cells in the OB is restricted to young animals and to the GCL.

3.4. Age-related decrease in the expression of noradrenergic markers and their responsiveness to enrichment

To investigate the evolution of the noradrenergic system with aging, we evaluated the density of DBH-positive cells in the LC as well as the density of NET-positive fibers in the OB (see methods). The density of DBH-positive cells within the LC was stable until 10 months and then decreased at 23 months in both standard and enriched animals (age effect $F(2,19)=27.19$ $p<0.001$) (Figure 5 A). Notably, enrichment was able to increase DBH-positive cell density in young (enrichment effect $F(1,19)=15.15$ $p<0.0019$, $p<0.01$ for the difference between standard and enriched animals) and to a lesser extent in middle-aged mice ($p<0.05$ only in Fisher LSD) compared to standard animals but not in 23-month old animals ($p>0.05$).

The surface occupied by NET-positive fibers was quantified in the GCL, the main target of the noradrenergic system in the OB (McLean et al., 1989). Results are expressed as a percentage of surfaces occupied by NET-positive fibers representing an index of noradrenergic fiber density. Aging reduced the density of NET-positive fibers in 23-month old animals compared to younger animals (ANOVA, age effect

$F(2,432)=4.48$, $p<0.05$). Enrichment did not change the density of NET fibers (enrichment effect, $F(1,432)=0.62$, $p>0.05$) (Figure 5 B).

4. Discussion

The present study investigated functional and cellular markers of olfactory aging and their plasticity in response to enrichment. A summary of the results is depicted in Figure 6. Firstly, using a behavioral approach, we found that short-term recognition memory and odor discrimination were differentially altered by aging and modulated by odor enrichment. Second, we found that the density of newborn cells in the OB decreased with aging according to a two-step mechanism, including an early decrease in the proliferation of progenitors during early adult life in mice, followed by a decrease of long-term survival and neuronal differentiation during later life (Figure 7). Furthermore, we found that neurogenesis plasticity was especially vulnerable during aging since enrichment had no effect on the rate of newborn cell formation after 2 months of age.

To assess short-term memory, we used an odor recognition task in which the animal had to discriminate a novel odorant from a familiar odorant. This type of simple odor recognition task has been shown to be hippocampus-independent and to be dependent on the OB and piriform cortex (Dudchenko et al., 2000; Fortin et al., 2002; Kaut et al., 2003). This test measures memory as long as the animals are able to discriminate the two odorants presented during recall. To ensure that this criterion was reached, we chose pairs of very dissimilar odorants in order to maximize the memory component of the test. Furthermore, *a posteriori* observations in the cross-habituation test (see below) indicated that animals of all groups were able to discriminate distant odorants. Finally, we ensured that the mice were able to detect the odorants used in the test by using relatively high concentrations of odorants. These were investigated at the same level during acquisition by the mice regardless of their age suggesting that the attractiveness of the odors was similar in all groups. The observation that 23-month

old mice, in contrast to younger animals, could not recognize the novel odorant after 15 minutes can thus be interpreted as an olfactory short-term memory deficit. This deficit could not be compensated by enrichment (Figure 6). Interestingly, while basic memory performance was maintained at 10 months, functional responsiveness to enrichment was partially lost. This finding indicates that the plastic mechanisms responsible for the effects of olfactory enrichment on memory were already altered at 10 months and emphasizes the necessity to challenge experience-dependent plasticity to reveal the early effect of aging on olfactory performance.

We then assessed spontaneous discrimination using the cross-habituation task. This task has a memory component represented by the inter-trial time-delay. To set this component at a similar level in all groups and minimize its impact, the inter-trial time was adjusted based on the results of the odor recognition task to fit the odor retention ability of the mice at different ages (15 min for 2 and 10 months, 5 min for 23-month old mice). The fact that all groups habituated to the odors in a similar way strongly supports the assumption that the memory challenge in the task was of the same order of difficulty for all groups. In the cross-habituation task, we used concentrations of odorants that were lower than in the odor recognition task, in line with previously published literature (Cleland et al., 2002; Guerin et al., 2008). However, the mice were still able to detect the odorants as shown by the fact that they showed habituation and dishabituation to distant odorants at all ages tested. Fine discrimination performance in aged mice was found to be degraded compared to that of 10-month old mice, but were similar to those of 2-month old animals. In a previous work, higher discrimination performance was described in 2-month than 24-month old mice (Enwere et al., 2004). However, this study used a reinforced task and it has been shown that a reinforced odorant is more easily discriminated from a perceptually similar odorant in young animals (Linster et al., 2002; Mandairon et al., 2006b). An improvement of discrimination in young mice may thus have contributed to this improved performance observed in young compared to aged mice. The task used here to assess spontaneous discrimination ability revealed that maximal discrimination performance was reached at

10 months, in fully mature animals, and that aging *per se* was observed between 10 and 23 months (Figure 6). This is reminiscent of a report on humans showing maximal discrimination performance in adults compared to teenagers (Hummel et al., 2007).

In sum, we found that basal short-term recognition memory performance declined markedly in 23-month old mice. In contrast, gross odor discrimination remained unchanged and fine discrimination abilities showed a complex pattern of evolution with higher performances in middle-aged (10-month old) mice. Taken together, these findings indicate differential aging of olfactory memory and discrimination abilities. Furthermore, we found a differential responsiveness of discrimination and memory performance to odor enrichment during aging. Indeed, enrichment improved discrimination performance in young, middle-aged and aged animals, unlike memory which was most enhanced in young animals. Discrimination performance and plasticity in response to enrichment were thus much better preserved with aging than was memory. These differential age-dependent changes in memory, discrimination abilities and sensitivity to enrichment suggest distinct underlying mechanisms of aging (Figure 6).

Among the cellular mechanisms potentially involved in the decline of olfactory function, we first investigated the rate of neurogenesis. Our results demonstrated a two-step decrease in neurogenesis which has not been described before. Proliferation of progenitors in the SVZ was drastically reduced first between 2 and 10 months, and directly caused a decrease in newborn neurons in the OB. Secondly, we observed a further reduction of newborn neurons in the OB between 10 and 23 months which occurred in spite of a stable rate of proliferation. This observation led us to conclude that in the second part of life, a decrease in migration and/or survival of newborn cells appeared and was responsible for the reduction in newborn cells in the OB. In addition, less newborn cells differentiated into neurons revealing another mechanism by which neurogenesis is decreased in aged animals. Taken together, these data suggest that neurogenesis occurs in three age-dependent states, a juvenile state found in young (2-month old) animals characterized by a high proliferation rate, an adult state found in

middle-aged (10-month old animals) characterized by a lower rate of proliferation and a good rate of survival and differentiation, and finally, a senile state characterized by an alteration of survival and neuronal differentiation in aged (23-month old) animals (Figure 7). The distinction between the juvenile and adult states was reinforced by the observation of the effects of enrichment. Indeed, enrichment was efficient in increasing neurogenesis at 2 months only, suggesting that the experience-dependent improvement in neurogenesis was restricted to the juvenile state. It is also worth noting that since proliferation in the SVZ was unchanged by enrichment, the increase in the density of adult-born cells in the GCL of the young OB in response to enrichment was due to a higher proportion of progenitors reaching and surviving in the OB. These mechanisms are thus likely targeted by aging. We can not exclude that longer enrichment periods could have improved neurogenesis in older animals as was found to be the case in a study targeting environmental enrichment in the hippocampus (Kempermann et al., 1998). Nevertheless, our data clearly show that the responsiveness of neurogenesis to odor enrichment is reduced very early in life.

Adult-born interneurons in the OB could play roles in different aspects of olfactory perception. Fine discrimination deficits have been reported in mice with genetically reduced neurogenesis (Gheusi et al., 2000). In line with this, reduced neurogenesis has been described in aged animals (Tropepe et al., 1997; Enwere et al., 2004) accompanied by alterations to fine discrimination abilities (Enwere et al., 2004). Based on these correlations, the authors suggested a role for neurogenesis in discrimination abilities. However our data, providing information on the kinetics of fine discrimination abilities during aging, strongly suggest that the rate of neurogenesis does not correlate with fine discrimination abilities, since maximal performance was reached at 10 months when neurogenesis was already drastically reduced compared to younger animals. Taken together, these data suggest that fine spontaneous discrimination performance may not depend on the rate of formation of adult-born neurons in the OB, at least in middle-aged and senescent mice. Furthermore, , discrimination performance remained

sensitive to enrichment, in contrast to the rate of neurogenesis, suggesting that enrichment-induced improvement in discrimination may not be dependent on modulation of the rate of neurogenesis in middle-aged and aged animals.

Adult-born interneurons have also been proposed to assume specific roles in olfactory memory, although the literature on this topic is somewhat contradictory. Newborn neurons were proposed to support olfactory long-term memory in young animals (Lazarini et al., 2009; Sultan et al., 2010) or short-term memory (Breton-Provencher et al., 2009) and to be the site of NMDA-dependent plasticity (Nissant et al., 2009). Here, we found that short-term memory performance was lowest in aged animals showing lower levels of neurogenesis. This is in line with previous studies suggesting that the effect of enrichment on short-term memory in young animals is at least partly mediated by an increase in neurogenesis (Rochefort et al., 2002; Veyrac et al., 2009). Importantly, our findings further reveal that the full positive effect of enrichment on memory is observed in young animals which also respond to enrichment by increased neurogenesis. The reduced or even absent experience-dependent improvement in memory performance observed in middle-aged and aged animals respectively, may thus result from a weak rate of neurogenesis and from the absence of any neurogenic response to enrichment.

Neurogenic and pro-mnesic effects of enrichment have previously been proposed to depend on the activation of the noradrenergic system (Veyrac et al., 2009). Furthermore, activation of the noradrenergic system is known to favor short-term memory performance (Veyrac et al., 2007). Here, we showed that enrichment raised noradrenergic system activity in 10-month old animals to the same level as in 2-month animals, but improved memory to a lower level than in 2-month animals (Figure 6). This suggests that the noradrenergic system may stimulate memory performance, at least partly, through acting on newborn neurons. Our data further showed that enrichment had no effect on the NET positive fiber density in the OB suggesting that the positive effects of enrichment are more likely mediated by an increased release of NA by existing fibers rather than by promoting sprouting. Finally, based on previous

studies showing the neuro-protective effects of noradrenalin on newborn neurons (Bauer et al., 2003; Rizk et al., 2006), the alteration of the noradrenergic system illustrated by the reduction in expression in DBH and noradrenergic fibers in the OB in 23-month old mice could participate in the decreased survival of newborn neurons in the senescent OB. It is worth noting that the decrease in noradrenergic markers observed in aged animals could also contribute to the decline in their fine discrimination abilities, in line with previous reports on the influence of noradrenaline on discrimination (Doucette et al., 2007; Mandairon et al., 2008). In addition to noradrenergic mechanisms, other neurotransmitter systems could be altered during aging and may contribute to age-related functional alterations of olfaction. For example, cholinergic (Mandairon et al., 2010) and GABAergic-dependent mechanisms (Prediger et al., 2005b; Lasarge et al., 2009) have been recently shown to be altered during aging and could contribute to memory deficits in aged animals.

In conclusion, we have shown that olfactory aging is a complex process involving distinct functional and cellular compartments. Our data argue in favor of a juvenile state of the olfactory function in 2-month old animals, whereas the ages of 10 months and 23 months can be identified as adult and senescent stages, respectively. Taken together our data suggest that alterations of neurogenesis and the noradrenergic system could be more effective upon memory performance than on discrimination abilities during aging. Furthermore, our data emphasizes the higher lability of experience-dependent plasticity during aging, compared to basic function. Given the high importance of olfactory perception in rodents, and taking into consideration the similarities between the organization of the olfactory system in rodents and humans, the rodent's olfactory system could thus be a relevant model to study olfactory impairments and their biological correlates during aging.

5. Acknowledgments

This study was supported by “Cluster Handicap, Vieillesse, Neurosciences”, Région Rhône-Alpes, France. We thank Dr Nathalie Mandairon for her helpful comments on the manuscript.

References

- Bauer, S., Moyses, E., Jourdan, F., Colpaert, F., Martel, J.C., Marien, M. 2003. Effects of the alpha 2-adrenoreceptor antagonist dexefaroxan on neurogenesis in the olfactory bulb of the adult rat in vivo: selective protection against neuronal death. *Neuroscience*;117:281-291.
- Belluzzi, O., Benedusi, M., Ackman, J., LoTurco, J.J. 2003. Electrophysiological differentiation of new neurons in the olfactory bulb. *J Neurosci*;23:10411-10418.
- Bennett, E.L., Rosenzweig, M.R., Diamond, M.C. 1969. Rat brain: effects of environmental enrichment on wet and dry weights. *Science*;163:825-826.
- Breton-Provencher, V., Lemasson, M., Peralta, M.R., 3rd, Saghatelian, A. 2009. Interneurons produced in adulthood are required for the normal functioning of the olfactory bulb network and for the execution of selected olfactory behaviors. *J Neurosci*;29:15245-15257.
- Brushfield, A.M., Luu, T.T., Callahan, B.D., Gilbert, P.E. 2008. A comparison of discrimination and reversal learning for olfactory and visual stimuli in aged rats. *Behav Neurosci*;122:54-62.
- Carleton, A., Petreanu, L.T., Lansford, R., Alvarez-Buylla, A., Lledo, P.M. 2003. Becoming a new neuron in the adult olfactory bulb. *Nat Neurosci*;6:507-518.
- Cleland, T.A., Sethupathy, P. 2006. Non-topographical contrast enhancement in the olfactory bulb. *BMC Neurosci*;7:7.
- Cleland, T.A., Morse, A., Yue, E.L., Linster, C. 2002. Behavioral models of odor similarity. *Behav Neurosci*;116:222-231.
- Doucette, W., Milder, J., Restrepo, D. 2007. Adrenergic modulation of olfactory bulb circuitry affects odor discrimination. *Learn Mem*;14:539-547.
- Dudchenko, P.A., Wood, E.R., Eichenbaum, H. 2000. Neurotoxic hippocampal lesions have no effect on odor span and little effect on odor recognition memory but produce significant impairments on spatial span, recognition, and alternation. *J Neurosci*;20:2964-2977.
- Enwere, E., Shingo, T., Gregg, C., Fujikawa, H., Ohta, S., Weiss, S. 2004. Aging results in reduced epidermal growth factor receptor signaling, diminished olfactory neurogenesis, and deficits in fine olfactory discrimination. *J Neurosci*;24:8354-8365.
- Fortin, N.J., Agster, K.L., Eichenbaum, H.B. 2002. Critical role of the hippocampus in memory for sequences of events. *Nat Neurosci*;5:458-462.
- Gheusi, G., Cremer, H., McLean, H., Chazal, G., Vincent, J.D., Lledo, P.M. 2000. Importance of newly generated neurons in the adult olfactory bulb for odor discrimination. *Proc Natl Acad Sci U S A*;97:1823-1828.
- Guerin, D., Peace, S.T., Didier, A., Linster, C., Cleland, T.A. 2008. Noradrenergic neuromodulation in the olfactory bulb modulates odor habituation and spontaneous discrimination. *Behav Neurosci*;122:816-826.
- Guerin, D., Sacquet, J., Mandairon, N., Jourdan, F., Didier, A. 2009. Early locus coeruleus degeneration and olfactory dysfunctions in Tg2576 mice. *Neurobiol Aging*;30:272-283.
- Hawkes, C. 2003. Olfaction in neurodegenerative disorder. *Mov Disord*;18:364-372.

- Hummel, T., Kobal, G., Gudziol, H., Mackay-Sim, A. 2007. Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol*;264:237-243.
- Imayoshi, I., Sakamoto, M., Ohtsuka, T., Takao, K., Miyakawa, T., Yamaguchi, M., Mori, K., Ikeda, T., Itohara, S., Kageyama, R. 2008. Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neurosci*;11:1153-1161.
- Kaut, K.P., Bunsey, M.D., Riccio, D.C. 2003. Olfactory learning and memory impairments following lesions to the hippocampus and perirhinal-entorhinal cortex. *Behav Neurosci*;117:304-319.
- Kay, L.M., Laurent, G. 1999. Odor- and context-dependent modulation of mitral cell activity in behaving rats. *Nat Neurosci*;2:1003-1009.
- Kempermann, G., Kuhn, H.G., Gage, F.H. 1998. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *J Neurosci*;18:3206-3212.
- Kendrick, K.M., Levy, F., Keverne, E.B. 1992. Changes in the sensory processing of olfactory signals induced by birth in sleep. *Science*;256:833-836.
- Kraemer, S., Apfelbach, R. 2004. Olfactory sensitivity, learning and cognition in young adult and aged male Wistar rats. *Physiol Behav*;81:435-442.
- Lasarge, C.L., Banuelos, C., Mayse, J.D., Bizon, J.L. 2009. Blockade of GABA(B) receptors completely reverses age-related learning impairment. *Neuroscience*;164:941-947.
- LaSarge, C.L., Montgomery, K.S., Tucker, C., Slaton, G.S., Griffith, W.H., Setlow, B., Bizon, J.L. 2007. Deficits across multiple cognitive domains in a subset of aged Fischer 344 rats. *Neurobiol Aging*;28:928-936.
- Lazarini, F., Mouthon, M.A., Gheusi, G., de Chaumont, F., Olivo-Marin, J.C., Lamarque, S., Abrous, D.N., Boussin, F.D., Lledo, P.M. 2009. Cellular and behavioral effects of cranial irradiation of the subventricular zone in adult mice. *PLoS One*;4:e7017.
- Linster, C., Johnson, B.A., Morse, A., Yue, E., Leon, M. 2002. Spontaneous versus reinforced olfactory discriminations. *J Neurosci*;22:6842-6845.
- Lledo, P.M., Alonso, M., Grubb, M.S. 2006. Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nat Rev Neurosci*;7:179-193.
- Lois, C., Alvarez-Buylla, A. 1994. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science*;264:1145-1148.
- Mandairon, N., Stack, C., Kiselycznyk, C., Linster, C. 2006a. Enrichment to odors improves olfactory discrimination in adult rats. *Behav Neurosci*;120:173-179.
- Mandairon, N., Sacquet, J., Garcia, S., Ravel, N., Jourdan, F., Didier, A. 2006b. Neurogenic correlates of an olfactory discrimination task in the adult olfactory bulb. *Eur J Neurosci*;24:3578-3588.
- Mandairon, N., Peace, S., Karnow, A., Kim, J., Ennis, M., Linster, C. 2008. Noradrenergic modulation in the olfactory bulb influences spontaneous and reward-motivated discrimination, but not the formation of habituation memory. *Eur J Neurosci*;27:1210-1219.
- Mandairon, N., Peace, S.T., Boudadi, K., Boxhorn, C.E., Narla, V.A., Suffis, S.D., Cleland, T.A. 2010. Compensatory responses to age-related decline in odor quality acuity: Cholinergic neuromodulation and olfactory enrichment. *Neurobiol Aging*;doi:10.1016/j.neurobiolaging.2009.12.024.
- Mandairon, N., Sultan, S., Rey, N., Kermen, F., Moreno, M., Busto, G., Farget, V., Messaoudi, B., Thevenet, M., Didier, A. 2009. A computer-assisted odorized hole-board for testing olfactory perception in mice. *J Neurosci Methods*;180:296-303.

- Martin, C., Gervais, R., Messaoudi, B., Ravel, N. 2006. Learning-induced oscillatory activities correlated to odour recognition: a network activity. *Eur J Neurosci*;23:1801-1810.
- McLean, J.H., Shipley, M.T., Nickell, W.T., Aston-Jones, G., Reyher, C.K. 1989. Chemoanatomical organization of the noradrenergic input from locus coeruleus to the olfactory bulb of the adult rat. *J Comp Neurol*;285:339-349.
- Murphy, C. 1993. Nutrition and chemosensory perception in the elderly. *Crit Rev Food Sci Nutr*;33:3-15.
- Murphy, C. 1999. Loss of olfactory function in dementing disease. *Physiol Behav*;66:177-182.
- Nissant, A., Bardy, C., Katagiri, H., Murray, K., Lledo, P.M. 2009. Adult neurogenesis promotes synaptic plasticity in the olfactory bulb. *Nat Neurosci*;12:728-730.
- Nithianantharajah, J., Hannan, A.J. 2006. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat Rev Neurosci*;7:697-709.
- Patel, R.C., Larson, J. 2009. Impaired olfactory discrimination learning and decreased olfactory sensitivity in aged C57Bl/6 mice. *Neurobiol Aging*;30:829-837.
- Petreau, L., Alvarez-Buylla, A. 2002. Maturation and death of adult-born olfactory bulb granule neurons: role of olfaction. *J Neurosci*;22:6106-6113.
- Prediger, R.D., Fernandes, D., Takahashi, R.N. 2005a. Blockade of adenosine A2A receptors reverses short-term social memory impairments in spontaneously hypertensive rats. *Behav Brain Res*;159:197-205.
- Prediger, R.D., Pamplona, F.A., Fernandes, D., Takahashi, R.N. 2005b. Caffeine improves spatial learning deficits in an animal model of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) -- the spontaneously hypertensive rat (SHR). *Int J Neuropsychopharmacol*;8:583-594.
- Rizk, P., Salazar, J., Raisman-Vozari, R., Marien, M., Ruberg, M., Colpaert, F., Debeir, T. 2006. The alpha2-adrenoceptor antagonist dexefaroxan enhances hippocampal neurogenesis by increasing the survival and differentiation of new granule cells. *Neuropsychopharmacology*;31:1146-1157.
- Rocheffort, C., Gheusi, G., Vincent, J.D., Lledo, P.M. 2002. Enriched odor exposure increases the number of newborn neurons in the adult olfactory bulb and improves odor memory. *J Neurosci*;22:2679-2689.
- Roman, F.S., Alescio-Lautier, B., Soumireu-Mourat, B. 1996. Age-related learning and memory deficits in odor-reward association in rats. *Neurobiol Aging*;17:31-40.
- Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L. 1996. Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behav Brain Res*;78:57-65.
- Sale, A., Berardi, N., Maffei, L. 2009. Enrich the environment to empower the brain. *Trends Neurosci*;32:233-239.
- Schoenbaum, G., Nugent, S., Saddoris, M.P., Gallagher, M. 2002. Teaching old rats new tricks: age-related impairments in olfactory reversal learning. *Neurobiol Aging*;23:555-564.
- Schroeter, S., Apparsundaram, S., Wiley, R.G., Miner, L.H., Sesack, S.R., Blakely, R.D. 2000. Immunolocalization of the cocaine- and antidepressant-sensitive l-norepinephrine transporter. *J Comp Neurol*;420:211-232.
- Seiberling, K.A., Conley, D.B. 2004. Aging and olfactory and taste function. *Otolaryngol Clin North Am*;37:1209-1228, vii.
- Shepherd, G.M., Chen, W.R., Willhite, D., Migliore, M., Greer, C.A. 2007. The olfactory granule cell: from classical enigma to central role in olfactory processing. *Brain Res Rev*;55:373-382.
- Sultan, S., Mandairon, N., Kermen, F., Garcia, S., Sacquet, J., Didier, A. 2010. Learning-dependent neurogenesis in the olfactory bulb determines long-term olfactory memory. *FASEB J*;Mar 9. [Epub ahead of print].

- Tropepe, V., Craig, C.G., Morshead, C.M., van der Kooy, D. 1997. Transforming growth factor-alpha null and senescent mice show decreased neural progenitor cell proliferation in the forebrain subependyma. *J Neurosci*;17:7850-7859.
- van Praag, H., Kempermann, G., Gage, F.H. 2000. Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci*;1:191-198.
- Veyrac, A., Nguyen, V., Marien, M., Didier, A., Jourdan, F. 2007. Noradrenergic control of odor recognition in a nonassociative olfactory learning task in the mouse. *Learn Mem*;14:847-854.
- Veyrac, A., Sacquet, J., Nguyen, V., Marien, M., Jourdan, F., Didier, A. 2009. Novelty determines the effects of olfactory enrichment on memory and neurogenesis through noradrenergic mechanisms. *Neuropsychopharmacology*;34:786-795.
- Yokoi, M., Mori, K., Nakanishi, S. 1995. Refinement of odor molecule tuning by dendrodendritic synaptic inhibition in the olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A*;92:3371-3375.

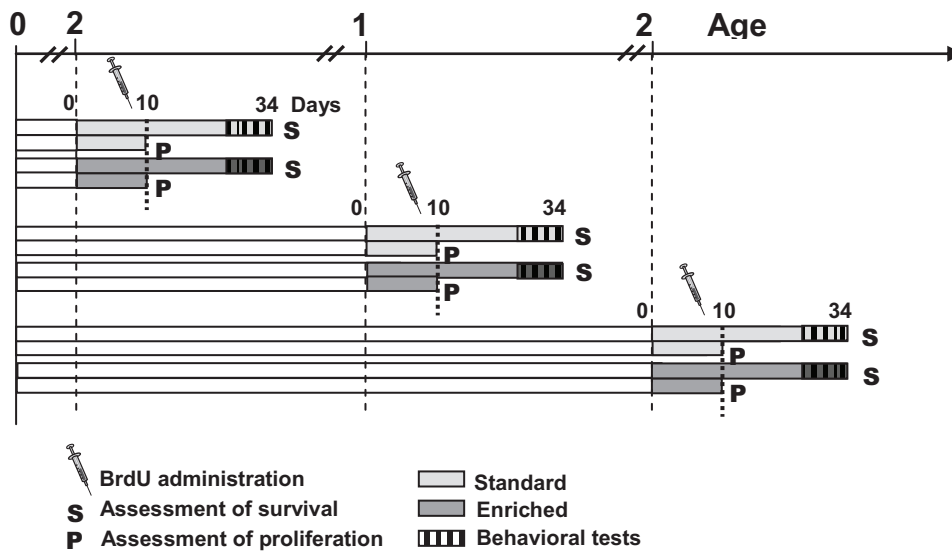


Figure 1 : Experimental design.

2, 10 and 23 month-old mice were separated into two groups, one housed in an odor enriched environment, one housed in standard conditions. After ten days of enrichment, all mice received 3 injections of BrdU (50mg/kg in saline with a 2-hour interval). 3 to 5 mice from each experimental group were then sacrificed on the same day to assess proliferation (P) in the subventricular zone (SVZ). The remaining animals continued the experiment and were submitted to behavioral tests of olfactory function from day 29 to day 34. They were then killed on day 34 and used to assess survival (S) of newborn neuron in the OB and histological analysis.

Odorant set	Test O hab	Test C+1	Test C+3
Acetate esters	Propyl acetate	Butyl acetate	Hexyl acetate
	$6,3 \times 10^{-5}$	$2,2 \times 10^{-4}$	$2,3 \times 10^{-3}$
Aldehydes	Pentanal	Hexanal	Octanal
	$6,6 \times 10^{-5}$	$2,2 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-3}$

Table 1: Odorant sets used for cross-habituation test.

Odorants are diluted (vol/vol) in mineral oil producing a vapor-phase pressure of 1 Pa. This table gives the volume of pure odorant to be diluted in one volume of mineral oil.

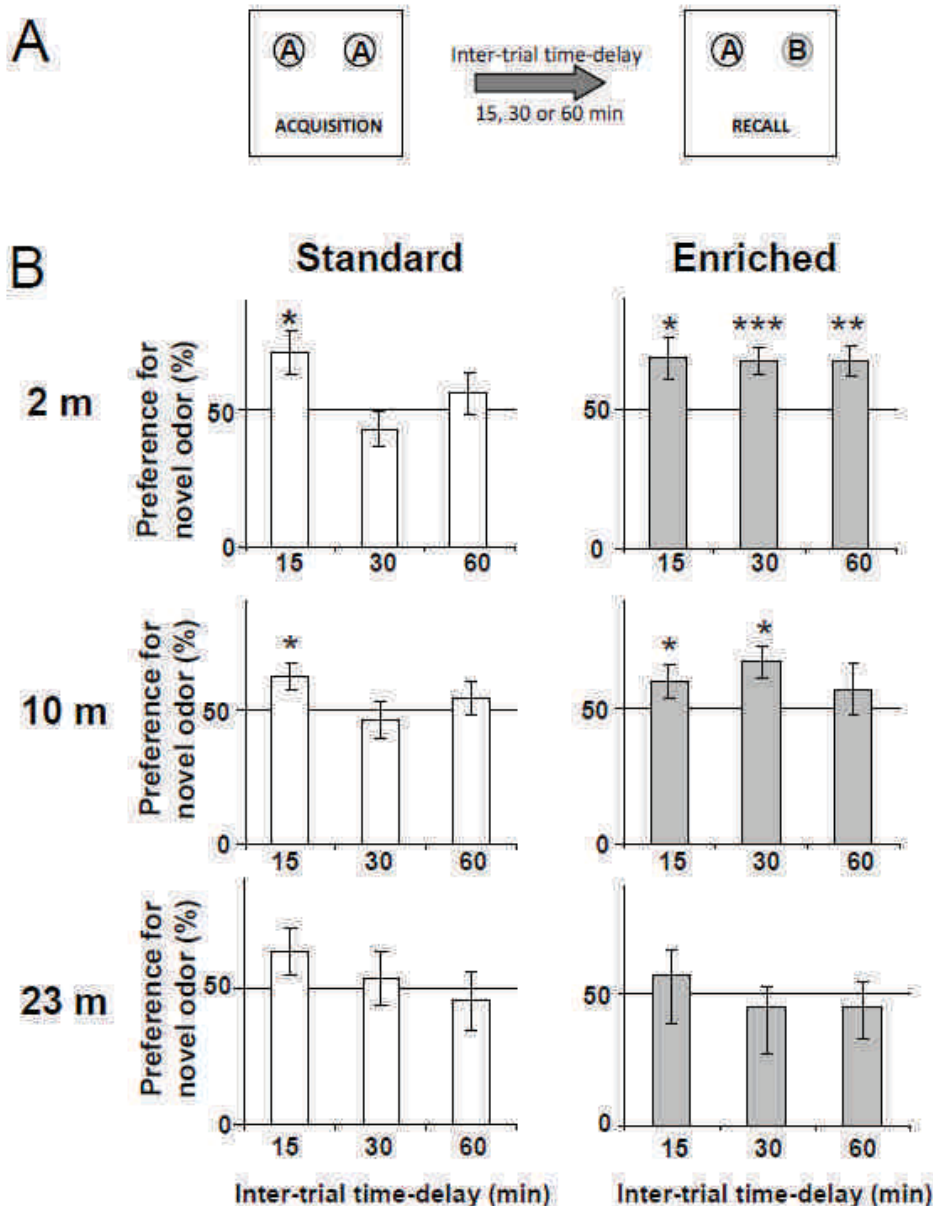


Figure 2: Effect of age and enrichment on odor retention.

A. Short-term memory was assessed using an odor recognition task performed on an automated 2-hole board apparatus. During a first acquisition trial (2 min), an unfamiliar odorant A was presented in both holes. After 15, 30 or 60 min, mice were exposed to a recall trial (2 min), with odorant A presented in one hole and a novel odorant B in the second hole. The order of presentation of A and B and their placement were randomized between animals. **B.** Results were expressed as preference for the novel odorant (investigation time of novel odorant / (investigation time of novel odorant + exploration time of familiar odorant) * 100). Preference above 50% indicated that the animals recognized the odorant B as novel and thus remembered odorant A. 2 and 10-month old standard mice preferentially investigated the novel odorant 15 min after acquisition. 23-month old standard mice did not show any preference for the novel odorant at any time tested. After enrichment, retention of odorant A was increased up to 60 min post acquisition in 2-month old mice and up to 30 min in 10-month old mice *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$, one-sample t-test for difference from 50%.

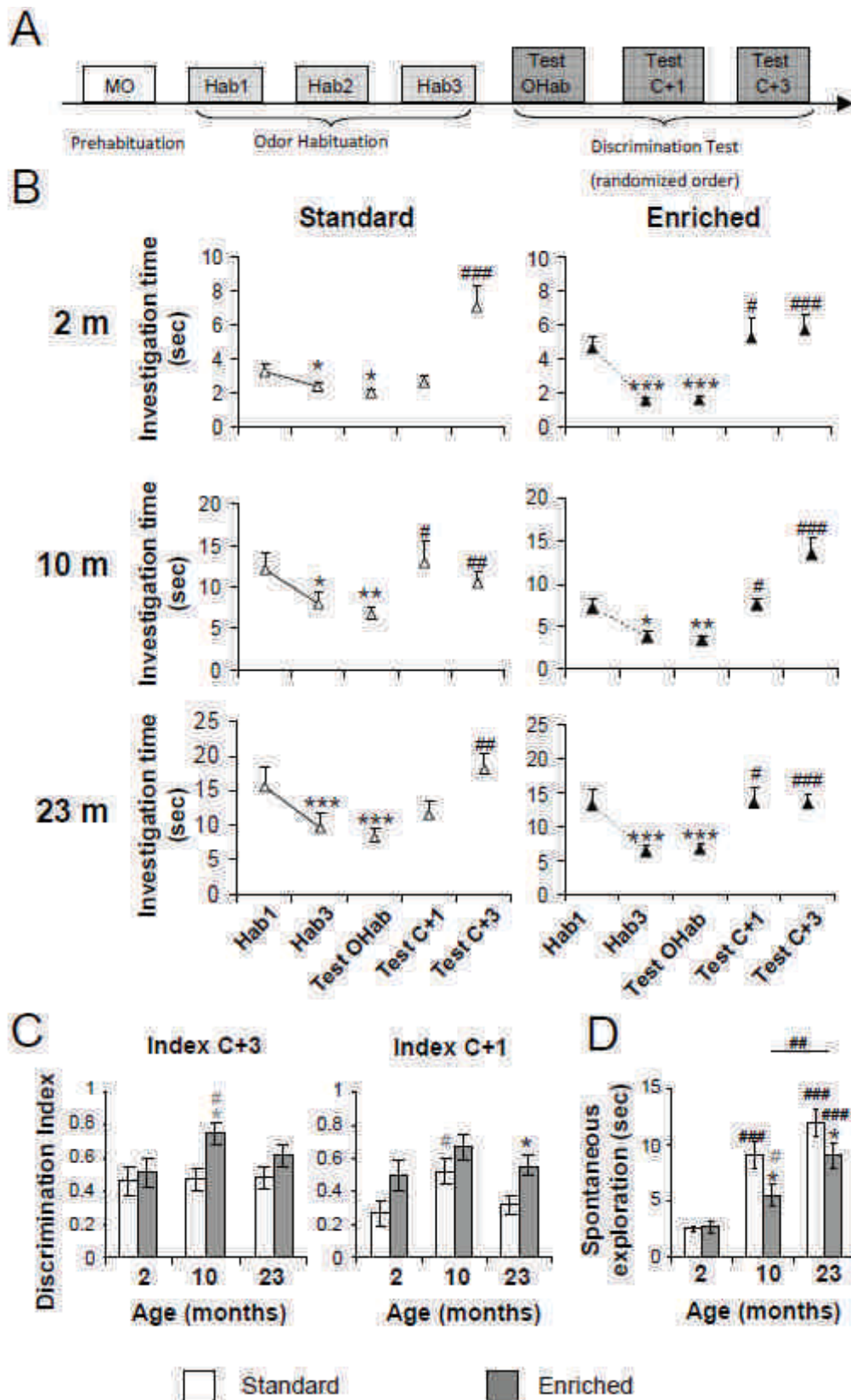


Figure 3 : Odor habituation and discrimination during aging with or without enrichment
A. Spontaneous discrimination was assessed using a cross-habituation task with an odorized Petri dish placed at the center of the board. Following a single familiarization trial with the experimental set up using mineral oil (MO), mice were exposed 3 times to the habituation odorant (Hab1 to Hab3) and then to the discrimination test using 3 test odorants presented in a randomized order. The test odors were the habituation odorant (Test OHab) or an odorant with a carbon chain length of one (Test C+1) or 3 (Test C+3) additional carbons with respect to the habituation odor. **B.** Investigation time of the habituation odorants decreased between Hab1

and Hab3 (Hab2 not shown) in all groups. Investigation time of the C+3 odorants increased in all groups compared to investigation of the habituation odorant presented during the discrimination phase (Test OHab trial). Standard animals investigated Test C+1 above Test OHab at the age of 10 months but not at 2 or 23 months. After enrichment, all animals could discriminate Test C+1 from Test OHab. *:p<0.05, **:p<0.01; ***:p<0.001 for difference from Hab1. #:p<0.05; ##: p<0.01; ###:p<0.001 for difference from Test OHab. **C.** Discrimination indices measuring the strength of discrimination. For the C+3 odorant, the index was similar at all ages in standard animals and improved at 10 months after enrichment. For the C+1 odorants, it was higher at 10 months than at 2 months in standard animals and improved with enrichment at 23 months. *:p<0.05 for difference between standard and enriched; #:p<0.05 for difference between 2 and 10 months (full significance is indicated in black for Tukey *post hoc* test, weaker significance is indicated in grey for Fisher LSD *post hoc* test). **D.** Global investigation time of the odorant during habituation trials. *:p<0.05 for difference between standard and enriched groups. #:p<0.05; ##:p<0.01; ###: p<0.001 for difference between 2 and 10 or 2 and 23-month old enriched animals (full significance is indicated in black for Tukey *post hoc* test, weaker significance is indicated in grey for Fisher LSD *post hoc* test).

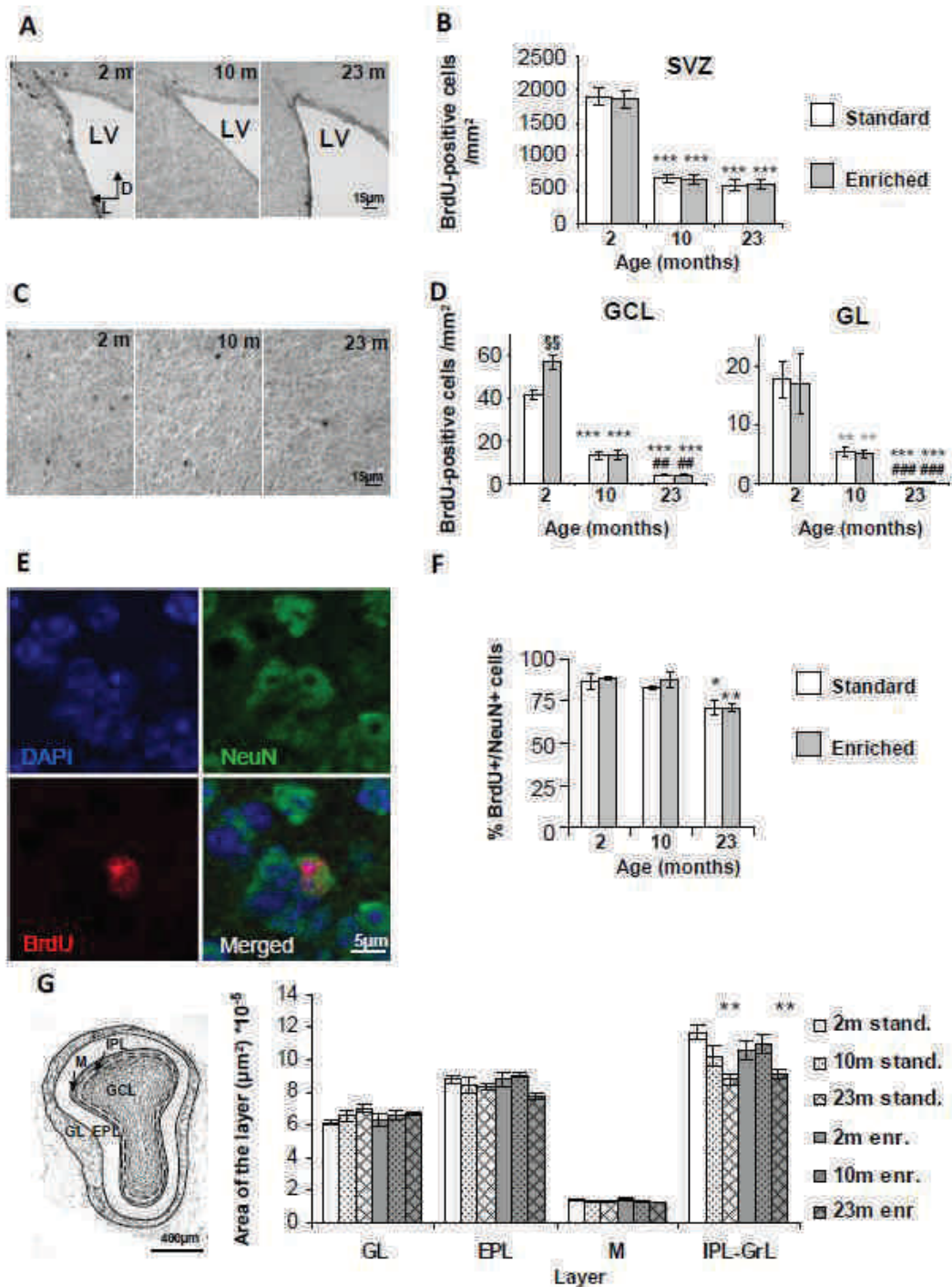


Figure 4: Neurogenesis during aging

A. Representative sections of the SVZ showing BrdU-positive cells. **B.** BrdU-positive cell density in the SVZ at 2, 10 and 23 months with and without olfactory enrichment. **C.** Representative views of the -GCL showing BrdU-positive cells. **D.** BrdU-positive cell density in the granule cell layer (GCL) and glomerular layer (GL) in 2, 10 and 23-month old standard and enriched mice. **:p<0.01 ***:p<0.001 for difference from 2 months. ##:p<0.01, ###:p<0.001 for difference between 23 and 10 months. §§: p<0.01 for difference between standard and enriched (full significance is indicated in black for Tukey *post hoc* test, weaker significance is indicated in grey for Fisher LSD *post hoc* test). **E.** Representative image of BrdU/NeuN double-labeling. DAPI (4,6 diamino-2-phenylindole) labels nucleus, NeuN (Neuronal Nuclei) labels mature neurons. **F.** Percentages of BrdU/NeuN double-labeled cells in the GCL of standard and enriched animals at 2, 10 and 23 months. *:p<0.05, **:p<0.01. **G.** Morphometric measurements of the surfaces of different layers of the OB in 2, 10 or 23-month old standard and enriched animals. The surface of the granule cell layer selectively decreased in aged animals. No effect of enrichment was observed. **:p<0.01 for difference from 2-month old animals. EPL: External plexiform layer; GCL: Granule cell layer; GL: Glomerular layer; IPL: Internal plexiform layer; M: Mitral cell layer.

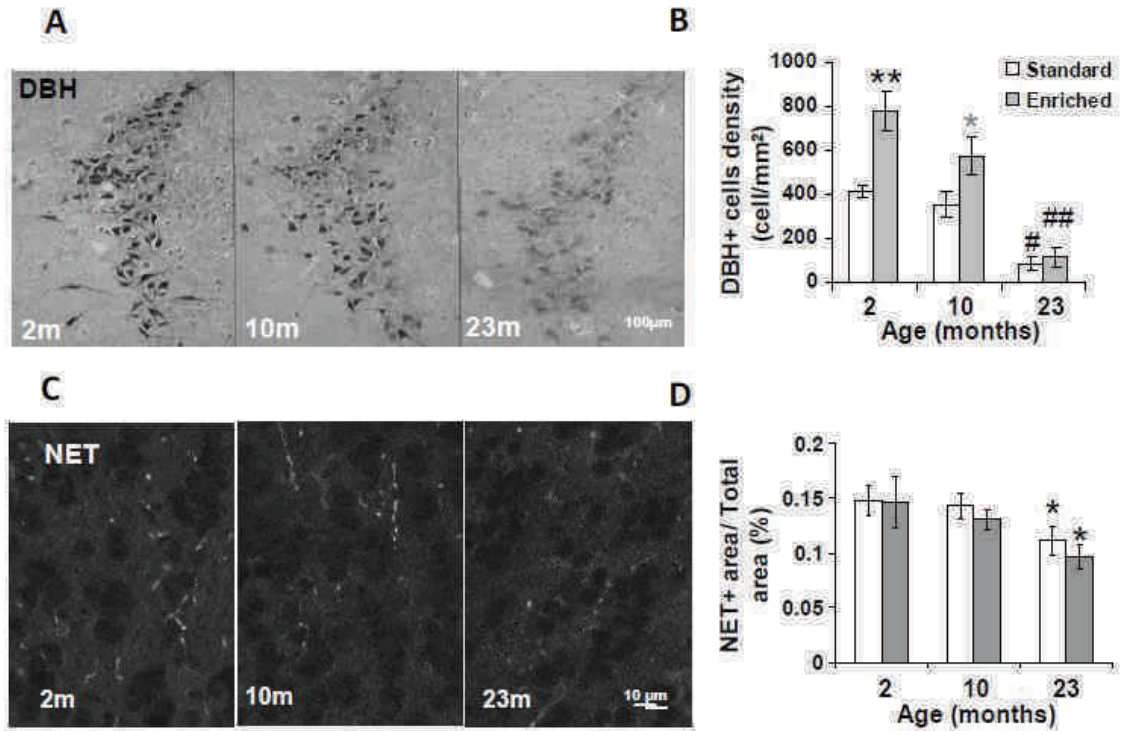


Figure 5: Noradrenergic status.

A. DBH labeling in the LC. **B.** Quantification of DBH-positive neurons in the LC. The density of DBH-positive cells was significantly reduced between 10 and 23 months. Enrichment significantly increased the density of these cells, in 2 and 10-month old mice *:p<0.05; **:p<0.01 for difference between standard and enriched animals. #:p<0.05 ##:p<0.01; for difference between 2 or 10 months and 23 months (full significance is indicated in black for Tukey *post hoc* test, weaker significance is indicated in grey for Fisher LSD *post hoc* test). **C.** Representative of NET labeling in the granule cell layer of the OB. **D.** Quantification of the area occupied by NET-positive fibers. Area of NET-positive fibers was significantly reduced in 23-month old mice Enrichment had no effect. *:p<0.05 for difference between 2 or 10 months and 23 months.

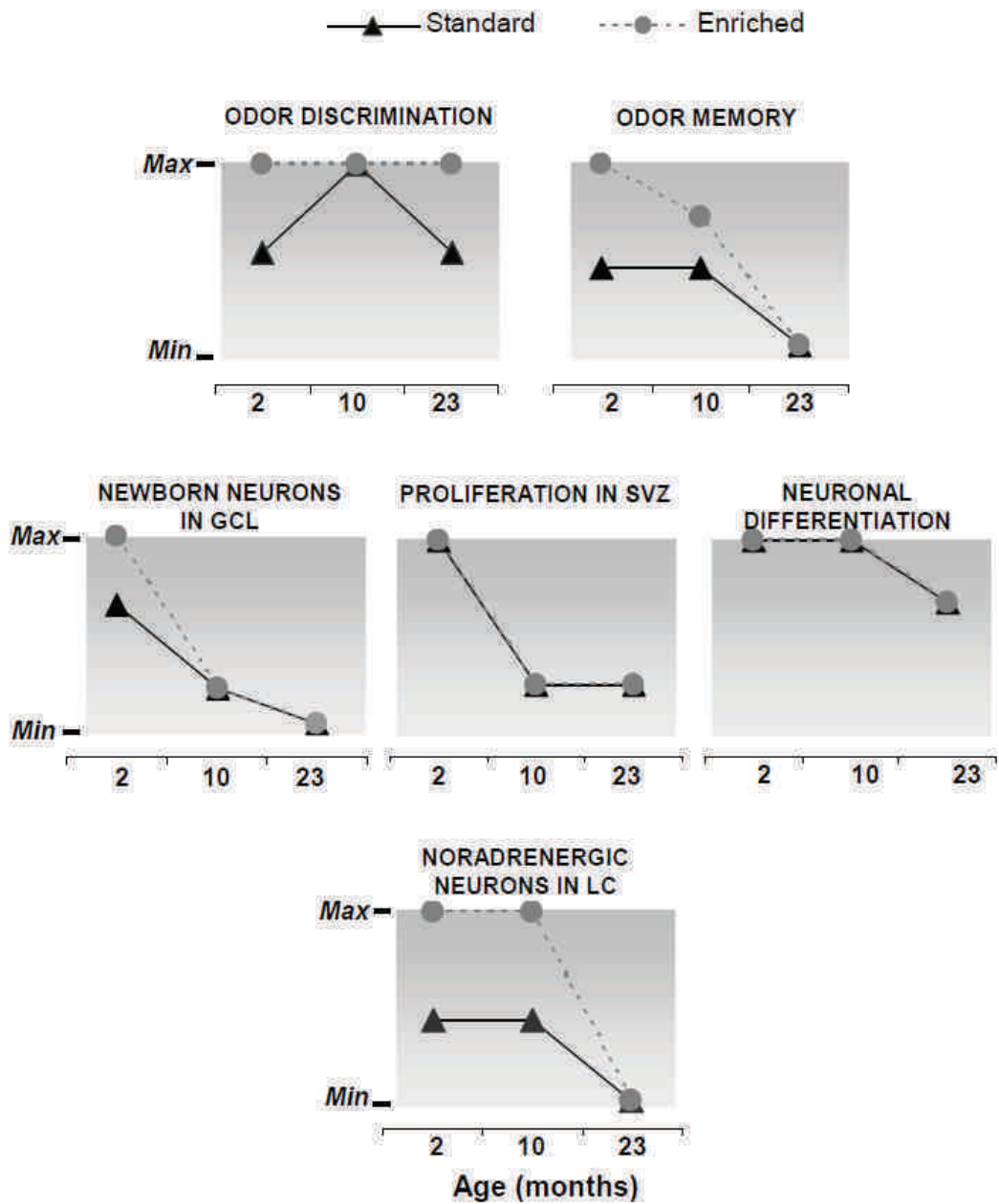


Figure 6: Summary of the effects of aging and enrichment on the functional and cellular markers of olfactory aging. On each panel, each parameter is indicated on a scale ranging from the minimal (Min) to the maximal (Max) measured value, for standard and enriched conditions.

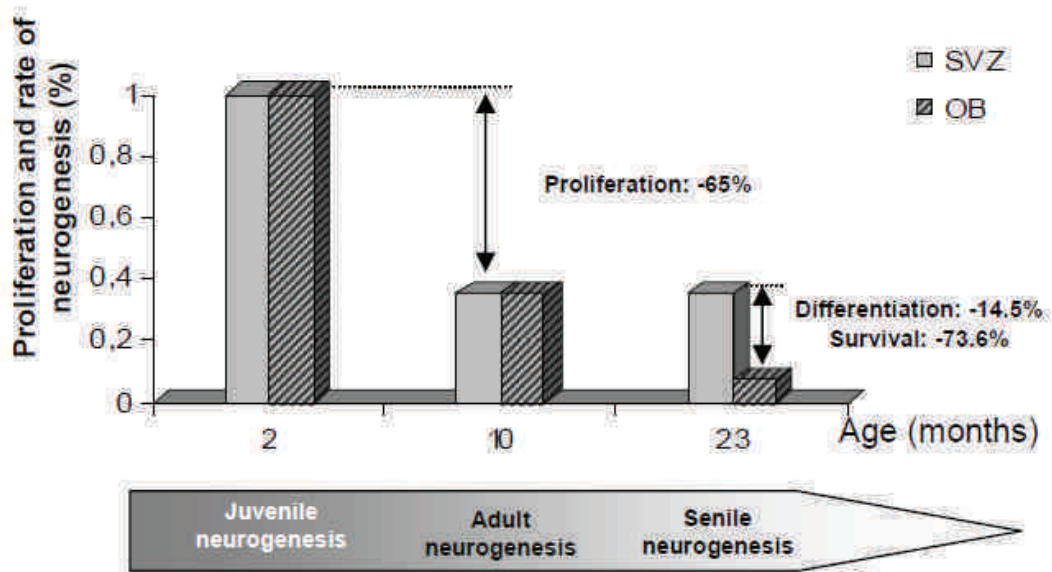


Figure 7. Schematic summary of the age-dependent changes in neurogenesis observed during aging in standard animals, allowing the identification of a juvenile, an adult and a senescent state of neurogenesis across life. Depicted values are BrdU-positive cell densities expressed as percentages of maximal values observed at 2 months in the SVZ or OB.

Etude 2

Locus coeruleus degeneration exacerbates olfactory deficits in APP/PS1 transgenic mice

NL Rey^{1,2}, D Jardanhazi-Kurutz², D Terwel², MP Kummer², F Jourdan¹, A Didier^{1*}, MT Heneka^{2*}

¹Laboratoire neurosciences sensorielles, comportement, cognition, UMR5020 CNRS, University Lyon1, University of Lyon, France

²University of Bonn, Department of Neurology, Clinical Neurosciences Unit, Bonn, Germany

Neurobiology of Aging, in press. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.10.009



ELSEVIER

Neurobiology of Aging xx (2010) xxx

**NEUROBIOLOGY
OF
AGING**

www.elsevier.com/locate/neuaging

Locus coeruleus degeneration exacerbates olfactory deficits in APP/PS1 transgenic mice

Nolwen L. Rey^{a,b}, Daniel Jardanhazi-Kurutz^b, Dick Terwel^b, Markus P. Kummer^b,
Francois Jourdan^a, Anne Didier^{a,1}, Michael T. Heneka^{b,1,*}

^a *Laboratoire neurosciences sensorielles, comportement, cognition, UMR5020 CNRS, University Lyon1, University of Lyon, Lyon, France*

^b *University of Bonn, Department of Neurology, Clinical Neurosciences Unit, Bonn, Germany*

Received 3 May 2010; received in revised form 27 September 2010; accepted 9 October 2010

Abstract

Neuronal loss in the locus coeruleus (LC) is 1 of the early pathological events in Alzheimer's disease (AD). Projections of noradrenergic neurons of the LC innervate the olfactory bulb (OB). Because olfactory deficits have been reported in early AD, we investigated the effect of induced LC degeneration on olfactory memory and discrimination in an AD mouse model. LC degeneration was induced by treating APP/PS1 mice with N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-bromo-benzylamine (DSP4) repeatedly between 3 and 12 months of age. Short term odor retention, ability for spontaneous habituation to an odor, and spontaneous odor discrimination were assessed by behavioral tests. DSP4 treatment in APP/PS1 mice resulted in an exacerbation of short term olfactory memory deficits and more discrete weakening of olfactory discrimination abilities, suggesting that LC degeneration contributes to olfactory deficits observed in AD. Importantly, DSP4 treatment also increased amyloid β ($A\beta$) deposition in the olfactory bulb of APP/PS1 mice, which correlated with olfactory memory, not with discrimination deficits.

© 2010 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Alzheimer's disease; Locus coeruleus; Noradrenaline; Olfaction; Odor discrimination; Odor memory

1. Introduction

The locus coeruleus (LC) is the main neuromodulatory nucleus that synthesizes noradrenaline (NA) and innervates cortical areas (Berridge and Waterhouse, 2003; Foote et al., 1983). NA produced by the LC plays a key role in general arousal, selective attention, and memory (Sara, 2009). Loss of LC neurons observed in various neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease (AD) (Marien et al., 2004) is correlated to the severity of dementia (Bondareff et al., 1987). Alterations of the noradrenergic system therefore have been proposed to contribute to clinical signs of AD (Marien et al., 2004). While the noradrenergic deficit is a

well-established feature of AD, its importance for cognition during the course of AD and the mechanisms by which NA influences AD pathogenesis have long remained unknown. Recently, a new approach combining LC lesion in an AD mouse model revealed that NA depletion increases $A\beta$ deposition, inflammation, and hippocampal cognitive deficits (Heneka et al., 2002, 2003, 2006; Kalinin et al., 2007). These findings underline that changes in the noradrenergic system aggravate the course of disease.

The olfactory bulb (OB) is a cortical sensory structure, directly receiving inputs from the olfactory sensory neurons located in the nasal cavity. Interestingly, the OB is a major efferent target of the LC as in rodents, about 40% of LC neurons project to different layers of the OB (McLean et al., 1989; Shipley et al., 1985). Accordingly, NA is strongly involved in olfactory perception and memory. For instance, odor discrimination ability is modulated by NA in a complex way as assessed by experimental manipulation target-

* Corresponding author at: Department of Neurology, Clinical Neurosciences Unit, Sigmund Freud Str. 25, 53127 Bonn, Germany. Tel.: +49 228 287 13092; fax: +49 228 287 13116.

E-mail address: michael.heneka@ukb.uni-bonn.de (M.T. Heneka).

¹ Authors contributed equally.

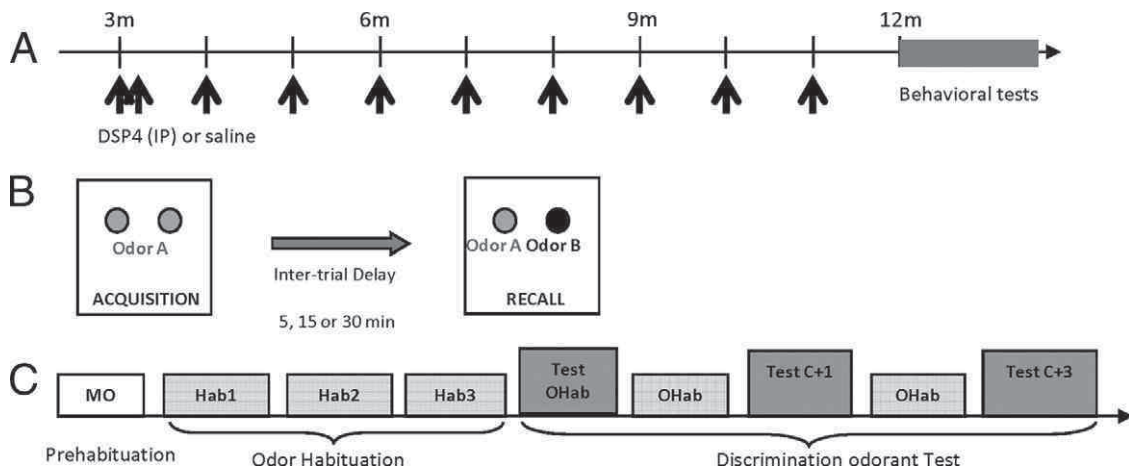


Fig. 1. Experimental design. (A) Experimental time course. Mice received an intraperitoneal injection of N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-bromo-benzylamine (DSP4) (50 mg/kg in saline) or equal volume of saline solution every month from 3 months to 11 months, and a supplementary injection 1 week after the first. Behavioral tests started when mice were 12 months old. (B) Odor retention task was conducted on a hole-board apparatus allowing automatic recording of odor investigation. During a first trial (acquisition), mice were exposed to the same odor in 2 holes. After a delay of 5, 15, or 30 minutes, mice were exposed to the first odor (familiar odor) in 1 hole, and a new 1 (novel odor) in the second hole during a second trial (recall). Each mouse performed the task twice and each member of the pair of odorants served alternatively as familiar and novel odor. A delay of several days was kept between the 2 tests. (C) Habituation/discrimination test. The odor was impregnated in a swab, placed in a tea ball, and hung in a clean cage. Mice were first habituated to the apparatus during a prehabituation trial with mineral oil (MO). Then mice were exposed to the habituation odor during 3 successive trials (Hab1, Hab2, Hab3) and finally to 3 presentations of test odorants (Test OHab, Test C+1, Test C+3) in a random order, separated by a presentation of habituation odor (OHab) between each test odorant. Experiments were repeated using 2 odors sets.

ing adrenoceptor types α or β (Doucette et al., 2007; Mandairon et al., 2008). NA infusion in the OB has been shown to restore odor habituation and spontaneous discrimination after LC lesion (Guerin et al., 2008). NA is also critical for maternal recognition in sheep (Levy et al., 1990), and participates in different forms of olfactory learning, from short term odor recognition (Veyrac et al., 2007) to associative conditioning (Bouret and Sara, 2004; Brennan et al., 1998; Moriceau and Sullivan, 2004). Finally, NA regulates adult olfactory neurogenesis (ongoing formation of new neurons in the OB), which is involved in odor memory formation (Lazarini et al., 2009; Nissant et al., 2009) and altered in neurodegenerative diseases (Curtis et al., 2007).

About 90% of patients with early AD exhibit olfactory dysfunction, including detection and identification deficits. These dysfunctions are severe and appear early in the pathological process (Hawkes, 2003). In line with these functional impairments, senile plaques and neurofibrillary tangles are encountered in the OB of AD brain (Attems et al., 2005; Kovacs et al., 2001), suggesting that it is among the first sites undergoing pathological changes in AD.

Altogether, these data suggest that early NA deficiency is part of and contributes to the vulnerability of the OB to pathological changes in AD and decline of cellular and cognitive aspects of OB functioning. In this study we investigated how LC lesioning with a specific neurotoxin (Fritschy and Grzanna, 1989) in a transgenic mouse model of AD at 3 months of age affects OB structure, as well as olfactory memory and discrimination at 12 months of age.

2. Methods

2.1. Animals, LC lesion and experimental groups

Male and female amyloid precursor protein (APP)/presenilin 1 (PS1) double transgenic mice (Jankowsky et al., 2001) were used (B6C3-Tg(APP^{swe}, PSEN1^{dE9}) 85Dbo/J, the Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA). The animals have been backcrossed for at least 8 generations. Twenty-two APP/PS1 hemizygous mice and 24 wild-type littermates, 3 months of age, were used. Animals were housed in individual cages under standard conditions with food and water ad libitum. The study design contained 4 mice treatment groups: APP/PS1 transgenic mice treated with N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-bromo-benzylamine (DSP4) or with saline, and their nontransgenic littermate controls treated with DSP4 or with saline. Treatments were done intraperitoneally using 50 mg/kg DSP4 or saline at 3 and 3.2 months and then 1 injection per month during 8 months (Jardanhazi-Kurutz et al., 2010) (Fig. 1A). Mice were last treated 1 month prior to behavioral testing.

This DSP4 treatment induces a persistent degeneration of noradrenergic neurons in the rat LC (Fritschy and Grzanna, 1989) and mouse (Heneka et al., 2006; Jardanhazi-Kurutz et al., 2010) and depletes at least 80% of cortical NA in mice (Heneka et al., 2006; Marien et al., 2004). Four experimental groups were thus constituted: wild-type mice, DSP4 treated wild-type mice, APP/PS1, and DSP4-treated APP/PS1 mice.

Table 1
Odor sets used for habituation/spontaneous discrimination test

Odor set	Prehabituation	Habituation phase	Discrimination phase		
		Hab1 - Hab3	Hab odor	C+1 odor	C+3 odor
Acetate esters	Mineral oil	Propyl acetate	Propyl acetate	Butyl acetate	Hexyl acetate
		6.3×10^{-5}	6.3×10^{-5}	2.2×10^{-4}	2.3×10^{-3}
Aldehydes	Mineral oil	Pentanal	Pentanal	Hexanal	Octanal
		6.6×10^{-5}	6.6×10^{-5}	2.2×10^{-4}	1.5×10^{-3}

Odors are diluted (vol/vol) in mineral oil producing a vapor-phase pressure of 1 Pa. The table gives the volume of pure odorant to be diluted in 1 volume of mineral oil.

Key: Hab, habituation.

2.2. Behavioral testing

2.2.1. Odor recognition task

This task allows assessment of retention of a memory trace associated with a nonrewarded exposure to an odor (Veyrac et al., 2007). Briefly, mice were exposed to 2 identical odors in the acquisition session and 1 identical and a novel odor in the recall session. Intertrial delays of 5, 15, and 30 minutes were used (Fig. 1B). The order of the tests at the 3 delays was randomized within each group.

2.2.1.1. Odorants. Three pairs of 2 odorants were used in this task: pure (+) limonene and pure (–) carvone; anisol (1%) and amyl acetate (1%), both diluted in mineral oil; pentanal (10%) and propyl acetate (10%) both diluted in mineral oil. Concentrations were chosen on the basis of our previous studies (Mandairon et al., 2009; Veyrac et al., 2009) to ensure a proper level of diffusion of the odor within the hole, assessed by the experimenter.

2.2.1.2. Data analysis. The time spent exploring each hole in every trial was automatically recorded by capacitive captors located in the holes (Mandairon et al., 2009) and averaged within groups. To analyze recognition of a previously encountered odor, investigation times were analyzed by an analysis of variance (ANOVA) for repeated measures for different interval times, followed by novel and familiar odor intragroup comparisons using paired *t* tests. More time spent investigating the novel odor over the familiar odor indicates that the latter, already presented during acquisition, is remembered.

In order to assess global exploratory behavior, mean exploration of the 2 holes during acquisition was calculated for each group, and compared by unpaired *t* tests.

The cumulative percentage of mice reaching a given level of preference for the novel odor was calculated for each group. Between group comparisons of these values were done by Kolmogorov-Smirnov tests.

2.2.2. Habituation/discrimination test

This olfactory test measures the nonassociative memory through habituation and discrimination by assessing cross-habituation between structurally and perceptually similar odorants (Cleland et al., 2002; Guerin et al., 2008; Mandairon et al., 2006). Tests were performed as described by

Guerin et al. (2008). Briefly, a swab was impregnated with an odorant and put in a mesh ball hanging in a clean cage. Mice were first habituated to the apparatus during a prehabituation trial with mineral oil (MO). Then mice were exposed to the habituation odor during 3 successive trials (Hab1, Hab2, Hab3) and finally to 3 presentations of test odors (Test OHab, Test C+1, Test C+3) in a random order, separated by a presentation of habituation odor (OHab) between each test odor. Investigation time in each trial is defined as duration of active sniffing with the nose less than 1 cm from the mesh ball.

2.2.2.1. Odor sets. According to previous literature validating the test (Cleland et al., 2002), all odorants were dissolved in mineral oil in order to reach a vapor-phase partial pressure of 1 Pa and prepared freshly for each experiment. Two sets of 3 odorants were used: a set of acetate esters and 1 of aldehyde odorants (Table 1). Within each set, the 3 odorants differed by the length of their carbon chain and correlatively differed in perceptual proximity. Odors become more perceptually different with the length of the carbon chain of the odorant (Cleland et al., 2002).

2.2.2.2. Data analysis. Investigation times during habituation and test trials were averaged across animals. Habituation and discrimination were analyzed by ANOVA for repeated measures followed by Fisher least significant difference (LSD) post hoc tests. Habituation was identified as a significant reduction of investigation time between Hab1 and Hab3 (Fig. 1C). Discrimination was identified as significant increase of investigation time during presentation of a test odorant, compared with the habituation odor (Cleland et al., 2002).

To compare habituation and discrimination performance independently of overall variations in investigation times, a habituation index and a discrimination index were calculated for each group (Guerin et al., 2009). The habituation index was calculated as $1 - (\text{Hab3}/\text{Hab1})$, where Hab3 was the investigation time of the odor during the third habituation trial and Hab1 the investigation time during the first presentation of the habituation odor (Fig. 1C). The discrimination index was defined as $1 - (\text{Test OHab}/\text{Test C+1 or Test C+3})$, where Test C+1 or Test C+3 was the time the test odor was investigated, and Test OHab, the time the

habituation odor was investigated. Between group differences in indexes were analyzed by classical ANOVA for habituation and ANOVA for repeated measures for discrimination, followed by Fisher LSD post hoc tests. In order to assess global exploratory behavior, mean exploration of the habituation odor during the habituation phase was calculated for each group, and compared by unpaired Student *t* tests.

2.3. Immunohistochemistry

Animals were treated, brains collected and immunohistochemistry for the norepinephrine transporter (NET) performed as described by Jardanhazi-Kurutz et al. (2010). Frontal OB sections taken at same anteroposterior level for the different animals were processed simultaneously for immunohistochemistry for the NET. Pictures of the granule cell layer, the main target of noradrenergic fibers in the OB, were taken on a BX61 fluorescence microscope using a 40× objective (both Olympus, Hamburg, Germany) and analyzed with Morpho Expert (Explora Nova, La Rochelle, France). The total area of NET positive fibers was measured in series of images of the granule cell layer (10 images per animal; 4–5 animals per experimental group). Area measurements were calculated automatically in Morpho Expert by a simple luminance thresholding algorithm. Results were expressed as the ratio between the NET positive area and the total area of interest and analyzed by ANOVA and post hoc pairwise comparisons.

2.4. Thioflavin S staining

Eight sections with an interval of 70 μm were stained with thioflavin S according to standard procedures and mounted in mounting medium adapted to immunofluorescence (Mowiol 4-80, Merck, Darmstadt, Germany) and containing the antifading agent 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (Sigma, München, Germany). The number of plaques and total area occupied by thioflavin S positive plaques were assessed by a self written script programmed on NIH ImageJ 1.42 using the maximum entropy threshold plug-in and the area occupied by thioflavin S positive plaques in different layers of the OB was assessed by Morpho Expert (Explora Nova, La Rochelle, France). Results were analyzed by unpaired *t* tests.

2.5. Nissl staining (cresyl violet) and morphometric measurements

A series of 6 sections equally distributed along the anteroposterior axis of the OB (and taken at the same anteroposterior level for each animal) with an interval of 280 μm was stained with cresyl violet. The different layers of the OB were then delineated using the mapping software Mercator V1.85 (Explora Nova, La Rochelle, France). The area of each layer was assessed and analyzed by ANOVA followed by Fisher LSD post hoc tests.

2.6. Statistics

Student *t* tests were performed using Prism 5 (GraphPad, San Diego, CA, USA), Kolmogorov-Smirnov tests using StatView 5.0.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA), and ANOVA, followed by Fisher LSD post hoc test using SYSTAT 7.0.1 (SSI, Richmond, CA, USA).

3. Results

3.1. DSP4 treatment strongly reduces noradrenergic fibers in the OB

To assess the effect of the DSP4 treatment on noradrenergic innervation of the OB, noradrenergic fibers in the OB were labeled using immunohistochemistry for the NET as a marker of noradrenergic terminals (Jardanhazi-Kurutz et al., 2010). Areas occupied by NET positive fibers were quantified in the granule cell layer, the main target of noradrenergic fibers in the OB (McLean et al., 1989) (Fig. 2A). Wild-type and APP/PS1 mice showed no difference in NET positive fibers. As expected, DSP4 treatment strongly decreased NET positive fibers in both wild-type and APP/PS1 mice, indicating that the treatment effectively induced degeneration of noradrenergic fibers in the OB (Fig. 2B).

3.2. DSP4 treatment increased A β deposition in the OB

The number of amyloid plaques and the area labeled by thioflavin S were assessed in the OB. Amyloid plaques were found in the OB of APP/PS1 mice. The area labeled by thioflavin S was increased by DSP4 treatment (Fig. 2C, D). The same result was found for the number of plaques (3-fold increase, unpaired *t* test, $p < 0.01$, data not shown). Amyloid plaques were found essentially in the granular layer of the OB where DSP4 treatment increased the total thioflavin S-labeled area (Fig. 2E).

3.3. Structural integrity of OB

To further analyze the structural integrity of the OB, the cross-sectional area of each layer was delineated and measured on a series of sections regularly distributed along the rostrocaudal axis (see Methods) (Fig. 2F). We found that the overall laminar organization of the OB was preserved in APP/PS1 and DSP4 treated mice (Fig. 2G). The area of the glomerular layer, which receives inputs from the nasal cavity, was similar in all groups, suggesting that the peripheral olfactory input was not altered by transgene expression or DSP4 treatment. In contrast, the area of the granule cell layer, which contains the granular interneurons (Shepherd et al., 2007), was reduced in APP/PS1 mice and APP/PS1 DSP4-treated mice. Finally, the area of the external plexiform layer in which granule cell interneurons project their main dendritic trees, was reduced only in APP/PS1 DSP4-treated mice, indicating that DSP4 treatment had aggravated the deleterious effect of the APP/PS1 transgene on the

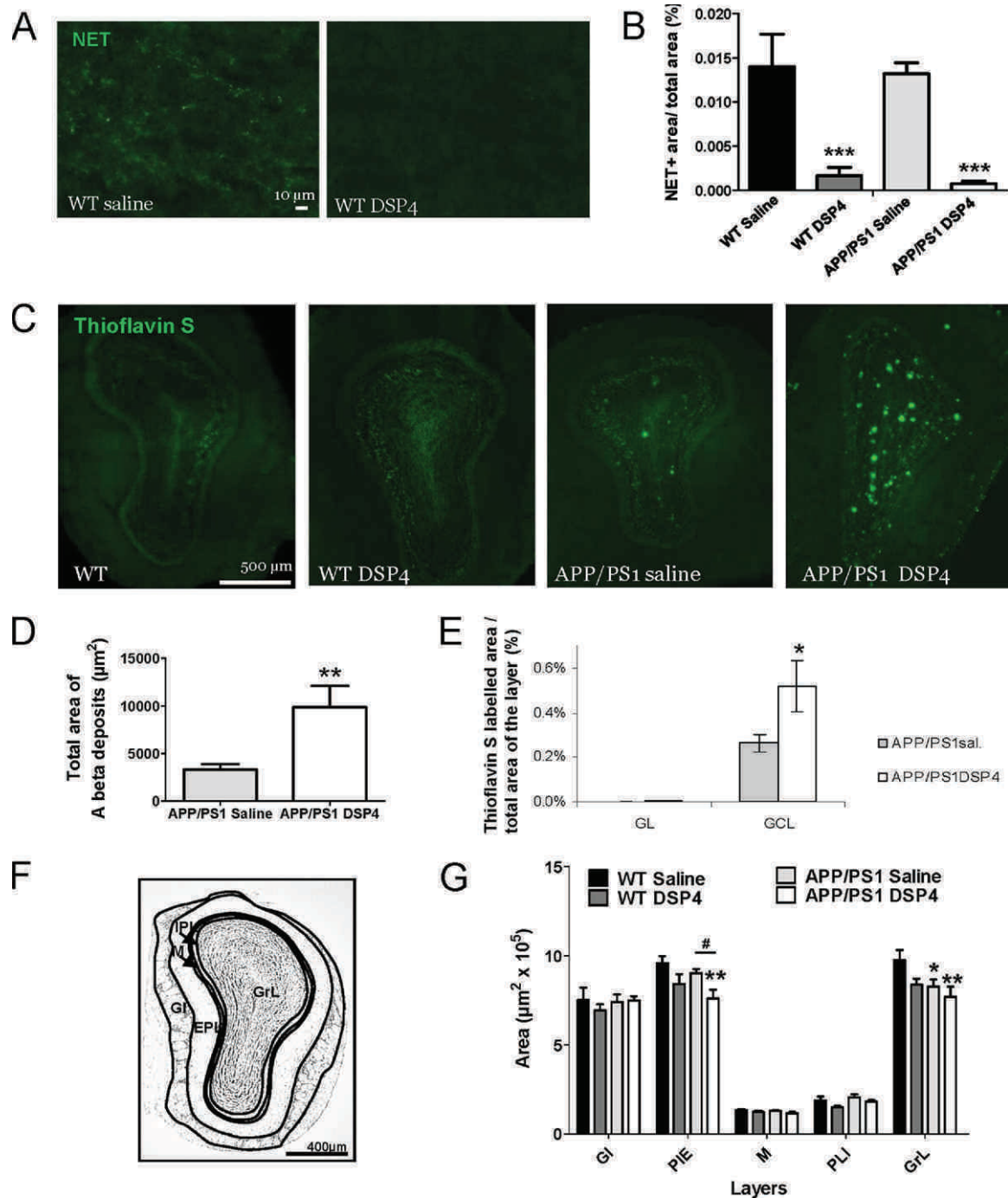


Fig. 2. Noradrenaline (NA) depletion downregulates norepinephrine transporter (NET), increases A β deposition, and decreases the area of granule cell layer in the olfactory bulb (OB) in APP/PS1 mice. (A) NET was immunolabelled on frontal sections of the OB. Bar = 500 μ m. (B) NET immunoreactive area in the OB of wild-type and APP/PS1 mice (1-way analysis of variance [ANOVA], $F(3,14) = 15.71$, $p < 0.001$, followed by post hoc LSD test, $***p < 0.001$). (C) Amyloid deposits were detected in the OB. (D) Plaque area for OB sections (unpaired t test: $**p < 0.01$). (E) Thioflavin S-labeled area in GCL and GL of the OB (unpaired t test, $*p < 0.05$). (F) Example of morphometric area assessment of the OB layers on Nissl-stained section (see Methods). EPL, external plexiform layer; GL, glomerular layer; GrL, granular cell layer; IPL, internal plexiform layer; M, mitral cell layer. (G) The area of granule cell layer is decreased in APP/PS1 and APP/PS1 N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-bromo-benzylamine (DSP4) treated mice (ANOVA $F(3,15)=3.26$, $p < 0.05$, followed by LSD post hoc test, $*p < 0.05$; $**p < 0.01$). The area of external plexiform layer is reduced in APP/PS1 DSP4 treated mice (ANOVA $F(3,15) = 3.56$, $p < 0.05$, followed by least significant difference (LSD) post hoc test, $**p < 0.01$ with respect to control; $\#p < 0.05$ with respect to APP/PS1 saline).

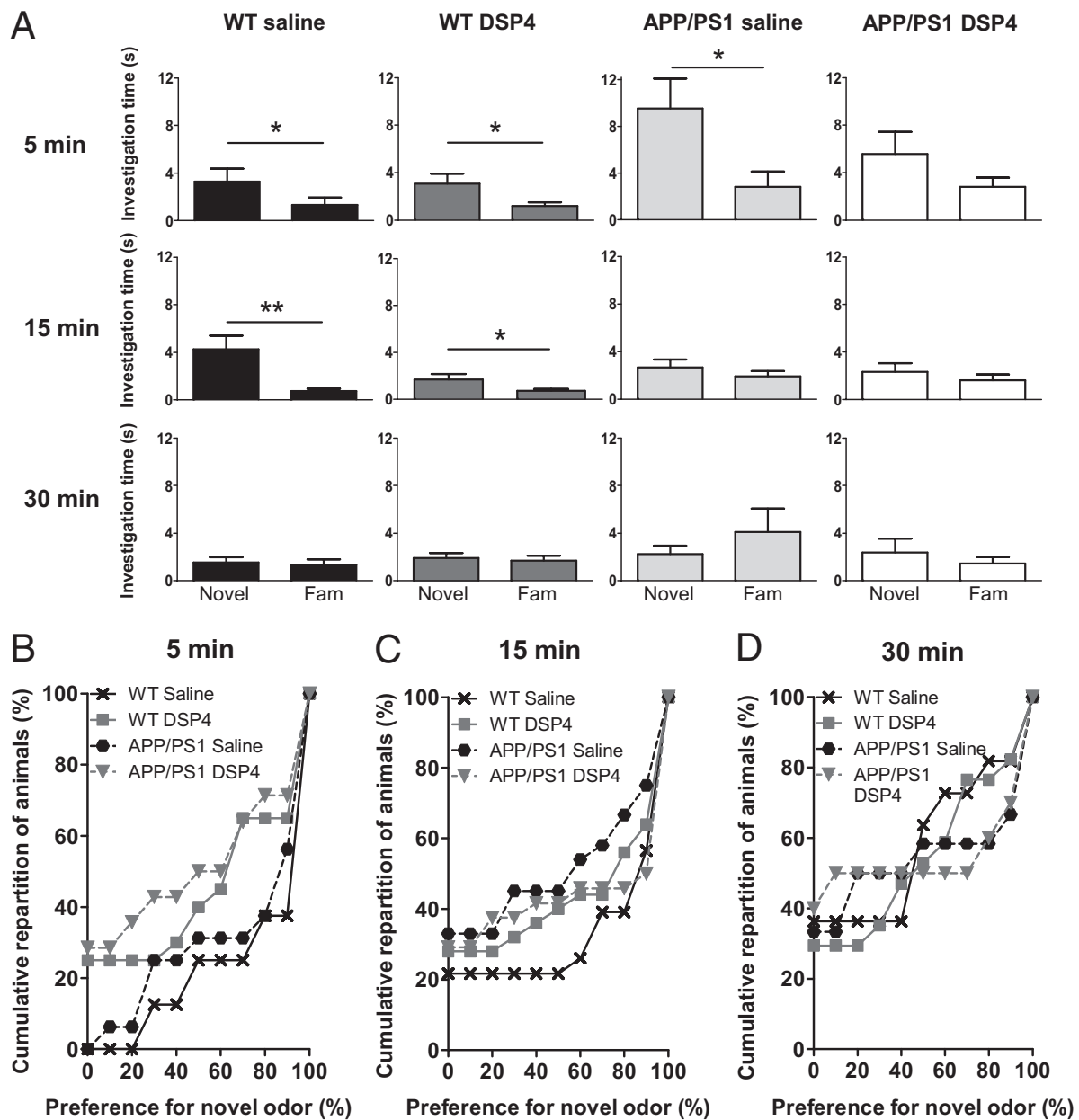


Fig. 3. Impairment of odor retention in APP/PS1 mice after N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-bromo-benzylamine (DSP4) treatment. (A) Mean investigation time (seconds) (\pm SEM, $n = 18/\text{group}$) of novel (Novel) and familiar (Fam) odors during recall at indicated times after acquisition (analysis of variance [ANOVA] for repeated measures, time effect $F(2,118) = 3.92$, $p = 0.02$, odor effect $F(1,59) = 4.99$, $p = 0.029$ followed by least significant difference (LSD) post hoc test, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$). (B, C, D) Cumulative distribution of mice according to their performance in 5-minute (B), 15-minute (C), and 30-minute delayed (D) odor recognition task. Distribution of mice according to their memory performance is changed for APP/PS1 DSP4 treated mice compared with wild-type in the 5-minute delay task (2-sample Kolmogorov-Smirnov, wild-type saline versus APP/PS1 DSP4, $p < 0.01$). Wild-type DSP4 treated, APP/PS1 saline and APP/PS1 DSP4 treated mice were different from controls in the 15-minute delay task (p -values < 0.05). No difference was found in the 30-minute delay task.

bulbar layer, the latter containing most synaptic contacts between mitral and granule cells.

3.4. Recognition memory deficits in APP/PS1 mice are exacerbated by DSP4 treatment

To assess the retention time of an olfactory memory trace, we used an olfactory recognition test. Exploration of

a novel odor over a previously presented one indicates memory of the latter. Wild-type animals explored the novel odor more than the familiar one 5 and 15 minutes after its first presentation, but not after 30 minutes (Fig. 3A). Similarly, wild-type DSP4-treated mice remembered the previously presented odor for 15 minutes. In contrast, APP/PS1 mice explored the novel odor more 5 minutes after the

acquisition trial but not after 15 minutes. So, APP/PS1 mice showed a deficit in retention of the familiar odor. Interestingly, this deficit was aggravated in APP/PS1 DSP4-treated mice, which did not recognize the odor already 5 minutes after acquisition (Fig. 3A).

In order to perform between group comparison of performance, we used an index of preference for novel odor (see Methods). We represented the data as cumulative percentage of mice reaching a given level of preference for the novel odor (Fig. 3B–D). This representation of the data gives an indication of how easily the task was performed by individuals of each group. Five minutes post acquisition, only APP/PS1 DSP4 treated mice performed differently from wild-type mice (Fig. 3B). Indeed, the proportion of APP/PS1 DSP4 treated mice showing a low level of performance (preference for novel odor below 50% for instance) was higher than in the wild-type group, confirming the memory deficit in APP/PS1 DSP4-treated mice after 5 minutes posttrial delay. Fifteen minutes after acquisition, APP/PS1 mice, APP/PS1 DSP4 and wild-type DSP4 treated mice distribution was shifted toward lower level of performances compared with wild-type mice (Fig. 3C). This latter finding, combined with exploration time data (Fig. 3A) showing that the wild-type DSP4 treated group was able to remember the familiar odor, indicated that DSP4 treatment did not prevent odor recognition, but nevertheless lowered the quality of performance after this delay. In summary, APP/PS1 mice showed a memory retention deficit compared with wild-type mice 15 minutes after acquisition. This deficit was further exacerbated in APP/PS1 DSP4 treated mice, which did not remember the familiar odor after 5 minutes.

3.5. DSP4 treatment aggravates deficits in fine odor discrimination in APP/PS1 mice

Olfactory discrimination was measured using a habituation-dishabituation test. In this task, memorization of the habituation odor across the 3 habituation trials ensure that investigation of the test odors actually reflects the ability to discriminate the test odors from the habituation odor. To assess fine discrimination, we used odorants with a graded similarity with the habituation odorant, differing by their carbon chain length (see Methods). Investigation time of the habituation odor similarly decreased in all groups indicating that the habituation odor was detected and that habituation occurred in the same manner in all groups (Fig. 4A). This finding was confirmed by the calculation of the habituation index (Fig. 4B). This index allows direct between group comparisons of the level of habituation independently of overall differences in investigation time. Habituation index was similar in all groups.

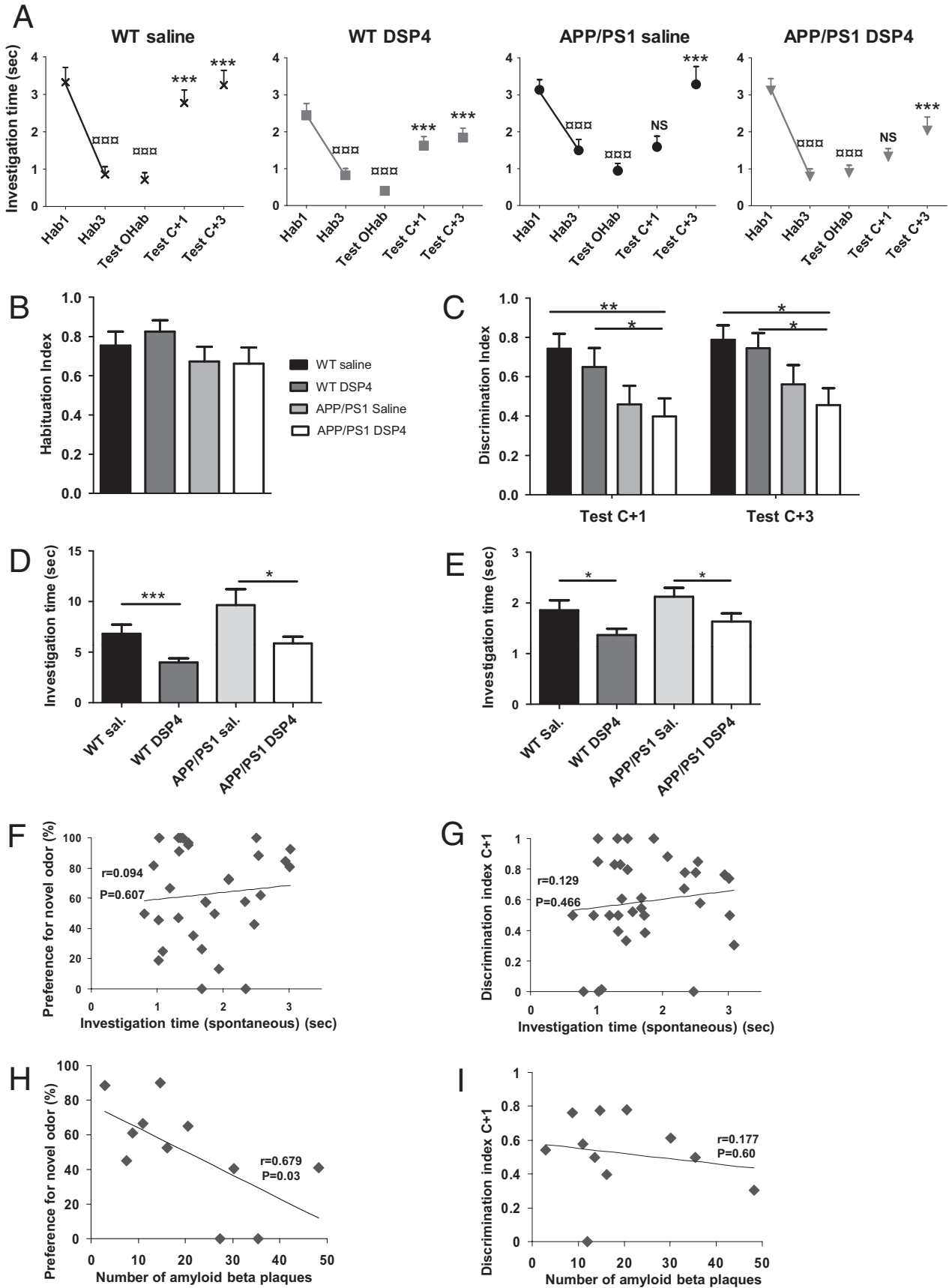
To measure discrimination performance, investigation time of the test odors (Test C+1 and Test C+3) was compared with investigation time of habituation odor during

the odor discrimination test (Test OHab). In wild-type saline and wild-type DSP4 mice, investigation time increased for the test odor with a carbon chain length carrying 1 (Test C+1) or 3 more carbons (Test C+3) compared with the habituation odorant (Test OHab) (Fig. 4A), indicating that both test odors were discriminated from the habituation odor. In APP/PS1 saline and APP/PS1 DSP4 treated mice, the C+3, but not the C+1 odor was investigated longer than the habituation odor (Fig. 4A). This result means that APP/PS1 mice discriminated the C+3, but not C+1 odor, from the habituation odor, regardless of the DSP4 treatment. In conclusion, APP/PS1 mice showed a deficit in fine discrimination because they could not discriminate the 2 closest odors.

To reveal more subtle differences in discrimination ability between groups, we used a discrimination index, depicting the strength of discrimination (Fig. 4C). Of note, DSP4 treatment of wild-type mice did not alter the index of discrimination (Fig. 4C). APP/PS1 mice showed a decline in discrimination index, but this decline did not reach statistical significance compared with wild-type or wild-type DSP4 treated mice. In contrast, in APP/PS1 DSP4 treated mice the index of discrimination was decreased compared with wild-type saline and wild-type DSP4 treated, for easy (C+3) and difficult (C+1) discrimination. In conclusion, APP/PS1 DSP4 treated mice had the worst discrimination performance, while DSP4 treatment alone did not affect the discrimination index.

3.6. DSP4 treatment induces a reduction in spontaneous odor investigation

Because NA has been implicated in novelty-related exploratory behavior (Aston-Jones and Bloom, 1981; Sara, 2009), we looked for any global effect of DSP4 treatment on odor exploration and its relationship with olfactory performance. We calculated global exploration of odor during the acquisition trial for the odor retention task and during the habituation trials for the habituation/discrimination test. In both cases, the overall investigation time of odors was lower in DSP4 treated mice compared with saline treated mice (Fig. 4D, E). However, we also found that olfactory performance was unrelated to the level of spontaneous exploration. Indeed, 5 (Fig. 4F), 15, and 30 minutes (data not shown) following acquisition, no correlation was found between investigation of novel odor during recall (memory performance) and exploration time during acquisition. Similarly, discrimination index for the C+1 (Fig. 4G) or C+3 odor (data not shown) did not correlate with exploration during the habituation phase. In summary, these data indicate that reduced spontaneous investigation of the odors in DSP4 treated animals cannot account for the observed differences in olfactory memory or discrimination.



3.7. Amyloid load is inversely correlated with odor retention but not with discrimination performance

Linear regression between A β load and olfactory performance was calculated. A significant correlation was found between the number of plaques and the percentage of novel odor investigation after a 5-minute delay, when APP/PS1 DSP4 treated mice showed a memory deficit (Fig. 4H). There was also a significant correlation of performance with the total plaque area ($p < 0.05$, data not shown). In contrast, no significant correlation was found between number of plaques or area of plaques and discrimination of the C+1 (Fig. 4I) or C+3 odor ($p > 0.05$ in all cases).

4. Discussion

In the present study, we showed that long term DSP4 treatment known to induce loss of noradrenergic neurons of the LC (Heneka et al., 2010; Jardanhazi-Kurutz et al., 2010), exacerbated olfactory memory in APP/PS1, compared with wild-type mice, suggesting that LC degeneration contributes to memory deficits observed in AD. We further showed that this DSP4 treatment increased A β deposition in the granule cell layer (GCL) of the OB of APP/PS1 mice and that the olfactory memory deficit was correlated with A β plaque area and number. For odor recognition we thus used distant odorants of a different molecular family that animals of all groups were able to discriminate. The differences between groups in outcome of the recognition test can therefore be confidently interpreted to reflect differences in short term olfactory memory. Previously, DSP4 treatment has been shown to reduce spatial memory in APP23 mice (Heneka et al., 2006). The simple form of olfactory memory assessed here by the odor recognition task does not depend on the hippocampus as suggested for object recognition tasks (Mumby, 2001) and more specifically for olfactory discrimination tasks which can be learned and retained in hippocampus-lesioned animals (Jonasson et al., 2004; Kaut and Bunsey, 2001; Kaut et al., 2003). Our findings thus

suggest that the aggravating effect of NA depletion on cognitive function is not specific for hippocampus-dependent memory. In line with this conclusion, our data also demonstrate that DSP4 treatment increased A β deposition in the OB of APP/PS1 mice. This increase was similar in proportion to the previously reported effect of DSP4 treatment on A β plaque load in the hippocampus (Heneka et al., 2006).

In the present work, the effect of chronic treatment with DSP4 on short term olfactory memory in wild-type animals was more subtle than that of acute DSP4 treatment reported previously (Guerin et al., 2008; Veyrac et al., 2007). The possibility that chronic DSP4 treatment triggers slowly developing compensatory mechanisms aimed at restoring normal noradrenergic function may explain the differences observed. In our study, repeated DSP4 injections blocked effectively noradrenergic sprouting responses (Fritschy and Grzanna, 1992) as evidenced by low noradrenergic fiber density at the end of the treatment. However, increased expression of noradrenergic receptors (Berridge and Waterhouse, 2003) and compensatory noradrenergic up regulation, as seen in postmortem AD brains (Szot et al., 2006, 2007) cannot be excluded and could at least partially account for the almost normal olfactory memory in the wild-type DSP4-treated animals. By contrast, compensation mechanisms may have been impaired in the APP/PS1 mice, which developed clear memory deficits in response to DSP4 treatment.

In our study, DSP4 treatment did not affect the formation of habituation memory in wild-type or APP/PS1 mice after a 5-minute delay between odor presentations. This may appear contradictory with the finding that recognition memory was impaired at the same delay, because habituation memory relies on short term memory of the presented odor. It should be mentioned that in the recognition task, animals get 1 chance to choose between 2 odors, 1 of which is novel, while the habituation task allows memory formation across several trials. It might be that the habituation task is too easy

Fig. 4. N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-bromo-benzylamine (DSP4) treatment does not impair habituation capacity in APP/PS1 mice, but aggravates discrimination deficits. (A) Mean investigation time during habituation phase (Hab1, Hab3) and discrimination (Test OHab, Test C+1, Test C+3). Each group habituated to the habituation odor (HabO) (analysis of variance [ANOVA] for repeated measures, wild-type (WT) saline: $F(3,42) = 25.47$, $p < 0.0001$; WT DSP4 treated: $F(3,60) = 20.22$, $p < 0.0001$; APP/PS1 saline: $F(3,57) = 12.98$, $p < 0.0001$; APP/PS1 DSP4 treated: $F(3,63) = 21.39$, $p < 0.0001$, followed by least significant difference (LSD) post hoc tests, $^{***}p$ -values < 0.001). Regarding discrimination, wild-type saline (ANOVA followed by LSD post hoc test; $F(2,26) = 22.1$, $p < 0.0001$) and DSP4 treated ($F(2,36) = 12.54$, $p < 0.001$), mice investigated C+1 and C+3 odor more than habituation odor ($p < 0.001$ for difference between Test OHab and C+1 or C+3). APP/PS1 saline ($F(2,38) = 11.74$, $p < 0.001$) and APP/PS1 DSP4 treated mice ($F(2,40) = 4.27$, $p < 0.05$) investigated C+3 odor more than habituation odor ($p < 0.001$), but not C+1 odor ($p > 0.05$). $^{***}p < 0.001$. (B) Habituation index showed no significant differences between groups (ANOVA $F(3,75) = 1.14$, $p > 0.05$). (C) Discrimination index is reduced for both test odors (C+1 and C+3) in APP/PS1 DSP4-treated mice compared with wild-type saline and wild-type DSP4 treated mice, respectively (ANOVA for repeated measures $F(3,71) = 4.90$, $p < 0.01$ followed by post hoc LSD tests $^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$). (D) DSP4 treatment reduced investigation time in wild-type and APP/PS1 mice during acquisition of odor recognition ($^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$). (E) Investigation time during habituation phase (all habituation trials pooled) of habituation/discrimination test. Wild-type DSP4 treated and APP/PS1 DSP4 treated mice explored the habituation odor less than wild type and APP PS1 saline mice (unpaired t test, $^{*}p < 0.05$). (F) Lack of correlation between investigation time during acquisition and odor retention performance (expressed as a percentage of novel odor investigation). (G) Lack of correlation between investigation time during habituation and discrimination performance (discrimination index for C+1). (H) A β load is correlated with odor retention performance 5 minutes after acquisition (linear regression between the number of amyloid plaques and odor retention performance, $r = 0.679$, $p < 0.03$). (I) A β load is not correlated with discrimination index.

to detect a deficit in olfactory memory compared with the recognition test.

Not only was olfactory memory impaired in APP/PS1 mice but also discrimination of closely related odors, which was further aggravated by DSP4 treatment. In contrast to olfactory memory fine discrimination of odors, although impaired, was not correlated with A β plaque load. Both processes apparently are not affected by the same pathogenic (toxic) A β species, APP processing products and/or brain areas.

Adult neurogenesis, targeting principally the GCL of the OB is involved in olfactory memory (Lazarini et al., 2009; Sultan et al., 2010) and discrimination (Gheusi et al., 2000; Moreno et al., 2009). A reduction in neurogenesis consistent with the reduction of GCL area, could contribute to the olfactory deficits reported here. The likelihood that A β interferes with neurogenesis in the GCL in APP/PS1 mice is strengthened by the finding that preparations of fibrillar A β inhibit stem cell proliferation (Haughey et al., 2002). The plexiform layer that contains dendrites of the interneurons of the GCL tends to be reduced in the APP/PS1 mice and more so in combination with DSP4, suggesting that the full development of adult-born neurons may be most sensitive to DSP4 treatment.

The increase of A β due to DSP4 treatment could also contribute more directly to deleterious effects of DSP4 on olfactory performances in APP/PS1 mice through alteration of synaptic functioning (Sakono and Zako, 2010) and/or increase in glial activation reported following DSP4 treatment (Heneka et al., 2006) in APP23 mice.

Altogether our data indicate that A β pathology combined with DSP4 treatment did not induce a general failure of olfactory function but because of the use of highly sensitive olfactory tests, revealed selective olfactory impairments which mimic those found in human disease regarding recognition memory (Lehrner et al., 1997; Nordin and Murphy, 1998; Nordin et al., 1996) and discrimination (Djordjevic et al., 2008). Furthermore, short term olfactory memory deficits, which were found to correlate with A β load could be a useful marker for the progression of the pathology. Our data validate the use of olfactory signs as indexes for the progression of AD-like pathology and strongly support a contribution of NA depletion to olfactory deficits in AD.

Disclosure statement

There are no actual or potential conflicts of interest.

All appropriate approval and procedures were used concerning animal experimentation.

Acknowledgements

This study was supported by “Cluster Handicap, Vieillesse, Neurosciences”, Région Rhône-Alpes, France (to NR and AD) and by the Competence Network Degenerative

Dementias of the German Federal Ministry of Education (grant number 01 GI 0720) to MTH.

References

- Aston-Jones, G., Bloom, F.E., 1981. Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. *J. Neurosci.* 1, 887–900.
- Attems, J., Lintner, F., Jellinger, K.A., 2005. Olfactory involvement in aging and Alzheimer's disease: an autopsy study. *J. Alzheimers Dis.* 7, 149–157, Discussion, 73–80.
- Berridge, C.W., Waterhouse, B.D., 2003. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 42, 33–84.
- Bondareff, W., Mountjoy, C.Q., Roth, M., Rossor, M.N., Iversen, L.L., Reynolds, G.P., Hauser, D.L., 1987. Neuronal degeneration in locus coeruleus and cortical correlates of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 1, 256–262.
- Bouret, S., Sara, S.J., 2004. Reward expectation, orientation of attention and locus coeruleus-medial frontal cortex interplay during learning. *Eur. J. Neurosci.* 20, 791–802.
- Brennan, P.A., Schellinck, H.M., de la Riva, C., Kendrick, K.M., Keverne, E.B., 1998. Changes in neurotransmitter release in the main olfactory bulb following an olfactory conditioning procedure in mice. *Neuroscience* 87, 583–590.
- Cleland, T.A., Morse, A., Yue, E.L., Linster, C., 2002. Behavioral models of odor similarity. *Behav. Neurosci.* 116, 222–231.
- Curtis, M.A., Eriksson, P.S., Faull, R.L., 2007. Progenitor cells and adult neurogenesis in neurodegenerative diseases and injuries of the basal ganglia. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 34, 528–532.
- Djordjevic, J., Jones-Gotman, M., De Sousa, K., Chertkow, H., 2008. Olfaction in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 29, 693–706.
- Doucette, W., Milder, J., Restrepo, D., 2007. Adrenergic modulation of olfactory bulb circuitry affects odor discrimination. *Learn. Mem.* 14, 539–547.
- Foote, S.L., Bloom, F.E., Aston-Jones, G., 1983. Nucleus locus coeruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol. Rev.* 63, 844–914.
- Fritschy, J.M., Grzanna, R., 1989. Immunohistochemical analysis of the neurotoxic effects of DSP-4 identifies two populations of noradrenergic axon terminals. *Neuroscience* 30, 181–197.
- Fritschy, J.M., Grzanna, R., 1992. Restoration of ascending noradrenergic projections by residual locus coeruleus neurons: compensatory response to neurotoxin-induced cell death in the adult rat brain. *J. Comp. Neurol.* 321, 421–441.
- Gheusi, G., Cremer, H., McLean, H., Chazal, G., Vincent, J.D., Lledo, P.M., 2000. Importance of newly generated neurons in the adult olfactory bulb for odor discrimination. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 1823–1828.
- Guerin, D., Peace, S.T., Didier, A., Linster, C., Cleland, T.A., 2008. Noradrenergic neuromodulation in the olfactory bulb modulates odor habituation and spontaneous discrimination. *Behav. Neurosci.* 122, 816–826.
- Guerin, D., Sacquet, J., Mandairon, N., Jourdan, F., Didier, A., 2009. Early locus coeruleus degeneration and olfactory dysfunctions in Tg2576 mice. *Neurobiol. Aging* 30, 272–283.
- Haughey, N.J., Nath, A., Chan, S.L., Borchard, A.C., Rao, M.S., Mattson, M.P., 2002. Disruption of neurogenesis by amyloid beta-peptide, and perturbed neural progenitor cell homeostasis, in models of Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 83, 1509–1524.
- Hawkes, C., 2003. Olfaction in neurodegenerative disorder. *Mov. Disord.* 18, 364–372.
- Heneka, M.T., Galea, E., Gavriluyk, V., Dumitrescu-Ozimek, L., Dae-schner, J., O'Banion, M.K., Weinberg, G., Klockgether, T., Feinstein,

- D.L., 2002. Noradrenergic depletion potentiates beta-amyloid-induced cortical inflammation: implications for Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 22, 2434–2442.
- Heneka, M.T., Gavriluk, V., Landreth, G.E., O'Banion, M.K., Weinberg, G., Feinstein, D.L., 2003. Noradrenergic depletion increases inflammatory responses in brain: effects on IkappaB and HSP70 expression. *J. Neurochem.* 85, 387–398.
- Heneka, M.T., Nadrigny, F., Regen, T., Martinez-Hernandez, A., Dumitrescu-Ozimek, L., Terwel, D., Jardanhazi-Kurutz, D., Walter, J., Kirchhoff, F., Hanisch, U.K., Kummer, M.P., 2010. Locus ceruleus controls Alzheimer's disease pathology by modulating microglial functions through norepinephrine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 6058–6063.
- Heneka, M.T., Ramanathan, M., Jacobs, A.H., Dumitrescu-Ozimek, L., Bilkei-Gorzo, A., Debeir, T., Sastre, M., Galldik, N., Zimmer, A., Hoehn, M., Heiss, W.D., Klockgether, T., Staufienbiel, M., 2006. Locus ceruleus degeneration promotes Alzheimer pathogenesis in amyloid precursor protein 23 transgenic mice. *J. Neurosci.* 26, 1343–1354.
- Jankowsky, J.L., Slunt, H.H., Ratovitski, T., Jenkins, N.A., Copeland, N.G., Borchelt, D.R., 2001. Co-expression of multiple transgenes in mouse CNS: a comparison of strategies. *Biomol. Eng.* 17, 157–165.
- Jardanhazi-Kurutz, D., Kummer, M.P., Terwel, D., Vogel, K., Dyrks, T., Thiele, A., Heneka, M.T., 2010. Induced LC degeneration in APP/PS1 transgenic mice accelerates early cerebral amyloidosis and cognitive deficits. *Neurochem. Int.* 57, 375–382.
- Jonasson, Z., Ballantyne, J.K., Baxter, M.G., 2004. Preserved anterograde and retrograde memory of rapidly acquired olfactory discriminations after neurotoxic hippocampal lesions. *Hippocampus* 14, 28–39.
- Kalinin, S., Gavriluk, V., Polak, P.E., Vasser, R., Zhao, J., Heneka, M.T., Feinstein, D.L., 2007. Noradrenaline deficiency in brain increases beta-amyloid plaque burden in an animal model of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 28, 1206–1214.
- Kaut, K.P., Bunsey, M.D., 2001. The effects of lesions to the rat hippocampus or rhinal cortex on olfactory and spatial memory: retrograde and anterograde findings. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 1, 270–286.
- Kaut, K.P., Bunsey, M.D., Riccio, D.C., 2003. Olfactory learning and memory impairments following lesions to the hippocampus and perirhinal-entorhinal cortex. *Behav. Neurosci.* 117, 304–319.
- Kovacs, T., Cairns, N.J., Lantos, P.L., 2001. Olfactory centres in Alzheimer's disease: olfactory bulb is involved in early Braak's stages. *Neuroreport* 12, 285–288.
- Lazarini, F., Mouthon, M.A., Gheusi, G., de Chaumont, F., Olivo-Marin, J.C., Lamarque, S., Abrous, D.N., Boussin, F.D., Lledo, P.M., 2009. Cellular and behavioral effects of cranial irradiation of the subventricular zone in adult mice. *PLoS One* 4, e7017.
- Lehrner, J.P., Brucke, T., Dal-Bianco, P., Gatterer, G., Kryspin-Exner, I., 1997. Olfactory functions in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *Chem. Sens.* 22, 105–110.
- Levy, F., Gervais, R., Kindermann, U., Orgeur, P., Piketty, V., 1990. Importance of beta-noradrenergic receptors in the olfactory bulb of sheep for recognition of lambs. *Behav. Neurosci.* 104, 464–469.
- Mandairon, N., Peace, S., Karnow, A., Kim, J., Ennis, M., Linster, C., 2008. Noradrenergic modulation in the olfactory bulb influences spontaneous and reward-motivated discrimination, but not the formation of habituation memory. *Eur. J. Neurosci.* 27, 1210–1219.
- Mandairon, N., Stack, C., Kiselycznyk, C., Linster, C., 2006. Enrichment to odors improves olfactory discrimination in adult rats. *Behav. Neurosci.* 120, 173–179.
- Mandairon, N., Sultan, S., Rey, N., Kermen, F., Moreno, M., Busto, G., Farget, V., Messaoudi, B., Thevenet, M., Didier, A., 2009. A computer-assisted odorized hole-board for testing olfactory perception in mice. *J. Neurosci. Methods* 180, 296–303.
- Marien, M.R., Colpaert, F.C., Rosenquist, A.C., 2004. Noradrenergic mechanisms in neurodegenerative diseases: a theory. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 45, 38–78.
- McLean, J.H., Shipley, M.T., Nickell, W.T., Aston-Jones, G., Reyher, C.K., 1989. Chemoanatomical organization of the noradrenergic input from locus coeruleus to the olfactory bulb of the adult rat. *J. Comp. Neurol.* 285, 339–349.
- Moreno, M.M., Linster, C., Escanilla, O., Sacquet, J., Didier, A., Mandairon, N., 2009. Olfactory perceptual learning requires adult neurogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 17980–17985.
- Moriceau, S., Sullivan, R.M., 2004. Unique neural circuitry for neonatal olfactory learning. *J. Neurosci.* 24, 1182–1189.
- Mumby, D.G., 2001. Perspectives on object-recognition memory following hippocampal damage: lessons from studies in rats. *Behav. Brain Res.* 127, 159–181.
- Nissant, A., Bardy, C., Katagiri, H., Murray, K., Lledo, P.M., 2009. Adult neurogenesis promotes synaptic plasticity in the olfactory bulb. *Nat. Neurosci.* 12, 728–730.
- Nordin, S., Murphy, C., 1998. Odor memory in normal aging and Alzheimer's disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 855, 686–693.
- Nordin, S., Murphy, C., Davidson, T.M., Quinonez, C., Jalowayski, A.A., Ellison, D.W., 1996. Prevalence and assessment of qualitative olfactory dysfunction in different age groups. *Laryngoscope* 106, 739–744.
- Sakono, M., Zako, T., 2010. Amyloid oligomers: formation and toxicity of Abeta oligomers. *FEBS J.* 277, 1348–1358.
- Sara, S.J., 2009. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 211–223.
- Shepherd, G.M., Chen, W.R., Willhite, D., Migliore, M., Greer, C.A., 2007. The olfactory granule cell: from classical enigma to central role in olfactory processing. *Brain Res. Rev.* 55, 373–382.
- Shipley, M.T., Halloran, F.J., de La Torre, J., 1985. Surprisingly rich projection from locus coeruleus to the olfactory bulb in the rat. *Brain Res.* 329, 294–299.
- Sultan, S., Mandairon, N., Kermen, F., Garcia, S., Sacquet, J., Didier, A., 2010. Learning-dependent neurogenesis in the olfactory bulb determines long-term olfactory memory. *FASEB J.* 24, 2355–2363.
- Szot, P., White, S.S., Greenup, J.L., Leverenz, J.B., Peskind, E.R., Ras-kind, M.A., 2006. Compensatory changes in the noradrenergic nervous system in the locus ceruleus and hippocampus of postmortem subjects with Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *J. Neurosci.* 26, 467–478.
- Szot, P., White, S.S., Greenup, J.L., Leverenz, J.B., Peskind, E.R., Ras-kind, M.A., 2007. Changes in adrenoceptors in the prefrontal cortex of subjects with dementia: evidence of compensatory changes. *Neuroscience* 146, 471–480.
- Veyrac, A., Nguyen, V., Marien, M., Didier, A., Jourdan, F., 2007. Noradrenergic control of odor recognition in a nonassociative olfactory learning task in the mouse. *Learn. Mem.* 14, 847–854.
- Veyrac, A., Sacquet, J., Nguyen, V., Marien, M., Jourdan, F., Didier, A., 2009. Novelty determines the effects of olfactory enrichment on memory and neurogenesis through noradrenergic mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 34, 786–795.

DISCUSSION

Les atteintes précoces de la fonction olfactive dans la maladie d'Alzheimer suggèrent que le système olfactif serait une des cibles initiales du processus pathogène et donc un bon modèle pour accéder aux mécanismes patho-physiologiques sous-tendant la maladie. Pour avancer dans cette voie, il nous est apparu qu'une meilleure connaissance du vieillissement de la fonction olfactive chez le rongeur dans des conditions physiologiques était nécessaire et que les éléments de cette connaissance n'étaient pas suffisamment disponibles dans la littérature. Dans notre travail, nous avons donc mené une étude comportementale du vieillissement olfactif normal et cherché à évaluer la contribution d'un déclin de la neurogenèse adulte et de la transmission noradrénergique au vieillissement fonctionnel. Par ailleurs, nous avons directement comparé les performances olfactives de souris normales et modèles de la MA et évalué la contribution d'un déficit noradrénergique mimant celui qui existe dans la MA, aux dépôts amyloïdes et à l'atteinte olfactive. Ce travail apporte les bases de la comparaison des altérations olfactives liées à l'âge avec celles présentes dans la MA, révèle des altérations spécifiques de la MA et renforce l'hypothèse d'un rôle important de la NA dans le développement de la MA.

Nous discutons ci-dessous la validité des approches comportementales et des modèles que nous avons utilisés puis l'apport de nos travaux à l'hypothèse noradrénergique de la MA. De plus, notre travail apporte des éléments nouveaux à discuter dans le domaine de la compréhension des bases cellulaires du vieillissement normal, le système olfactif constituant un système-modèle relativement simplifié de vieillissement sensoriel et perceptif.

1. Le système olfactif comme modèle d'étude du vieillissement normal et pathologique

1.1. Des tests comportementaux olfactifs adaptés

Dans la littérature, les données concernant le vieillissement des capacités olfactives chez les rongeurs sont peu nombreuses et sont limitées d'une part par le fait qu'elles évaluent les capacités olfactives dans des tests reposants sur des apprentissages associatifs, et que d'autre part, elles ne donnent pas d'information sur la cinétique des atteintes olfactives au cours du vieillissement.

Dans ces travaux, il est possible qu'un effet du vieillissement s'exerce sur l'acquisition du conditionnement (association odeur récompense, tâche de mémoire) et/ou sur les capacités

intrinsèques de discrimination (Roman et al., 1996; Enwere et al., 2004; LaSarge et al., 2007; Dardou et al., 2008; Patel and Larson, 2009). Il est donc difficile dans l'interprétation de ce type de résultats de faire la part entre un déficit de mémoire qui conduirait à un apprentissage moins bon et un réel déficit de discrimination. De plus, des données récentes indiquent que l'apprentissage olfactif associatif (Mandairon et al., 2006e) ou non associatif (Moreno et al., 2009) module les capacités de discrimination entre odeurs proches. Cette amélioration des performances de discrimination suite à l'exposition aux stimuli à discriminer est un apprentissage perceptif, bien connu dans d'autres modalités sensorielles (Gilbert et al., 2001). Ainsi, les difficultés observées chez les animaux âgés pour différencier deux odeurs proches pourraient découler d'une mauvaise acquisition de l'association odeur-récompense et/ou d'un déficit d'apprentissage perceptif.

Pour nous affranchir de ces difficultés d'interprétation, nous avons choisi d'utiliser d'une part un test de reconnaissance d'odeurs nous permettant de mesurer la mémoire olfactive (Veyrac et al., 2007; Veyrac et al., 2009) et d'autre part un test d'habituation croisée (habituation-deshabitude) (Cleland et al., 2002; Cleland and Narla, 2003) pour mesurer les capacités de discrimination spontanée. En choisissant dans le test de reconnaissance des odeurs distantes sur le plan perceptif, nous nous assurons que le taux d'exploration de l'odeur nouvelle versus l'odeur familière lors du test de reconnaissance dépend essentiellement des capacités de rétention de l'odeur familière. De la même manière, en réduisant dans le test d'habituation-deshabitude le délai inter essai pour l'adapter aux performances de mémoire des animaux âgés, nous avons réduit au minimum la composante 'mémoire' du test, pour interpréter en terme de capacité de discrimination les résultats (voir la discussion des articles).

Une question importante pour s'assurer de la validité des tests comportementaux pratiqués chez la souris vieillissante concerne les capacités de détection olfactive dont on sait qu'elles peuvent être altérées par l'âge. Dans les expériences que nous avons menées, nous avons utilisé, sur la base de la littérature, des concentrations largement supraliminaire et les courbes d'habituation obtenues à tous les âges montrent la même décroissance du temps d'investigation de l'odeur au fil des essais. Ce résultat nous assure que les animaux quel que soit leur âge, s'habituent à l'ensemble des odorants qui leur ont été soumis et donc les détectent de manière très similaire.

Enfin, un autre intérêt des paradigmes choisis est qu'ils sont assez écologiques car en l'absence de conditionnement associatif, ils utilisent le comportement d'exploration qui fait partie du répertoire comportemental naturel de la souris. De manière non moins importante, les tests de reconnaissance ou de discrimination tels que nous les avons mis en œuvre chez la souris se rapprochent plus des paradigmes utilisés dans les tâches comportementales chez l'homme. Les données obtenues chez la souris seront ainsi plus facilement comparables aux altérations humaines.

Sur la bases de l'ensemble de ces éléments, nous pouvons conclure que les tests utilisés nous ont permis de distinguer, au cours du vieillissement normal et dans le vieillissement de type Alzheimer, les déficits de discrimination des déficits de mémoire, et de révéler que ces deux aspects de la perception se dégradent selon un décours temporel différent au cours du vieillissement normal. De plus, ces tests comportementaux ainsi validés nous ont fourni les bases pour rechercher les mécanismes cellulaires sous-jacents à ces déficits. Dans le cas de la pathologie par exemple, nous montrons que seuls les déficits de mémoire se trouvent corrélés à la charge amyloïde.

1.2. Le bulbe olfactif, un cortex sensoriel pour l'étude des mécanismes cellulaires et moléculaires du vieillissement

Pour accéder aux bases cellulaires et moléculaires de modifications perceptives liées à l'âge ou à la pathologie, nous avons choisi de nous intéresser au BO, premier relais du traitement de l'information olfactive. Le BO est un paléocortex sensoriel. A ce titre, il possède des cellules relais dont l'activité est modulée par des interneurons inhibiteurs et est fortement influencé par les afférences issues des systèmes neuromodulateurs. Le BO joue ainsi un rôle fondamental dans la discrimination et la mise en mémoire de l'information olfactive.

A l'échelle cellulaire, le BO est doté d'une très forte plasticité en réponse à l'expérience sensorielle faisant intervenir des modifications synaptiques et structurales amplifiées par la neurogenèse et dont certaines comme la LTP sont même portées spécifiquement par les néo-neurons (Nissant et al., 2009). Au sein d'une structure d'organisation relativement simple ont ainsi lieu des modulations complexes avec interactions entre différents niveaux de plasticité. L'information olfactive qui quitte le BO est donc filtrée et affinée pour assurer une bonne discrimination des odeurs. De plus, bien que la trace mnésique olfactive soit distribuée dans un ensemble de structures olfactives (BO, cortex piriforme, hippocampe, amygdale, cortex orbito-frontal (Mouly et al., 2001; Tronel and Sara, 2002; Martin et al., 2006), le message olfactif quittant le BO est modifié, et les néo-neurons contribuent à cette modulation, par la valeur comportementale de l'odeur (familiarité, association avec une récompense...). Plus spécifiquement, les tâches de discrimination et de mémoire que nous avons appliquées ainsi que l'enrichissement olfactif mettent en jeu la plasticité du réseau bulbaire et une modification de la représentation neurale de l'odeur transmise au centre supérieur (Moreno et al., 2009; Veyrac et al., 2009; Kermen et al., 2010; Sultan et al., 2010).

Le réseau neuronal bulbaire, avec son organisation relativement simple et sa grande plasticité structurale et fonctionnelle mise en jeu par les paradigmes comportementaux décrits plus haut, constitue donc un bon modèle pour l'étude des bases cellulaires de la perception

olfactive dans ses dimensions de discrimination et mnésique chez l'animal jeune et au cours du vieillissement. Par ces approches combinées, notre travail fournit des données originales dans le domaine du vieillissement de la fonction olfactive, de ses liens avec la neurogenèse et le système noradrénergique ainsi que des données comparatives entre vieillissement normal et vieillissement pathologique.

2. Le choix des modèles animaux

Pour étudier le vieillissement normal, nous avons utilisé des souris C57Bl6/J pour lesquelles nous avons une bonne expertise en matière de tests comportementaux olfactifs (chez la souris jeune). De plus, ces souris constituent le fond génétique des souris APP/PS1 modèle de pathologie amyloïde que nous avons utilisées. Afin d'apporter des éléments nouveaux concernant la chronologie du vieillissement, nous avons étudié trois groupes d'animaux, des animaux jeunes, d'âge moyen et âgés.

Le choix d'un modèle murin de maladie d'Alzheimer est plus complexe. Aucun modèle ne récapitule l'ensemble des signes histo-pathologiques de la maladie : plaques séniles, dégénérescences neurofibrillaires, dégénérescences cholinergique et noradrénergique et corticale. Les modèles transgéniques exprimant des mutations de l'APP ou de l'APP et du gène codant pour la PS1 développent des plaques avec l'âge mais pas de perte neuronale massive et généralisée (Duyckaerts et al., 2008). Ces modèles sont donc essentiellement des modèles de pathologie amyloïde. Ils pourraient représenter un état « pré-clinique », dans lequel l'accumulation du peptide β amyloïde produit des déficits synaptiques mais dans lequel l'absence d'autres éléments de la pathologie (par exemple de dégénérescence neurofibrillaire) préviendrait la mort neuronale (Ashe and Zahs, 2010). L'absence de perte neuronale observée dans la majorité des modèles transgéniques murins de la MA pointe le caractère partiel de ces modèles dans leur capacité à reproduire la pathologie humaine. Pour se rapprocher de la maladie humaine et mimer un déficit noradrénergique précoce, nous avons choisi de léser le système noradrénergique de souris transgéniques amyloïdes. Parmi les modèles transgéniques, nous avons fait le choix d'utiliser le modèle double transgénique APP/PS1 exprimant la mutation suédoise de l'APP et une mutation du gène codant pour la préséniline 1 (PS1). Ces souris développent des plaques amyloïdes et sont bien caractérisées sur la plan de leurs altérations cognitives (Holcomb et al., 1999; Arendash et al., 2001; Howlett et al., 2004; Sadowski et al., 2004; Trinchese et al., 2004; Arendash et al., 2006; Costa et al., 2007; Pugh et al., 2007; Filali and Lalonde, 2009; Cotel et al., 2010; Jardanhazi-Kurutz et al., 2010). De plus, l'étude des effets combinés de la charge amyloïde et de la déplétion en noradrénaline a été abordée récemment pour ce qui concerne la mémoire

hippocampique et les dépôts amyloïdes sur ces mêmes souris APP/PS1 (Heneka et al., 2010c; Jardanhazi-Kurutz et al., 2010).

Le système noradrénergique a été lésé chez la souris APP/PS1 (ou contrôle) par un traitement au DSP4. Cette neurotoxine est reconnue par le transporteur de la NA (NET) (Wenge and Bonisch, 2009) et s'accumule dans les terminaisons noradrénergiques conduisant à une dégénérescence rétrograde des neurones noradrénergiques issus du LC (Fritschy and Grzanna, 1989; Kalinin et al., 2007). Un traitement unique au DSP4 conduit à une réduction de 57% en moyenne des neurones noradrénergiques du LC (Fritschy and Grzanna, 1992) et à une déplétion rapide et persistante en NA dans le système nerveux central (Jaim-Etcheverry and Zieher, 1980). Ce traitement n'affecte pas les concentrations corticales en sérotonine et dopamine (Cheetham et al., 1996). A long terme après DSP4, une récupération graduelle du taux de NA corticale est observée (50% des taux contrôles après 90 jours, et récupération totale après un an) (Wolfman et al., 1994). Cette récupération s'explique par une synthèse et une libération accrues de NA et par la genèse de nouveaux prolongements (sprouting) par les projections résiduelles (Fritschy and Grzanna, 1992). Afin de produire une déplétion chronique en NA et de minimiser les mécanismes compensatoires, nous avons appliqué un traitement chronique avec injections de DSP4 répétées tous les mois pendant 9 mois (Jardanhazi-Kurutz et al., 2010). Grâce à ce traitement, une réduction massive et durable des projections noradrénergiques sur le BO (Figure 2A de l'étude 2) a été obtenue chez les souris APP/PS1, fournissant le modèle adéquat pour tester l'importance du déficit en NA dans le développement de la pathologie amyloïde dans le BO et des troubles olfactifs associés.

3. Le vieillissement olfactif normal

L'ensemble de nos résultats sont synthétisés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : récapitulatif des résultats obtenus dans l'article 1.

	2	10	23 mois
Performances olfactives			
Habituation	✓ ✓	✓ ✓	✓ ✓
Discrimination facile	✓ ✓	✓ ✓	✓ ✓
Discrimination difficile	✗ ✓	✓ ✓	✗ ✓
Mémoire (rétention maximale)	15 60	15 30	5 5

Neurogenèse

Prolifération (SVZ)	Taux basal: <i>b</i> <i>b</i>	-65% -65%	-65% -65%
Nombre de neurones néoformés (BO- GcL)	<i>b</i> +35%	<i>b</i> <i>b</i>	-74% -74%
Nombre de neurones néoformés (BO- GL)	<i>b</i> <i>b</i>	<i>b</i> <i>b</i>	-74% -74%
Différenciation neuronale	<i>b</i> <i>b</i>	<i>b</i> <i>b</i>	-15% -15%

Système noradrénergique

Densité de neurones noradrénergiques (LC)	<i>b</i> +45%	<i>b</i> +33%	-25% -25%
Densité de fibres noradrénergiques (BO)	<i>b</i> <i>b</i>	<i>b</i> <i>b</i>	-30% -30%

Morphologie du BO

Surface de la couche GcL	<i>b</i> <i>b</i>	<i>b</i> <i>b</i>	-30% -30%
--------------------------	----------------------	----------------------	--------------

 groupe standard
 groupe enrichi

3.1. Atteintes comportementales

3.1.1. La mémoire olfactive vieillit plus vite que les capacités de discrimination

Au cours du vieillissement normal, nous avons observé dans notre première étude une altération des performances de mémoire, qui survient à l'âge de 23 mois chez la souris. Alors qu'une souris jeune retient une trace mnésique de l'odeur pendant 15 min, en accord avec des données précédentes obtenues au laboratoire (Veyrac et al., 2007), tout comme la souris de 10 mois, la souris âgée ne montre aucune rétention de l'odeur à ce délai. Aucune étude dans la littérature ne traite du temps de rétention spontanée (sans renforcement) d'une information olfactive chez la souris âgée. Nos données originales mettent donc en évidence un déficit de mémoire de reconnaissance qui apparaît à un âge très avancé. Les capacités de discrimination fine sont également altérées uniquement à l'âge de 23 mois alors que la discrimination d'odeurs distantes est plus robuste et persiste chez la souris âgée, en accord avec les données de la littérature chez l'animal (Enwere et al., 2004; Wesson et al., 2010). Le pattern de dégradation de ces deux composantes de la perception olfactive semble donc parallèle dans des conditions basales. Cependant, notre travail, en utilisant le paradigme d'enrichissement révèle que la plasticité de ces composantes évolue de manière différente. Ainsi, l'efficacité de l'enrichissement pour augmenter le temps de rétention de l'odeur diminue dès l'âge de 10 mois et disparaît à 23 mois, alors que les performances de discrimination restent sensiblement améliorables au moins jusqu'à l'âge de 23 mois. Ces résultats indiquent clairement que les mécanismes sous-tendant l'amélioration des performances de mémoire, et de discrimination sont différents, car ils sont altérés de manière différentielle par le vieillissement, plus tôt pour la mémoire que pour la discrimination.

3.1.2. La discrimination subit un processus de maturation chez le jeune adulte

Notre étude révèle que les meilleures capacités de discrimination fine sont observées chez les souris de 10 mois et pas chez les souris les plus jeunes, âgées de 2 mois. Cette observation pourrait s'expliquer par un processus de maturation des performances de discrimination, celles, moyennes, observées chez les jeunes souris de 2 mois résultant d'un état encore immature du réseau. De manière très intéressante, un tel processus de maturation a été proposé chez l'homme sur la base d'observations similaires (Hummel et al., 2007). Ce dernier point renforce la validité du modèle murin dans la perspective de comparaison avec les déficits observés chez l'homme. Le mécanisme de maturation pourrait

faire appel à l'expérience. En effet, la discrimination olfactive est améliorable par l'entraînement chez l'homme, comme dans le cas de l'œnologue ou du nez, dont les capacités de discrimination sont supérieures à celles de sujets naïfs (Wilson and Stevenson, 2003). Ce type d'apprentissage perceptif olfactif existe aussi chez la souris (Mandairon et al., 2006a; Moreno et al., 2009)

3.2. Atteintes neurogéniques

Notre travail révèle une altération en deux temps de la neurogenèse avec l'âge: d'abord une forte diminution de prolifération, observable à âge moyen, suivie d'une diminution de la survie des néo-neurones et de leur taux de différenciation, observée chez les souris de 23 mois.

La baisse de prolifération qui se développe entre 2 et 10 mois est en accord avec une étude précédente (Luo et al., 2006) et serait due essentiellement à une diminution du nombre de précurseurs dans la ZSV (Enwere et al., 2004). Compte tenu de l'âge auquel cette baisse est observée, et du fait que des altérations d'une autre nature apparaissent ensuite chez les animaux âgés, cette baisse précoce de prolifération pourrait être interprétée non pas comme un processus délétère de vieillissement, mais comme le passage d'un taux de neurogenèse encore juvénile à 2 mois à un taux adulte à 10 mois. On peut noter cependant que ce passage à une neurogenèse adulte, mais pas encore sénescence, s'accompagne d'une forte réduction de la réponse neurogénique à l'enrichissement, puisque le nombre de néo-neurones n'est plus modulé par le protocole d'enrichissement que nous avons utilisé. La neurogenèse adulte serait donc caractérisée par un niveau bas de prolifération et par une diminution drastique de sa plasticité par rapport à la neurogenèse juvénile. Il est possible cependant que la neurogenèse garde à ce stade un potentiel de plasticité qu'un enrichissement plus long aurait pu révéler, mais ceci reste à étudier.

Chez les animaux très âgés, le taux de prolifération reste identique à celui des animaux de 10 mois, mais le taux de nouveaux neurones dans le BO est fortement réduit, ainsi que le taux de différenciation neuronale des cellules nouvellement formées. En raison de la stabilité du taux de prolifération, la réduction du taux de nouveaux neurones formés chez les souris très âgées proviendrait d'un déficit de survie. Cependant, un déficit du processus de migration ne peut être exclu. Enfin, le système neurogénique continue, comme à 10 mois à ne plus répondre à l'enrichissement olfactif.

Les altérations neurogéniques au cours du vieillissement pourraient découler de la réduction de la libération de certains facteurs trophiques et/ou d'une altération de l'expression de leurs récepteurs dans la ZSV. Chez la souris âgée, les niveaux de EGFR et de TGF alpha sont réduits et influenceraient en partie le déclin de neurogenèse (Tropepe et al., 1997; Enwere et al., 2004). La ZSV reste sensible chez l'animal âgé aux facteurs de prolifération : l'infusion de

FGF2 ou de HB-EGF chez des souris de 23 à 25 mois restaure la prolifération dans la ZSV au niveau observé chez les souris jeunes (Jin et al., 2003). Une population de cellules quiescentes est donc maintenue chez les animaux âgés. Toutefois, le type cellulaire qui répond à ces facteurs n'est pas clairement identifié, et nous ne savons pas non plus si cet accroissement de prolifération pourrait être maintenu à long terme.

3.3. Liens entre atteintes neurogéniques et atteintes fonctionnelles

3.3.1. La discrimination

Ce processus de maturation de la neurogenèse observé entre 2 et 10 mois est parallèle à celui des performances de discrimination. Cependant, ces deux aspects semblent difficiles à relier. En effet, la diminution de la prolifération a pour conséquence une diminution de la quantité de nouveaux neurones s'intégrant au réseau bulbaire. Dans un modèle transgénique présentant un déficit de migration et donc de nouveaux neurones dans le BO, les performances de discrimination sont moins bonnes que chez les animaux contrôles (Gheusi et al., 2000). Il semble donc peu probable que la diminution du nombre de nouveaux neurones entre 2 et 10 mois puisse rendre compte de l'amélioration de la discrimination fine. Il faut envisager que ce processus de maturation fonctionnel puisse être relativement indépendant du nombre absolu de neurones présents. Cette conclusion est renforcée par le fait que l'enrichissement olfactif a un effet bénéfique sur la discrimination à 10 et 23 mois, alors qu'il n'a plus d'effet sur le nombre de nouveaux neurones formés dans le BO.

Cette conclusion n'exclut pas cependant que l'enrichissement agisse sur le développement de l'arbre dendritique et du nombre de contacts synaptiques des nouveaux neurones et/ou des neurones plus anciens, paramètres que nous n'avons pas mesurés dans notre travail. En effet, dans le gyrus denté, l'enrichissement environnemental induit une augmentation du nombre d'embranchements dendritiques, d'épines dendritiques et de synapses dans l'hippocampe et le cortex (van Praag et al., 2000). Des modifications similaires pourraient intervenir dans le BO et rendre compte au moins partiellement de l'amélioration des performances obtenue après enrichissement olfactif, sans que le taux de neurogenèse ne soit modifié. Les nouveaux neurones pourraient être des cibles privilégiées de ces modifications subcellulaires. En effet, le GABA ambiant joue un rôle essentiel dans le développement synaptique et l'intégration des neurones granulaires néoformés dans le gyrus denté (Ge et al., 2006). Par analogie avec ces données, le niveau de GABA pourrait être modulé à la hausse par l'activité lors de l'enrichissement et favoriser ainsi le développement synaptique des neurones néo-formés du BO et les performances de discrimination. A l'appui d'un rôle possible des néo-neurones dans les performances de discrimination, on peut noter aussi que

l'enrichissement par des paires d'odeurs proches du point de vue perceptuel induit une amélioration des performances de discrimination qui dépend de la présence de nouveaux neurones dans le BO (Moreno et al., 2009).

3.3.2. La mémoire de reconnaissance

Comme les performances de discrimination, les performances basales de mémoire ne sont pas altérées avant l'âge de 23 mois. Ceci suggère que la diminution initiale de la neurogenèse entre 2 et 10 mois n'altère pas les performances basales de mémoire. On peut supposer que les néo-neurones restants, s'ils jouent un rôle dans la rétention à court terme de l'odeur, sont en nombre encore suffisant. Chez les souris très âgées par contre, le nombre de nouveaux neurones pourraient devenir insuffisant. Renforçant cette hypothèse, la seule étude disponible ayant évalué la mémoire olfactive à court terme dans une tâche proche de celle que nous avons utilisée montre un déficit chez des souris jeunes privées de neurogenèse après administration de l'anti-mitotique AraC (Breton-Provencher et al., 2009).

On peut noter que les souris âgées conservent une capacité de rétention de l'odeur égale à environ 5 min, puisqu'elles montrent une habituation à l'odeur pour des intervalles inter essais de 5 min. Le déficit de mémoire chez la souris âgée est donc subtil et révélé par la sensibilité du test qui évalue la mémoire à plusieurs délais.

Si les performances basales de rétention sont stables jusqu'à 23 mois, l'effet positif de l'enrichissement lui décroît dès l'âge de 10 mois. Le pattern de décroissance des performances mnésiques en réponse à l'enrichissement est donc relativement parallèle à celui de la réponse neurogénique (voir Figure 6 de l'étude 1), ce qui pourrait suggérer un lien entre amélioration des performances de mémoire et modulation du taux de neurogenèse. Dans ce contexte, il serait intéressant d'essayer d'augmenter la neurogenèse chez la souris âgée par infusion par exemple d'un facteur stimulant la prolifération pour vérifier si dans ces conditions, les performances mnésiques sont améliorées.

Bien qu'on ne puisse donc pas exclure un rôle des neurones nouvellement formés dans les capacités olfactives basales et encore moins dans leur amélioration en réponse à l'enrichissement, nos données laissent penser que d'autres mécanismes de plasticité pourraient être mis en jeu. Parmi ces mécanismes, le maintien au cours du vieillissement d'une influence forte des systèmes neuromodulateurs peut être envisagé. Nous avons évalué cette hypothèse dans le cas du système noradrénergique, en raison de son implication forte dans le réseau bulbaire, dans le traitement de l'information olfactive, dans le contrôle de la neurogenèse et des effets de l'enrichissement olfactif, comme exposé dans l'introduction.

3.4. Atteintes du système noradrénergique et lien avec la fonction olfactive

Au cours du vieillissement, nous avons observé une diminution de l'expression de DBH dans le LC et de NET dans le BO, qui survient à 23 mois. Les données de la littérature concernant l'évolution avec l'âge du LC sont assez contradictoires chez le rongeur (Flood and Coleman, 1988). Concernant l'innervation noradrénergique corticale, la littérature décrit des altérations variables suivant les régions cibles (Ishida et al., 2000). La réduction de la densité des fibres noradrénergiques dans le BO s'apparente à celle observée dans le cortex frontal (Ishida et al., 2000; Ishida et al., 2001a; Allard et al., 2010). Cependant, le taux de NA serait maintenu dans le cortex âgé en dépit de la réduction du nombre de fibres à 25 mois chez le rat (Ishida et al., 2001a). Il n'est donc pas certain que la baisse des marqueurs noradrénergiques s'accompagne d'une baisse de la libération de NA dans le BO. Des dosages préliminaires effectués dans le cours de cette thèse en collaboration avec Marc Marien de l'Institut de Recherche Pierre Fabre montrent qu'en effet le taux basal de NA ne diminue pas dans le BO au cours de la vie de la souris. Par contre ces données ne permettent pas d'évaluer la réactivité du système et ses capacités de libération de la NA dans le BO lors de la stimulation sensorielle. L'étude des effets de l'enrichissement que nous avons menée nous renseigne sur cette question. En effet, des travaux précédents menés au laboratoire avaient montré que l'enrichissement olfactif activait le système noradrénergique (Veyrac et al., 2009). Nous avons reproduit ce résultat en montrant que l'enrichissement augmente l'expression de la DBH dans le LC chez les animaux de 2 mois. Nos résultats montrent de plus que cette plasticité noradrénergique est maintenue à 10 mois mais disparaît à 23 mois. Cette baisse est concomitante de la chute des performances mnésiques. Les stimuli sensoriels activent le système noradrénergique (Foote et al., 1980; Aston-Jones and Bloom, 1981; Vankov et al., 1995) et cette activation contribue à la mise en mémoire des stimuli nouveaux (Foote et al., 1983). Il est donc possible que la baisse de réactivité du système noradrénergique à la stimulation olfactive rende compte du déficit de mémoire que nous observons chez la souris âgée. En accord avec cette conclusion, on peut noter que la lésion du LC par le DSP4 dans certaines conditions de dose et de traitement peut bloquer la mémoire à court terme et ce blocage peut être levé par l'administration intra bulbaire de NA (Guerin et al., 2008).

Plusieurs études suggèrent également un rôle de la NA dans le processus de discrimination olfactive (Mandairon et al., 2008b), en particulier de discrimination fine (Doucette et al., 2007). L'altération du système noradrénergique chez les animaux âgés pourrait donc contribuer aussi à la perte des capacités de discrimination fine que nous avons observée à 23 mois.

Le mode d'action de la NA dans le bulbe est certainement très complexe (voir par exemple (Mandairon et al., 2008a; Escanilla et al., 2010) car les différents types de récepteurs sont présents sur les principaux types cellulaires. Pour l'évaluer précisément, des approches par

transfert viral de gène contrôlant l'expression des récepteurs à la NA par exemple, pourraient être envisagées.

3.5. Interaction neurogénèse – noradrénaline ?

Chez la souris jeune, la NA stimule la neurogénèse bulbaire (Veyrac et al., 2007; Veyrac et al., 2009) par un mécanisme inconnu. Ce pourrait être une action sur la survie des nouveaux neurones qui serait cohérente avec les fonctions connues neuro-protectrices de la NA (Marien et al., 2004; Veyrac et al., 2005). Au cours du vieillissement, la chute de prolifération entre 2 et 10 mois intervient alors que le système noradrénergique est intact ; on peut donc penser que la NA n'intervient pas dans ce contrôle. Entre 10 et 23 mois, la baisse additionnelle du nombre de néo-neurones formés pourrait par contre être, au moins en partie, dépendante de la diminution d'expression de la DBH et de la NET que nous avons observée. Par ailleurs, des travaux antérieurs ont montré chez la souris jeune que les effets de l'enrichissement olfactif sont dépendants de l'activation noradrénergique (Veyrac et al., 2009) et de la neurogénèse (Moreno et al., 2009). Nos résultats chez la souris vieillissante montrent que les effets de l'enrichissement se maintiennent même en présence d'une neurogénèse très réduite et donc pourraient s'exercer indépendamment des néo-neurones. La fonction olfactive chez le jeune pourrait donc montrer une dépendance plus forte vis à vis de la neurogénèse que le cerveau âgé qui mettrait en place d'autres moyens de médier les effets de l'enrichissement. A l'appui de cette proposition, on peut noter que le BO âgé résiste très bien au vieillissement sur le plan structural (Richard et al., 2010) malgré la baisse massive de neurogénèse révélée par notre travail, suggérant la mise en place de mécanismes (baisse de l'apoptose ?) permettant de compenser la baisse de l'apport de nouveaux neurones. En conclusion, le vieillissement olfactif présente un décours temporel complexe suivant les paramètres étudiés (mémoire versus discrimination). Un autre résultat important de notre travail est la mise en évidence que les mécanismes de plasticité induits par enrichissement sont altérés plus tôt au cours du vieillissement que les fonctions de base. La baisse de la neurogénèse, et surtout de sa réactivité à l'expérience sensorielle serait plus liée au déficit de mémoire qu'au déficit de discrimination. De plus, il ressort de notre travail que les altérations noradrénergiques se corrèlent bien avec la baisse des performances de mémoire et de discrimination. Ce résultat conforte l'hypothèse d'un rôle fort de la NA dans le contrôle de la fonction olfactive et donc celle de la contribution du déficit noradrénergique aux troubles olfactifs observés dans la MA.

4. Vieillesse pathologique de type Alzheimer; quelles différences avec le vieillissement normal ?

L'ensemble de nos résultats sont synthétisés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : récapitulatif des résultats obtenus dans l'article 2.

		12 mois	
Performances olfactives		WT	APP/PS1
Habituation		✓	✓
Discrimination facile		✓	✓
Discrimination difficile		✓	✗ Déficit accru
Mémoire (rétention maximale)		15 15	5 <5
Système noradrénergique			
Densité de fibres noradrénergiques (BO)		<i>b</i> -90%	<i>b</i> -90%
Morphologie du BO			
Surface des couches du BO		<i>b</i> GcL réduite	<i>b</i> GcL et PIE réduites
Plaques amyloïdes			
Présentes uniquement dans la GcL		0 0	<i>b</i> <i>b x2</i>

groupe saline
groupe DSP4

4.1. Performances olfactives chez les APP/PS1

Dans l'étude 2, la comparaison entre les souris APP/PS1 et leurs contrôles non transgéniques de 12 mois révèlent que les souris APP/PS1 sont incapables de discriminer deux odeurs proches alors que les contrôles ont des performances identiques aux souris C57Bl6J de 10

mois évaluées dans l'étude 1. Les performances de discrimination sont donc altérées chez les souris APP/PS1 beaucoup plus tôt que chez les animaux contrôles. Ce résultat est en accord avec une étude récente utilisant une autre souche, les souris Tg2576 (Wesson et al., 2010). De même, les performances de mémoire sont plus précocement touchées chez les souris APP/PS1. Nos résultats ne permettent pas de déterminer à quel moment apparaissent ces déficits. Il faudra donc envisager de tester des animaux plus jeunes pour déceler l'âge limite d'apparition des troubles. En tout cas, ces résultats montrent que des tests simples évaluant les performances essentielles du système olfactif révèlent une atteinte marquée et précoce par rapport au pattern du vieillissement normal. Les tests de ce type sont facilement transposables à l'homme mais n'ont été que rarement utilisés (parfois pour tester la discrimination), les tests psychophysiques les plus fréquemment mis en œuvre étant des tests d'identification des odeurs. Sur la base de nos résultats, nous pouvons donc proposer que des simples tests de mémoire de reconnaissance et de discrimination soient mis en œuvre chez l'homme pour tenter de révéler des déficits olfactifs précoces et spécifiques chez les patients. Un test composite de ce type est en cours de mise au point au laboratoire. Il comprend en particulier une tâche de reconnaissance d'odeur homologue à celle proposée à la souris dans notre travail.

4.2. Effets de la lésion noradrénergique sur les performances olfactives chez la souris APP/PS1

Tandis que chez les souris contrôles, le traitement par le DSP4 n'induit pas de modification des performances de discrimination et conduit simplement à des modifications très discrètes de la rétention de l'odeur, il accroît les altérations de mémoire et de discrimination chez les APP/PS1. Les animaux ne sont alors plus du tout capables de discrimination fine et montrent un temps de rétention de l'odeur considérablement diminué (< 5min), tandis que les capacités d'habituation restent intactes.

Sur la base de ces résultats deux questions nous semblent se poser.

Tout d'abord, la déplétion chronique en NA a des effets plutôt discrets sur les performances olfactives (dans les tests de reconnaissance et de discrimination), ce qui pourrait paraître contradictoire avec les données que nous avons obtenues chez les souris normales âgées qui présentent une double altération noradrénergique et fonctionnelle olfactive et celles de la littérature chez la souris jeune qui montrent l'importance du contrôle noradrénergique de la fonction olfactive (Doucette et al., 2007; Mandairon et al., 2008b). Deux éléments pourraient rendre compte de ce paradoxe apparent. D'une part, il est probable que des mécanismes non dépendants de la NA interviennent dans le vieillissement de la fonction olfactive, par exemple

des mécanismes cholinergiques (Gurwitz et al., 1987; Mesulam et al., 1987; Takei et al., 1989). D'autre part, dans l'étude des souris APP/PS1, nous avons mis en place une déplétion à long terme de la NA par traitement chronique. Ce traitement induit peut-être des effets compensatoires même en l'absence de sprouting dans le BO (modulation des récepteurs et/ou du taux de NA libérée) qui pourraient restaurer les performances. De manière intéressante, dans cette hypothèse, nos données suggèrent que ces mécanismes ne seraient pas aussi efficaces chez les animaux APP/PS1 puisque ces animaux montrent un effet du DSP4 sur les performances.

La deuxième question soulevée par nos résultats montrant une aggravation des performances olfactives chez les souris APP/PS1 traitées par le DSP4 est celle des interactions entre NA et peptide β amyloïde. La quantification des plaques séniles indique que leur nombre est augmenté chez les souris APP/PS1 traitées au DSP4 par rapport aux APP/PS1 non traitées montrant l'existence d'interactions entre NA et peptide β amyloïde. Ces données sont en accord avec celles obtenues dans les mêmes conditions pour l'hippocampe et le cortex (Heneka et al., 2006; Kalinin et al., 2007; Heneka et al., 2010c; Jardanhazi-Kurutz et al., 2010). Le mécanisme de cette induction de plaques par le déficit noradrénergique a été partiellement élucidé et serait lié aux propriétés anti-inflammatoires de la NA (Feinstein et al., 2002; Heneka et al., 2010b). Plus précisément, la NA limite la production induite par le peptide β amyloïde de cytokines inflammatoires et la déplétion en NA conduit une augmentation de ces cytokines et surtout à un moindre recrutement de cellules micro-gliales et une réduction de la phagocytose du peptide β amyloïde (Heneka et al., 2010c).

4.3. Peptide β amyloïde et performances olfactives

Dans l'étude 2, nous montrons une corrélation de la charge amyloïde du BO avec les performances de mémoire, mais pas avec celles de discrimination. Ces données suggèrent que les processus de mémoire et de discrimination ne sont pas affectés de la même manière par le peptide β amyloïde. Dans une étude récente utilisant des souris Tg2576, les capacités de discrimination ne sont pas non plus corrélées à la charge amyloïde dans le BO (Wesson et al., 2010). Par contre, la corrélation entre mémoire à court terme et charge amyloïde n'est pas retrouvée. Les raisons de ces écarts peuvent être multiples. D'une part, le pattern d'apparition des plaques dans le BO semble très différent entre Tg2576 et APP/PS1 (pas de plaque dans le BO à 16 mois chez les Tg2576) et la tâche mnésique utilisée par Wesson et al. est beaucoup plus facile que celle que nous avons utilisée et donc moins sensible. Notre résultat indiquant une corrélation entre mémoire à court terme et charge amyloïde suggère que le déficit de mémoire pourrait être un bon indicateur de l'avancée de la pathologie et une aide au diagnostic, sous réserve de son applicabilité à l'homme.

5. Conclusion générale et perspectives

Nos travaux ont permis de caractériser les altérations olfactives survenant au cours du vieillissement normal, en utilisant des méthodes comportementales se rapprochant des tests psychophysiques utilisés chez l'homme pour permettre une comparaison plus directe. Globalement, nos résultats chez l'animal sont cohérents avec ceux obtenus chez l'homme et cette concordance valide l'utilisation du modèle olfactif pour l'étude du vieillissement et de ses mécanismes sous-jacents. Notre travail a également permis de mettre en évidence des altérations à l'échelle cellulaire qui pourraient être responsables au moins en partie de ces troubles olfactifs.

Notre travail révèle l'hétérogénéité du vieillissement, qui n'est pas une simple dégradation générale de la fonction olfactive. En particulier, le fonctionnement basal (discrimination facile et mémoire à très court terme) est maintenu en dépit d'une chute drastique de la neurogenèse, alors que les néo-neurones servent à la fonction olfactive chez les jeunes. Les études futures devront s'attacher à étudier et comprendre les mécanismes qui président à cette adaptation, en s'intéressant par exemple à l'étude du turn-over des interneurons bulbaires peut-être ralenti par une diminution du taux de mort neuronale. Une autre piste concerne l'évolution du mode d'action de la NA dans le BO. L'action de la NA sur les néo-neurones dominerait l'influence de la NA sur le réseau chez l'animal jeune, puis au cours du vieillissement, cette action s'exercerait de plus en plus sur des neurones plus anciens, les néo-neurones étant devenus très rares. Pour avancer dans cette voie, une meilleure connaissance du mode d'action de la NA sur ses récepteurs dans le BO -où et quand les récepteurs noradrénergiques sont-ils exprimés?- et de la modulation avec l'âge de leur expression paraît nécessaire. Notre travail suggère aussi que la perte de plasticité des performances olfactives et de la neurogenèse est le signe délétère le plus marquant du vieillissement. Là encore, les études à venir devront s'attaquer à l'élucidation des mécanismes altérés. La piste de la baisse de certains facteurs trophiques a commencé à être explorée (Enwere et al., 2004) et ce travail devra être poursuivi.

Enfin, notre travail s'est concentré sur les modifications liées à l'âge dans le BO mais il serait important de considérer dans le futur les autres structures de la voie olfactive dont dépend le traitement de l'information olfactive (cortex piriforme, cortex orbitofrontal en particulier). Des études récentes suggèrent en effet que le vieillissement altère la coordination fonctionnelle entre régions cérébrales impliquées dans le traitement d'une information (Andrews-Hanna et al., 2007). Des approches par cartographie cérébrale de l'expression de gènes précoces permettraient d'aborder cette question chez la souris.

Notre travail a permis aussi de confirmer l'existence de déficits olfactifs précoces dans le modèle murin APP/PS1 confortant l'intérêt de l'utilisation de tests olfactifs pour évaluer les déficits cognitifs, les corrélés aux altérations cellulaires et moléculaires, et éventuellement les transposer chez l'homme. De plus, la démonstration que la déplétion en NA aggrave le phénotype amyloïde dans le BO, contribue à valider un nouveau modèle murin de la MA combinant dépôts amyloïdes et déplétion en NA pour modéliser mieux la maladie humaine et approfondir l'étude des mécanismes patho-physiologiques sous-jacents à la MA. Pour une meilleure connaissance de ce modèle, son étude devra être complétée par une cinétique de l'apparition des troubles olfactifs et des dépôts amyloïdes dans le système olfactif, par la cinétique de la neurogenèse et celle de l'atteinte éventuelle du système cholinergique, les interactions étant fortes entre systèmes noradrénergique et cholinergique (Heneka et al., 2006). Ce modèle pourra être aussi utilisé pour évaluer des outils thérapeutiques potentiels, comme la stimulation de la neurogenèse ou des traitements noradrénergiques de substitution.

REFERENCES

- Abercrombie, E.D., Jacobs, B.L. 1987 Single-unit response of noradrenergic neurons in the locus coeruleus of freely moving cats. II. Adaptation to chronically presented stressful stimuli. In: *J Neurosci*, pp 2844-2848.
- Adriani, W., Ognibene, E., Heuland, E., Ghirardi, O., Caprioli, A., Laviola, G. 2006. Motor impulsivity in APP-SWE mice: a model of Alzheimer's disease. *Behav Pharmacol*;17:525-533.
- Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Bradt, B., Bauer, J., Cole, G.M., Cooper, N.R., Eikelenboom, P., Emmerling, M., Fiebich, B.L., Finch, C.E., Frautschy, S., Griffin, W.S., Hampel, H., Hull, M., Landreth, G., Lue, L., Mrak, R., Mackenzie, I.R., McGeer, P.L., O'Banion, M.K., Pachter, J., Pasinetti, G., Plata-Salaman, C., Rogers, J., Rydel, R., Shen, Y., Streit, W., Strohmeyer, R., Tooyoma, I., Van Muiswinkel, F.L., Veerhuis, R., Walker, D., Webster, S., Wegrzyniak, B., Wenk, G., Wyss-Coray, T. 2000. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;21:383-421.
- Aletrino, M.A., Vogels, O.J., Van Domburg, P.H., Ten Donkelaar, H.J. 1992. Cell loss in the nucleus raphes dorsalis in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;13:461-468.
- Allard, S., Gosein, V., Cuello, A.C., Ribeiro-da-Silva, A. 2010. Changes with aging in the dopaminergic and noradrenergic innervation of rat neocortex. *Neurobiol Aging*.
- Alonso, M., Viollet, C., Gabelle, M.M., Meas-Yedid, V., Olivo-Marin, J.C., Lledo, P.M. 2006. Olfactory discrimination learning increases the survival of adult-born neurons in the olfactory bulb. *J Neurosci*;26:10508-10513.
- Alonso, M., Ortega-Perez, I., Grubb, M.S., Bourgeois, J.P., Charneau, P., Lledo, P.M. 2008. Turning astrocytes from the rostral migratory stream into neurons: a role for the olfactory sensory organ. *J Neurosci*;28:11089-11102.
- Altman, J. 1962. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science*;135:1127-1128.
- Altman, J. 1969. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *J Comp Neurol*;137:433-457.
- Altman, J., Das, G.D. 1965. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*;124:319-335.
- Alvarez-Buylla, A., Lois, C. 1995. Neuronal stem cells in the brain of adult vertebrates. *Stem Cells*;13:263-272.
- Alvarez-Buylla, A., Garcia-Verdugo, J.M. 2002. Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci*;22:629-634.
- Alzheimer, A. 1907. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin*;64:146-148.
- Amoore, J.E., Venstrom, D., Davis, A.R. 1968. Measurement of specific anosmia. *Percept Mot Skills*;26:143-164.
- Andrews-Hanna, J.R., Snyder, A.Z., Vincent, J.L., Lustig, C., Head, D., Raichle, M.E., Buckner, R.L. 2007. Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron*;56:924-935.
- Angot, E., Loulier, K., Nguyen-Ba-Charvet, K.T., Gadeau, A.P., Ruat, M., Traiffort, E. 2008. Chemoattractive activity of sonic hedgehog in the adult subventricular zone modulates the number of neural precursors reaching the olfactory bulb. *Stem Cells*;26:2311-2320.
- Apelt, J., Kumar, A., Schliebs, R. 2002. Impairment of cholinergic neurotransmission in adult and aged transgenic Tg2576 mouse brain expressing the Swedish mutation of human beta-amyloid precursor protein. *Brain Res*;953:17-30.
- Arakawa, H., Blanchard, D.C., Arakawa, K., Dunlap, C., Blanchard, R.J. 2008. Scent marking behavior as an odorant communication in mice. *Neurosci Biobehav Rev*;32:1236-1248.
- Arendash, G.W., Su, G.C., Crawford, F.C., Bjugstad, K.B., Mullan, M. 1999. Intravascular beta-amyloid infusion increases blood pressure: implications for a vasoactive role of beta-amyloid in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*;268:17-20.

- Arendash, G.W., King, D.L., Gordon, M.N., Morgan, D., Hatcher, J.M., Hope, C.E., Diamond, D.M. 2001. Progressive, age-related behavioral impairments in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin-1 transgenes. *Brain Res*;891:42-53.
- Arendash, G.W., Schleif, W., Rezai-Zadeh, K., Jackson, E.K., Zacharia, L.C., Cracchiolo, J.R., Shippy, D., Tan, J. 2006. Caffeine protects Alzheimer's mice against cognitive impairment and reduces brain beta-amyloid production. *Neuroscience*;142:941-952.
- Arnold, S.E., Hyman, B.T., Van Hoesen, G.W. 1994. Neuropathologic changes of the temporal pole in Alzheimer's disease and Pick's disease. *Arch Neurol*;51:145-150.
- Arnold, S.E., Lee, E.B., Moberg, P.J., Stutzbach, L., Kazi, H., Han, L.Y., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q. 2010. Olfactory epithelium amyloid-beta and paired helical filament-tau pathology in Alzheimer disease. *Ann Neurol*;67:462-469.
- Arnsten, A.F., Li, B.M. 2005. Neurobiology of executive functions: catecholamine influences on prefrontal cortical functions. *Biol Psychiatry*;57:1377-1384.
- Ashe, K.H., Zahs, K.R. 2010. Probing the biology of Alzheimer's disease in mice. *Neuron*;66:631-645.
- Aston-Jones, G., Bloom, F.E. 1981. Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci*;1:876-886.
- Aston-Jones, G., Rajkowski, J., Cohen, J. 1999. Role of locus coeruleus in attention and behavioral flexibility. *Biol Psychiatry*;46:1309-1320.
- Aston-Jones, G., Rajkowski, J., Cohen, J. 2000. Locus coeruleus and regulation of behavioral flexibility and attention. *Prog Brain Res*;126:165-182.
- Attems, J., Jellinger, K.A. 2006. Olfactory tau pathology in Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Clin Neuropathol*;25:265-271.
- Attems, J., Lintner, F., Jellinger, K.A. 2005. Olfactory involvement in aging and Alzheimer's disease: an autopsy study. *J Alzheimers Dis*;7:149-157; discussion 173-180.
- Aungst, J.L., Heyward, P.M., Puche, A.C., Karnup, S.V., Hayar, A., Szabo, G., Shipley, M.T. 2003. Centre-surround inhibition among olfactory bulb glomeruli. *Nature*;426:623-629.
- Bach, P., Tschape, J.A., Kopietz, F., Braun, G., Baade, J.K., Wiederhold, K.H., Staufenbiel, M., Prinz, M., Deller, T., Kalinke, U., Buchholz, C.J., Muller, U.C. 2009. Vaccination with Abeta-displaying virus-like particles reduces soluble and insoluble cerebral Abeta and lowers plaque burden in APP transgenic mice. *J Immunol*;182:7613-7624.
- Bacon, A.W., Bondi, M.W., Salmon, D.P., Murphy, C. 1998. Very early changes in olfactory functioning due to Alzheimer's disease and the role of apolipoprotein E in olfaction. *Ann N Y Acad Sci*;855:723-731.
- Baker, H., Franzen, L., Stone, D., Cho, J.Y., Margolis, F.L. 1995. Expression of tyrosine hydroxylase in the aging, rodent olfactory system. *Neurobiol Aging*;16:119-128.
- Ballatore, C., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q. 2007. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nat Rev Neurosci*;8:663-672.
- Banasr, M., Hery, M., Printemps, R., Daszuta, A. 2004. Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. *Neuropsychopharmacology*;29:450-460.
- Barnes, P., Hale, G., Good, M. 2004. Intramaze and extramaze cue processing in adult APPSWE Tg2576 transgenic mice. *Behav Neurosci*;118:1184-1195.
- Bastien-Dionne, P.O., David, L.S., Parent, A., Saghatelian, A. 2010. Role of sensory activity on chemospecific populations of interneurons in the adult olfactory bulb. *J Comp Neurol*;518:1847-1861.
- Bath, K.G., Mandairon, N., Jing, D., Rajagopal, R., Kapoor, R., Chen, Z.Y., Khan, T., Proenca, C.C., Kraemer, R., Cleland, T.A., Hempstead, B.L., Chao, M.V., Lee, F.S. 2008.

- Variant brain-derived neurotrophic factor (Val66Met) alters adult olfactory bulb neurogenesis and spontaneous olfactory discrimination. *J Neurosci*;28:2383-2393.
- Bauer, S., Moyse, E., Jourdan, F., Colpaert, F., Martel, J.C., Marien, M. 2003. Effects of the alpha 2-adrenoreceptor antagonist dexefaroxan on neurogenesis in the olfactory bulb of the adult rat in vivo: selective protection against neuronal death. *Neuroscience*;117:281-291.
- Bayer, S.A. 1983. 3H-thymidine-radiographic studies of neurogenesis in the rat olfactory bulb. *Exp Brain Res*;50:329-340.
- Bedard, A., Parent, A. 2004. Evidence of newly generated neurons in the human olfactory bulb. *Brain Res Dev Brain Res*;151:159-168.
- Bell, K.F., Claudio Cuello, A. 2006. Altered synaptic function in Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol*;545:11-21.
- Bell, K.F., Bennett, D.A., Cuello, A.C. 2007. Paradoxical upregulation of glutamatergic presynaptic boutons during mild cognitive impairment. *J Neurosci*;27:10810-10817.
- Bell, K.F., Ducatzenzeiler, A., Ribeiro-da-Silva, A., Duff, K., Bennett, D.A., Cuello, A.C. 2006. The amyloid pathology progresses in a neurotransmitter-specific manner. *Neurobiol Aging*;27:1644-1657.
- Belluzzi, O., Benedusi, M., Ackman, J., LoTurco, J.J. 2003. Electrophysiological differentiation of new neurons in the olfactory bulb. *J Neurosci*;23:10411-10418.
- Belvindrah, R., Hankel, S., Walker, J., Patton, B.L., Muller, U. 2007. Beta1 integrins control the formation of cell chains in the adult rostral migratory stream. *J Neurosci*;27:2704-2717.
- Berridge, C.W., Waterhouse, B.D. 2003. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev*;42:33-84.
- Berti, V., Osorio, R.S., Mosconi, L., Li, Y., De Santi, S., de Leon, M.J. 2010. Early detection of Alzheimer's disease with PET imaging. *Neurodegener Dis*;7:131-135.
- Bhatnagar, K.P., Kennedy, R.C., Baron, G., Greenberg, R.A. 1987. Number of mitral cells and the bulb volume in the aging human olfactory bulb: a quantitative morphological study. *Anat Rec*;218:73-87.
- Bigham, M.H., Lidow, M.S. 1995. Adrenergic and serotonergic receptors in aged monkey neocortex. *Neurobiol Aging*;16:91-104.
- Biscaro, B., Lindvall, O., Hock, C., Ekdahl, C.T., Nitsch, R.M. 2009. Abeta immunotherapy protects morphology and survival of adult-born neurons in doubly transgenic APP/PS1 mice. *J Neurosci*;29:14108-14119.
- Bitan, G., Vollers, S.S., Teplow, D.B. 2003. Elucidation of primary structure elements controlling early amyloid beta-protein oligomerization. *J Biol Chem*;278:34882-34889.
- Blanchard, J., Decorte, L., Nogues, X., Micheau, J. 2009. Characterization of cognition alteration across the course of the disease in APP751SL mice with parallel estimation of cerebral Abeta deposition. *Behav Brain Res*;201:147-157.
- Blanchard, J., Martel, G., Guillou, J.L., Nogues, X., Micheau, J. 2008. Impairment of spatial memory consolidation in APP(751SL) mice results in cue-guided response. *Neurobiol Aging*;29:1011-1021.
- Bliss, T.V., Goddard, G.V., Riives, M. 1983. Reduction of long-term potentiation in the dentate gyrus of the rat following selective depletion of monoamines. *J Physiol*;334:475-491.
- Boekhoorn, K., Joels, M., Lucassen, P.J. 2006. Increased proliferation reflects glial and vascular-associated changes, but not neurogenesis in the presenile Alzheimer hippocampus. *Neurobiol Dis*;24:1-14.
- Bolteus, A.J., Bordey, A. 2004. GABA release and uptake regulate neuronal precursor migration in the postnatal subventricular zone. *J Neurosci*;24:7623-7631.
- Boncrisiano, S., Calhoun, M.E., Kelly, P.H., Pfeifer, M., Bondolfi, L., Stalder, M., Phinney, A.L., Abramowski, D., Sturchler-Pierrat, C., Enz, A., Sommer, B., Staufenbiel, M.,

- Jucker, M. 2002. Cholinergic changes in the APP23 transgenic mouse model of cerebral amyloidosis. *J Neurosci*;22:3234-3243.
- Bonfils, P., Faulcon, P., Tavernier, L., Bonfils, N.A., Malinvaud, D. 2008. [Home accidents associated with anosmia]. *Presse Med*;37:742-745.
- Bons, N., Mestre, N., Petter, A. 1992. Senile plaques and neurofibrillary changes in the brain of an aged lemurian primate, *Microcebus murinus*. *Neurobiol Aging*;13:99-105.
- Bons, N., Rieger, F., Prudhomme, D., Fisher, A., Krause, K.H. 2006. *Microcebus murinus*: a useful primate model for human cerebral aging and Alzheimer's disease? *Genes Brain Behav*;5:120-130.
- Borchelt, D.R., Ratovitski, T., van Lare, J., Lee, M.K., Gonzales, V., Jenkins, N.A., Copeland, N.G., Price, D.L., Sisodia, S.S. 1997. Accelerated amyloid deposition in the brains of transgenic mice coexpressing mutant presenilin 1 and amyloid precursor proteins. *Neuron*;19:939-945.
- Bouret, S., Sara, S.J. 2004. Reward expectation, orientation of attention and locus coeruleus-medial frontal cortex interplay during learning. *Eur J Neurosci*;20:791-802.
- Bovetti, S., Hsieh, Y.C., Bovolino, P., Perroteau, I., Kazunori, T., Puche, A.C. 2007. Blood vessels form a scaffold for neuroblast migration in the adult olfactory bulb. *J Neurosci*;27:5976-5980.
- Boyce, J.M., Shone, G.R. 2006. Effects of ageing on smell and taste. *Postgrad Med J*;82:239-241.
- Braak, H., Braak, E. 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*;82:239-259.
- Braak, H., Braak, E. 1998. Evolution of neuronal changes in the course of Alzheimer's disease. *J Neural Transm Suppl*;53:127-140.
- Breer, H. 2003. Olfactory receptors: molecular basis for recognition and discrimination of odors. *Anal Bioanal Chem*;377:427-433.
- Brennan, P.A., Kendrick, K.M. 2006. Mammalian social odours: attraction and individual recognition. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*;361:2061-2078.
- Brennan, P.A., Schellinck, H.M., de la Riva, C., Kendrick, K.M., Keverne, E.B. 1998. Changes in neurotransmitter release in the main olfactory bulb following an olfactory conditioning procedure in mice. *Neuroscience*;87:583-590.
- Breton-Provencher, V., Lemasson, M., Peralta, M.R., 3rd, Saghatelian, A. 2009. Interneurons produced in adulthood are required for the normal functioning of the olfactory bulb network and for the execution of selected olfactory behaviors. *J Neurosci*;29:15245-15257.
- Brezun, J.M., Daszuta, A. 1999. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience*;89:999-1002.
- Brill, M.S., Ninkovic, J., Winpenny, E., Hodge, R.D., Ozen, I., Yang, R., Lepier, A., Gascon, S., Erdelyi, F., Szabo, G., Parras, C., Guillemot, F., Frotscher, M., Berninger, B., Hevner, R.F., Raineteau, O., Gotz, M. 2009. Adult generation of glutamatergic olfactory bulb interneurons. *Nat Neurosci*;12:1524-1533.
- Brocher, S., Artola, A., Singer, W. 1992. Agonists of cholinergic and noradrenergic receptors facilitate synergistically the induction of long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Brain Res*;573:27-36.
- Brown, J., Cooper-Kuhn, C.M., Kempermann, G., Van Praag, H., Winkler, J., Gage, F.H., Kuhn, H.G. 2003. Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci*;17:2042-2046.
- Brushfield, A.M., Luu, T.T., Callahan, B.D., Gilbert, P.E. 2008. A comparison of discrimination and reversal learning for olfactory and visual stimuli in aged rats. *Behav Neurosci*;122:54-62.
- Buck, L., Axel, R. 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell*;65:175-187.

- Buonviso, N., Chaput, M. 2000. Olfactory experience decreases responsiveness of the olfactory bulb in the adult rat. *Neuroscience*;95:325-332.
- Burke, S.N., Barnes, C.A. 2006. Neural plasticity in the ageing brain. *Nat Rev Neurosci*;7:30-40.
- Burke, W.J., Park, D.H., Chung, H.D., Marshall, G.L., Haring, J.H., Joh, T.H. 1990. Evidence for decreased transport of tryptophan hydroxylase in Alzheimer's disease. *Brain Res*;537:83-87.
- Burke, W.J., Roccaforte, W.H., Wengel, S.P., McArthur-Miller, D., Folks, D.G., Potter, J.F. 1998. Disagreement in the reporting of depressive symptoms between patients with dementia of the Alzheimer type and their collateral sources. *Am J Geriatr Psychiatry*;6:308-319.
- Busch, C., Bohl, J., Ohm, T.G. 1997. Spatial, temporal and numeric analysis of Alzheimer changes in the nucleus coeruleus. *Neurobiol Aging*;18:401-406.
- Busto, G.U., Elie, J.E., Kermen, F., Garcia, S., Sacquet, J., Jourdan, F., Marcel, D., Mandairon, N., Didier, A. 2009. Expression of Zif268 in the granule cell layer of the adult mouse olfactory bulb is modulated by experience. *Eur J Neurosci*;29:1431-1439.
- Butterfield, D.A., Bush, A.I. 2004. Alzheimer's amyloid beta-peptide (1-42): involvement of methionine residue 35 in the oxidative stress and neurotoxicity properties of this peptide. *Neurobiol Aging*;25:563-568.
- Caille, I., Allinquant, B., Dupont, E., Bouillot, C., Langer, A., Muller, U., Prochiantz, A. 2004. Soluble form of amyloid precursor protein regulates proliferation of progenitors in the adult subventricular zone. *Development*;131:2173-2181.
- Cameron, H.A., McKay, R.D. 1999. Restoring production of hippocampal neurons in old age. *Nat Neurosci*;2:894-897.
- Carleton, A., Petreanu, L.T., Lansford, R., Alvarez-Buylla, A., Lledo, P.M. 2003. Becoming a new neuron in the adult olfactory bulb. *Nat Neurosci*;6:507-518.
- Casley, C.S., Canevari, L., Land, J.M., Clark, J.B., Sharpe, M.A. 2002. Beta-amyloid inhibits integrated mitochondrial respiration and key enzyme activities. *J Neurochem*;80:91-100.
- Castillo, P.E., Carleton, A., Vincent, J.D., Lledo, P.M. 1999. Multiple and opposing roles of cholinergic transmission in the main olfactory bulb. *J Neurosci*;19:9180-9191.
- Castren, E., Thoenen, H., Lindholm, D. 1995. Brain-derived neurotrophic factor messenger RNA is expressed in the septum, hypothalamus and in adrenergic brain stem nuclei of adult rat brain and is increased by osmotic stimulation in the paraventricular nucleus. *Neuroscience*;64:71-80.
- Casu, M.A., Wong, T.P., De Koninck, Y., Ribeiro-da-Silva, A., Cuello, A.C. 2002. Aging causes a preferential loss of cholinergic innervation of characterized neocortical pyramidal neurons. *Cereb Cortex*;12:329-337.
- Caughey, B., Lansbury, P.T. 2003. Protofibrils, pores, fibrils, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders. *Annu Rev Neurosci*;26:267-298.
- Cayre, M., Canoll, P., Goldman, J.E. 2009. Cell migration in the normal and pathological postnatal mammalian brain. *Prog Neurobiol*;88:41-63.
- Cecchi, M., Khoshbouei, H., Morilak, D.A. 2002. Modulatory effects of norepinephrine, acting on alpha 1 receptors in the central nucleus of the amygdala, on behavioral and neuroendocrine responses to acute immobilization stress. *Neuropharmacology*;43:1139-1147.
- Cerf-Ducastel, B., Murphy, C. 2003. FMRI brain activation in response to odors is reduced in primary olfactory areas of elderly subjects. *Brain Res*;986:39-53.
- Chan-Palay, V. 1991. Alterations in the locus coeruleus in dementias of Alzheimer's and Parkinson's disease. *Prog Brain Res*;88:625-630.

- Chan-Palay, V., Asan, E. 1989. Quantitation of catecholamine neurons in the locus coeruleus in human brains of normal young and older adults and in depression. *J Comp Neurol*;287:357-372.
- Chapman, P.F., White, G.L., Jones, M.W., Cooper-Blacketer, D., Marshall, V.J., Irizarry, M., Younkin, L., Good, M.A., Bliss, T.V., Hyman, B.T., Younkin, S.G., Hsiao, K.K. 1999. Impaired synaptic plasticity and learning in aged amyloid precursor protein transgenic mice. *Nat Neurosci*;2:271-276.
- Chazal, G., Durbec, P., Jankovski, A., Rougon, G., Cremer, H. 2000. Consequences of neural cell adhesion molecule deficiency on cell migration in the rostral migratory stream of the mouse. *J Neurosci*;20:1446-1457.
- Cheetham, S.C., Viggers, J.A., Butler, S.A., Prow, M.R., Heal, D.J. 1996. [³H]nisoxetine--a radioligand for noradrenaline reuptake sites: correlation with inhibition of [³H]noradrenaline uptake and effect of DSP-4 lesioning and antidepressant treatments. *Neuropharmacology*;35:63-70.
- Chen, C.P., Eastwood, S.L., Hope, T., McDonald, B., Francis, P.T., Esiri, M.M. 2000a. Immunocytochemical study of the dorsal and median raphe nuclei in patients with Alzheimer's disease prospectively assessed for behavioural changes. *Neuropathol Appl Neurobiol*;26:347-355.
- Chen, G., Chen, K.S., Knox, J., Inglis, J., Bernard, A., Martin, S.J., Justice, A., McConlogue, L., Games, D., Freedman, S.B., Morris, R.G. 2000b. A learning deficit related to age and beta-amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature*;408:975-979.
- Chiaromello, S., Dalmasso, G., Bezin, L., Marcel, D., Jourdan, F., Peretto, P., Fasolo, A., De Marchis, S. 2007. BDNF/ TrkB interaction regulates migration of SVZ precursor cells via PI3-K and MAP-K signalling pathways. *Eur J Neurosci*;26:1780-1790.
- Chishti, M.A., Yang, D.S., Janus, C., Phinney, A.L., Horne, P., Pearson, J., Strome, R., Zuker, N., Loukides, J., French, J., Turner, S., Lozza, G., Grilli, M., Kunicki, S., Morissette, C., Paquette, J., Gervais, F., Bergeron, C., Fraser, P.E., Carlson, G.A., George-Hyslop, P.S., Westaway, D. 2001. Early-onset amyloid deposition and cognitive deficits in transgenic mice expressing a double mutant form of amyloid precursor protein 695. *J Biol Chem*;276:21562-21570.
- Chiti, F., Dobson, C.M. 2006. Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. *Annu Rev Biochem*;75:333-366.
- Cho, S., Hu, Y. 2007. Activation of 5-HT₄ receptors inhibits secretion of beta-amyloid peptides and increases neuronal survival. *Exp Neurol*;203:274-278.
- Choi, Y., Kim, H.S., Shin, K.Y., Kim, E.M., Kim, M., Kim, H.S., Park, C.H., Jeong, Y.H., Yoo, J., Lee, J.P., Chang, K.A., Kim, S., Suh, Y.H. 2007. Minocycline attenuates neuronal cell death and improves cognitive impairment in Alzheimer's disease models. *Neuropsychopharmacology*;32:2393-2404.
- Choudhury, E.S., Moberg, P., Doty, R.L. 2003. Influences of age and sex on a microencapsulated odor memory test. *Chem Senses*;28:799-805.
- Chow, V.W., Mattson, M.P., Wong, P.C., Gleichmann, M. 2010. An overview of APP processing enzymes and products. *Neuromolecular Med*;12:1-12.
- Christen-Zaech, S., Kraftsik, R., Pillevuit, O., Kiraly, M., Martins, R., Khalili, K., Miklossy, J. 2003. Early olfactory involvement in Alzheimer's disease. *Can J Neurol Sci*;30:20-25.
- Cirrito, J.R., Yamada, K.A., Finn, M.B., Sloviter, R.S., Bales, K.R., May, P.C., Schoepp, D.D., Paul, S.M., Mennerick, S., Holtzman, D.M. 2005. Synaptic activity regulates interstitial fluid amyloid-beta levels in vivo. *Neuron*;48:913-922.
- Cleland, T.A., Narla, V.A. 2003. Intensity modulation of olfactory acuity. *Behav Neurosci*;117:1434-1440.
- Cleland, T.A., Sethupathy, P. 2006. Non-topographical contrast enhancement in the olfactory bulb. *BMC Neurosci*;7:7.

- Cleland, T.A., Morse, A., Yue, E.L., Linster, C. 2002. Behavioral models of odor similarity. *Behav Neurosci*;116:222-231.
- Comery, T.A., Martone, R.L., Aschmies, S., Atchison, K.P., Diamantidis, G., Gong, X., Zhou, H., Kreft, A.F., Pangalos, M.N., Sonnenberg-Reines, J., Jacobsen, J.S., Marquis, K.L. 2005. Acute gamma-secretase inhibition improves contextual fear conditioning in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*;25:8898-8902.
- Conley, D.B., Robinson, A.M., Shinnars, M.J., Kern, R.C. 2003. Age-related olfactory dysfunction: cellular and molecular characterization in the rat. *Am J Rhinol*;17:169-175.
- Conner, J.M., Lauterborn, J.C., Yan, Q., Gall, C.M., Varon, S. 1997. Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: evidence for anterograde axonal transport. *J Neurosci*;17:2295-2313.
- Conover, J.C., Allen, R.L. 2002. The subventricular zone: new molecular and cellular developments. *Cell Mol Life Sci*;59:2128-2135.
- Conover, J.C., Doetsch, F., Garcia-Verdugo, J.M., Gale, N.W., Yancopoulos, G.D., Alvarez-Buylla, A. 2000. Disruption of Eph/ephrin signaling affects migration and proliferation in the adult subventricular zone. *Nat Neurosci*;3:1091-1097.
- Cooper-Kuhn, C.M., Winkler, J., Kuhn, H.G. 2004. Decreased neurogenesis after cholinergic forebrain lesion in the adult rat. *J Neurosci Res*;77:155-165.
- Corcoran, K.A., Lu, Y., Turner, R.S., Maren, S. 2002. Overexpression of hAPP^{swe} impairs rewarded alternation and contextual fear conditioning in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Learn Mem*;9:243-252.
- Corotto, F.S., Henegar, J.A., Maruniak, J.A. 1993. Neurogenesis persists in the subependymal layer of the adult mouse brain. *Neurosci Lett*;149:111-114.
- Costa, D.A., Cracchiolo, J.R., Bachstetter, A.D., Hughes, T.F., Bales, K.R., Paul, S.M., Mervis, R.F., Arendash, G.W., Potter, H. 2007. Enrichment improves cognition in AD mice by amyloid-related and unrelated mechanisms. *Neurobiol Aging*;28:831-844.
- Cotel, M.C., Jawhar, S., Christensen, D.Z., Bayer, T.A., Wirths, O. 2010. Environmental enrichment fails to rescue working memory deficits, neuron loss, and neurogenesis in APP/PS1KI mice. *Neurobiol Aging*.
- Covington, J.W., Geisler, M.W., Polich, J., Murphy, C. 1999. Normal aging and odor intensity effects on the olfactory event-related potential. *Int J Psychophysiol*;32:205-214.
- Cribbs, D.H. 2010. Abeta DNA vaccination for Alzheimer's disease: focus on disease prevention. *CNS Neurol Disord Drug Targets*;9:207-216.
- Curtis, M.A., Monzo, H.J., Faull, R.L. 2009. The rostral migratory stream and olfactory system: smell, disease and slippery cells. *Prog Brain Res*;175:33-42.
- Curtis, M.A., Kam, M., Nannmark, U., Anderson, M.F., Axell, M.Z., Wikkelso, C., Holtas, S., van Roon-Mom, W.M., Bjork-Eriksson, T., Nordborg, C., Frisen, J., Dragunow, M., Faull, R.L., Eriksson, P.S. 2007. Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension. *Science*;315:1243-1249.
- Czesnik, D., Nezlin, L., Rabba, J., Muller, B., Schild, D. 2001. Noradrenergic modulation of calcium currents and synaptic transmission in the olfactory bulb of *Xenopus laevis* tadpoles. *Eur J Neurosci*;13:1093-1100.
- Dade, L.A., Zatorre, R.J., Jones-Gotman, M. 2002. Olfactory learning: convergent findings from lesion and brain imaging studies in humans. *Brain*;125:86-101.
- Daly, R.N., Goldberg, P.B., Roberts, J. 1989. The effect of age on presynaptic alpha 2 adrenoceptor autoregulation of norepinephrine release. *J Gerontol*;44:B59-66.
- Dardou, D., Datiche, F., Cattarelli, M. 2008. Memory is differently impaired during aging according to the learning tasks in the rat. *Behav Brain Res*;194:193-200.
- Davies, P. 1999. Challenging the cholinergic hypothesis in Alzheimer disease. *Jama*;281:1433-1434.
- Davis, R.N., Massman, P.J., Doody, R.S. 2001. Cognitive intervention in Alzheimer disease: a randomized placebo-controlled study. *Alzheimer Dis Assoc Disord*;15:1-9.

- De Blasi, A., Cotecchia, S., Mennini, T. 1982. Selective changes of receptor binding in brain regions of aged rats. *Life Sci*;31:335-340.
- Deacon, R.M., Koros, E., Bornemann, K.D., Rawlins, J.N. 2009. Aged Tg2576 mice are impaired on social memory and open field habituation tests. *Behav Brain Res*;197:466-468.
- DeKosky, S.T., Ikonomic, M.D., Styren, S.D., Beckett, L., Wisniewski, S., Bennett, D.A., Cochran, E.J., Kordower, J.H., Mufson, E.J. 2002. Upregulation of choline acetyltransferase activity in hippocampus and frontal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *Ann Neurol*;51:145-155.
- Delacourte, A. 1990. General and dramatic glial reaction in Alzheimer brains. *Neurology*;40:33-37.
- Delacourte, A., David, J.P., Sergeant, N., Buee, L., Wattez, A., Vermersch, P., Ghazali, F., Fallet-Bianco, C., Pasquier, F., Lebert, F., Petit, H., Di Menza, C. 1999. The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology*;52:1158-1165.
- Demarquay, G., Ryvlin, P., Royet, J.P. 2007. [Olfaction and neurological diseases: a review of the literature]. *Rev Neurol (Paris)*;163:155-167.
- Devanand, D.P., Michaels-Marston, K.S., Liu, X., Pelton, G.H., Padilla, M., Marder, K., Bell, K., Stern, Y., Mayeux, R. 2000. Olfactory deficits in patients with mild cognitive impairment predict Alzheimer's disease at follow-up. *Am J Psychiatry*;157:1399-1405.
- Devanand, D.P., Liu, X., Tabert, M.H., Pradhaban, G., Cuasay, K., Bell, K., de Leon, M.J., Doty, R.L., Stern, Y., Pelton, G.H. 2008. Combining early markers strongly predicts conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*;64:871-879.
- Devi, L., Ohno, M. 2010. Genetic reductions of beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 and amyloid-beta ameliorate impairment of conditioned taste aversion memory in 5XFAD Alzheimer's disease model mice. *Eur J Neurosci*;31:110-118.
- Dickstein, D.L., Kabaso, D., Rocher, A.B., Luebke, J.I., Wearne, S.L., Hof, P.R. 2007. Changes in the structural complexity of the aged brain. *Aging Cell*;6:275-284.
- Dineley, K.T. 2007. Beta-amyloid peptide--nicotinic acetylcholine receptor interaction: the two faces of health and disease. *Front Biosci*;12:5030-5038.
- Ding, Y.S., Singhal, T., Planeta-Wilson, B., Gallezot, J.D., Nabulsi, N., Labaree, D., Ropchan, J., Henry, S., Williams, W., Carson, R.E., Neumeister, A., Malison, R.T. 2010. PET imaging of the effects of age and cocaine on the norepinephrine transporter in the human brain using (S,S)-[(11)C]O-methylreboxetine and HRRT. *Synapse*;64:30-38.
- Djordjevic, J., Jones-Gotman, M., De Sousa, K., Chertkow, H. 2008. Olfaction in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;29:693-706.
- Dluzen, D.E., Muraoka, S., Landgraf, R. 1998. Olfactory bulb norepinephrine depletion abolishes vasopressin and oxytocin preservation of social recognition responses in rats. *Neurosci Lett*;254:161-164.
- Dodart, J.C., Meziane, H., Mathis, C., Bales, K.R., Paul, S.M., Ungerer, A. 1999. Behavioral disturbances in transgenic mice overexpressing the V717F beta-amyloid precursor protein. *Behav Neurosci*;113:982-990.
- Dodart, J.C., Bales, K.R., Gannon, K.S., Greene, S.J., DeMattos, R.B., Mathis, C., DeLong, C.A., Wu, S., Wu, X., Holtzman, D.M., Paul, S.M. 2002. Immunization reverses memory deficits without reducing brain A β burden in Alzheimer's disease model. *Nat Neurosci*;5:452-457.
- Doetsch, F., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A. 1997. Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. *J Neurosci*;17:5046-5061.

- Dong, H., Goico, B., Martin, M., Csernansky, C.A., Bertchume, A., Csernansky, J.G. 2004. Modulation of hippocampal cell proliferation, memory, and amyloid plaque deposition in APPsw (Tg2576) mutant mice by isolation stress. *Neuroscience*;127:601-609.
- Dong, H., Csernansky, C.A., Martin, M.V., Bertchume, A., Vallera, D., Csernansky, J.G. 2005. Acetylcholinesterase inhibitors ameliorate behavioral deficits in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Psychopharmacology (Berl)*;181:145-152.
- Dong, X.X., Wang, Y., Qin, Z.H. 2009. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin*;30:379-387.
- Donovan, M.H., Yazdani, U., Norris, R.D., Games, D., German, D.C., Eisch, A.J. 2006. Decreased adult hippocampal neurogenesis in the PDAPP mouse model of Alzheimer's disease. *J Comp Neurol*;495:70-83.
- Doody, R.S., Stevens, J.C., Beck, C., Dubinsky, R.M., Kaye, J.A., Gwyther, L., Mohs, R.C., Thal, L.J., Whitehouse, P.J., DeKosky, S.T., Cummings, J.L. 2001. Practice parameter: management of dementia (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*;56:1154-1166.
- Doty, R.L., Shaman, P., Applebaum, S.L., Giberson, R., Siksorski, L., Rosenberg, L. 1984. Smell identification ability: changes with age. *Science*;226:1441-1443.
- Doucette, W., Milder, J., Restrepo, D. 2007. Adrenergic modulation of olfactory bulb circuitry affects odor discrimination. *Learn Mem*;14:539-547.
- Dubois, A., Herard, A.S., Delatour, B., Hantraye, P., Bonvento, G., Dhenain, M., Delzescaux, T. 2010. Detection by voxel-wise statistical analysis of significant changes in regional cerebral glucose uptake in an APP/PS1 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroimage*;51:586-598.
- Dubois, B., Feldman, H.H., Jacova, C., Dekosky, S.T., Barberger-Gateau, P., Cummings, J., Delacourte, A., Galasko, D., Gauthier, S., Jicha, G., Meguro, K., O'Brien, J., Pasquier, F., Robert, P., Rossor, M., Salloway, S., Stern, Y., Visser, P.J., Scheltens, P. 2007. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol*;6:734-746.
- Duchamp-Viret, P., Chaput, M.A., Duchamp, A. 1999. Odor response properties of rat olfactory receptor neurons. *Science*;284:2171-2174.
- Duff, K., Eckman, C., Zehr, C., Yu, X., Prada, C.M., Perez-tur, J., Hutton, M., Buee, L., Harigaya, Y., Yager, D., Morgan, D., Gordon, M.N., Holcomb, L., Refolo, L., Zenk, B., Hardy, J., Younkin, S. 1996. Increased amyloid-beta42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature*;383:710-713.
- Duggan, C.D., Ngai, J. 2007. Scent of a stem cell. *Nat Neurosci*;10:673-674.
- Duyckaerts, C., Potier, M.C., Delatour, B. 2008. Alzheimer disease models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta Neuropathol*;115:5-38.
- Eikelenboom, P., Veerhuis, R., Familian, A., Hoozemans, J.J., van Gool, W.A., Rozemuller, A.J. 2008. Neuroinflammation in plaque and vascular beta-amyloid disorders: clinical and therapeutic implications. *Neurodegener Dis*;5:190-193.
- El Tayara Nel, T., Delatour, B., Volk, A., Dhenain, M. 2010. Detection of vascular alterations by in vivo magnetic resonance angiography and histology in APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *Magma*;23:53-64.
- Elaagouby, A., Gervais, R. 1996. Induction of a calcium-dependent long-term enhancement of excitability in the rat olfactory bulb. *Chem Senses*;21:159-168.
- Elliott-Hunt, C.R., Marsh, B., Bacon, A., Pope, R., Vanderplank, P., Wynick, D. 2004. Galanin acts as a neuroprotective factor to the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A*;101:5105-5110.
- Ennis, M., Linster, C., Aroniadou-Anderjaska, V., Ciombor, K., Shipley, M.T. 1998. Glutamate and synaptic plasticity at mammalian primary olfactory synapses. *Ann N Y Acad Sci*;855:457-466.

- Enwere, E., Shingo, T., Gregg, C., Fujikawa, H., Ohta, S., Weiss, S. 2004. Aging results in reduced epidermal growth factor receptor signaling, diminished olfactory neurogenesis, and deficits in fine olfactory discrimination. *J Neurosci*;24:8354-8365.
- Eriksson, P.S., Perfilieva, E., Bjork-Eriksson, T., Alborn, A.M., Nordborg, C., Peterson, D.A., Gage, F.H. 1998. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*;4:1313-1317.
- Ermini, F.V., Grathwohl, S., Radde, R., Yamaguchi, M., Staufenbiel, M., Palmer, T.D., Jucker, M. 2008. Neurogenesis and alterations of neural stem cells in mouse models of cerebral amyloidosis. *Am J Pathol*;172:1520-1528.
- Escanilla, O., Arrellanos, A., Karnow, A., Ennis, M., Linster, C. 2010. Noradrenergic modulation of behavioral odor detection and discrimination thresholds in the olfactory bulb. *Eur J Neurosci*;32:458-468.
- Esteban, S., Garau, C., Aparicio, S., Moranta, D., Barcelo, P., Fiol, M.A., Rial, R. 2010. Chronic melatonin treatment and its precursor L-tryptophan improve the monoaminergic neurotransmission and related behavior in the aged rat brain. *J Pineal Res*;48:170-177.
- Evans, W.J., Cui, L., Starr, A. 1995. Olfactory event-related potentials in normal human subjects: effects of age and gender. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*;95:293-301.
- Fagan, A.M., Holtzman, D.M. 2010. Cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease. *Biomark Med*;4:51-63.
- Faure, A., Verret, L., Bozon, B., El Tannir El Tayara, N., Ly, M., Kober, F., Dhenain, M., Rampon, C., Delatour, B. 2009. Impaired neurogenesis, neuronal loss, and brain functional deficits in the APPxPS1-Ki mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*.
- Fawcett, J.P., Aloyz, R., McLean, J.H., Pareek, S., Miller, F.D., McPherson, P.S., Murphy, R.A. 1997. Detection of brain-derived neurotrophic factor in a vesicular fraction of brain synaptosomes. *J Biol Chem*;272:8837-8840.
- Fawcett, J.P., Bamji, S.X., Causing, C.G., Aloyz, R., Ase, A.R., Reader, T.A., McLean, J.H., Miller, F.D. 1998. Functional evidence that BDNF is an anterograde neuronal trophic factor in the CNS. *J Neurosci*;18:2808-2821.
- Feinstein, D.L., Heneka, M.T., Gavrilyuk, V., Dello Russo, C., Weinberg, G., Galea, E. 2002. Noradrenergic regulation of inflammatory gene expression in brain. *Neurochem Int*;41:357-365.
- Feldman, H.H., Woodward, M. 2005. The staging and assessment of moderate to severe Alzheimer disease. *Neurology*;65:s10-s17.
- Ferreira, S.T., Vieira, M.N., De Felice, F.G. 2007. Soluble protein oligomers as emerging toxins in Alzheimer's and other amyloid diseases. *IUBMB Life*;59:332-345.
- Filali, M., Lalonde, R. 2009. Age-related cognitive decline and nesting behavior in an APPswe/PS1 bigenic model of Alzheimer's disease. *Brain Res*;1292:93-99.
- Filali, M., Lalonde, R., Rivest, S. 2009. Cognitive and non-cognitive behaviors in an APPswe/PS1 bigenic model of Alzheimer's disease. *Genes Brain Behav*;8:143-148.
- Firestein, S. 2001. How the olfactory system makes sense of scents. *Nature*;413:211-218.
- Fletcher, M.L., Wilson, D.A. 2003. Olfactory bulb mitral-tufted cell plasticity: odorant-specific tuning reflects previous odorant exposure. *J Neurosci*;23:6946-6955.
- Flood, D.G., Coleman, P.D. 1988. Neuron numbers and sizes in aging brain: comparisons of human, monkey, and rodent data. *Neurobiol Aging*;9:453-463.
- Foote, S.L., Aston-Jones, G., Bloom, F.E. 1980. Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc Natl Acad Sci U S A*;77:3033-3037.
- Foote, S.L., Bloom, F.E., Aston-Jones, G. 1983. Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol Rev*;63:844-914.
- Forno, L.S. 1992. Neuropathologic features of Parkinson's, Huntington's, and Alzheimer's diseases. *Ann N Y Acad Sci*;648:6-16.

- Forstl, H., Levy, R., Burns, A., Luthert, P., Cairns, N. 1994. Disproportionate loss of noradrenergic and cholinergic neurons as cause of depression in Alzheimer's disease--a hypothesis. *Pharmacopsychiatry*;27:11-15.
- Foster, J.K., Verdile, G., Bates, K.A., Martins, R.N. 2009. Immunization in Alzheimer's disease: naive hope or realistic clinical potential? *Mol Psychiatry*;14:239-251.
- Fritschy, J.M., Grzanna, R. 1989. Immunohistochemical analysis of the neurotoxic effects of DSP-4 identifies two populations of noradrenergic axon terminals. *Neuroscience*;30:181-197.
- Fritschy, J.M., Grzanna, R. 1992. Restoration of ascending noradrenergic projections by residual locus coeruleus neurons: compensatory response to neurotoxin-induced cell death in the adult rat brain. *J Comp Neurol*;321:421-441.
- Frolich, L. 2002. The cholinergic pathology in Alzheimer's disease--discrepancies between clinical experience and pathophysiological findings. *J Neural Transm*;109:1003-1013.
- Fulga, T.A., Elson-Schwab, I., Khurana, V., Steinhilb, M.L., Spires, T.L., Hyman, B.T., Feany, M.B. 2007. Abnormal bundling and accumulation of F-actin mediates tau-induced neuronal degeneration in vivo. *Nat Cell Biol*;9:139-148.
- Fusetti, M., Fioretti, A.B., Silvagni, F., Simaskou, M., Sucapane, P., Necozone, S., Eibenstein, A. 2010. Smell and preclinical Alzheimer disease: study of 29 patients with amnesic mild cognitive impairment. *J Otolaryngol Head Neck Surg*;39:175-181.
- Galeotti, N., Ghelardini, C., Bartolini, A. 1998. Role of 5-HT4 receptors in the mouse passive avoidance test. *J Pharmacol Exp Ther*;286:1115-1121.
- Games, D., Adams, D., Alessandrini, R., Barbour, R., Berthelette, P., Blackwell, C., Carr, T., Clemens, J., Donaldson, T., Gillespie, F., et al. 1995. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. *Nature*;373:523-527.
- Gan, L., Qiao, S., Lan, X., Chi, L., Luo, C., Lien, L., Yan Liu, Q., Liu, R. 2008. Neurogenic responses to amyloid-beta plaques in the brain of Alzheimer's disease-like transgenic (pPDGF-APP^{Sw,Ind}) mice. *Neurobiol Dis*;29:71-80.
- Gao, Z., Ure, K., Ables, J.L., Lagace, D.C., Nave, K.A., Goebbels, S., Eisch, A.J., Hsieh, J. 2009. Neurod1 is essential for the survival and maturation of adult-born neurons. *Nat Neurosci*;12:1090-1092.
- Garcia-Alloza, M., Robbins, E.M., Zhang-Nunes, S.X., Purcell, S.M., Betensky, R.A., Raju, S., Prada, C., Greenberg, S.M., Bacskai, B.J., Frosch, M.P. 2006. Characterization of amyloid deposition in the APP^{swE9}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer disease. *Neurobiol Dis*;24:516-524.
- Ge, S., Goh, E.L., Sailor, K.A., Kitabatake, Y., Ming, G.L., Song, H. 2006. GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature*;439:589-593.
- Geisler, M.W., Morgan, C.D., Covington, J.W., Murphy, C. 1999. Neuropsychological performance and cognitive olfactory event-related brain potentials in young and elderly adults. *J Clin Exp Neuropsychol*;21:108-126.
- Gelbmann, C.M., Muller, W.E. 1990. Specific decrease of high-affinity agonist states of alpha 2-adrenoceptors in the aging mouse brain. *J Neural Transm Gen Sect*;79:131-136.
- German, D.C., Nelson, O., Liang, F., Liang, C.L., Games, D. 2005. The PDAPP mouse model of Alzheimer's disease: locus coeruleus neuronal shrinkage. *J Comp Neurol*;492:469-476.
- German, D.C., Manaye, K.F., White, C.L., 3rd, Woodward, D.J., McIntire, D.D., Smith, W.K., Kalaria, R.N., Mann, D.M. 1992. Disease-specific patterns of locus coeruleus cell loss. *Ann Neurol*;32:667-676.
- Gervais, R., Buonviso, N., Martin, C., Ravel, N. 2007. What do electrophysiological studies tell us about processing at the olfactory bulb level? *J Physiol Paris*;101:40-45.
- Geula, C., Wu, C.K., Saroff, D., Lorenzo, A., Yuan, M., Yankner, B.A. 1998. Aging renders the brain vulnerable to amyloid beta-protein neurotoxicity. *Nat Med*;4:827-831.

- Gheusi, G., Cremer, H., McLean, H., Chazal, G., Vincent, J.D., Lledo, P.M. 2000. Importance of newly generated neurons in the adult olfactory bulb for odor discrimination. *Proc Natl Acad Sci U S A*;97:1823-1828.
- Giachino, C., Galbiati, M., Fasolo, A., Peretto, P., Melcangi, R.C. 2004. Effects of progesterone derivatives, dihydroprogesterone and tetrahydroprogesterone, on the subependymal layer of the adult rat. *J Neurobiol*;58:493-502.
- Giannakopoulos, P., Herrmann, F.R., Bussiere, T., Bouras, C., Kovari, E., Perl, D.P., Morrison, J.H., Gold, G., Hof, P.R. 2003. Tangle and neuron numbers, but not amyloid load, predict cognitive status in Alzheimer's disease. *Neurology*;60:1495-1500.
- Gibson, G.E., Peterson, C., Jenden, D.J. 1981. Brain acetylcholine synthesis declines with senescence. *Science*;213:674-676.
- Gil-Bea, F.J., Aisa, B., Schliebs, R., Ramirez, M.J. 2007. Increase of locomotor activity underlying the behavioral disinhibition in tg2576 mice. *Behav Neurosci*;121:340-344.
- Gilbert, C.D., Sigman, M., Crist, R.E. 2001. The neural basis of perceptual learning. *Neuron*;31:681-697.
- Gilbert, P.E., Barr, P.J., Murphy, C. 2004. Differences in olfactory and visual memory in patients with pathologically confirmed Alzheimer's disease and the Lewy body variant of Alzheimer's disease. *J Int Neuropsychol Soc*;10:835-842.
- Gitter, B.D., Cox, L.M., Rydel, R.E., May, P.C. 1995. Amyloid beta peptide potentiates cytokine secretion by interleukin-1 beta-activated human astrocytoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*;92:10738-10741.
- Glabe, C.C. 2005. Amyloid accumulation and pathogenesis of Alzheimer's disease: significance of monomeric, oligomeric and fibrillar Abeta. *Subcell Biochem*;38:167-177.
- Gladysheva, O.S., Troitskaia, V.T. 1989. [Age-related changes in the olfactory sensitivity of laboratory mice]. *Neirofiziologia*;21:723-729.
- Glenner, G.G., Wong, C.W. 1984. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*;120:885-890.
- Glenner, G.G., Wong, C.W., Quaranta, V., Eanes, E.D. 1984. The amyloid deposits in Alzheimer's disease: their nature and pathogenesis. *Appl Pathol*;2:357-369.
- Goldman, S.A., Nottebohm, F. 1983. Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*;80:2390-2394.
- Gortz, N., Lewejohann, L., Tomm, M., Ambree, O., Keyvani, K., Paulus, W., Sachser, N. 2008. Effects of environmental enrichment on exploration, anxiety, and memory in female TgCRND8 Alzheimer mice. *Behav Brain Res*;191:43-48.
- Gosche, K.M., Mortimer, J.A., Smith, C.D., Markesbery, W.R., Snowdon, D.A. 2002. Hippocampal volume as an index of Alzheimer neuropathology: findings from the Nun Study. *Neurology*;58:1476-1482.
- Gotz, J., Chen, F., van Dorpe, J., Nitsch, R.M. 2001. Formation of neurofibrillary tangles in P3011 tau transgenic mice induced by Abeta 42 fibrils. *Science*;293:1491-1495.
- Gould, E. 2007. How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nat Rev Neurosci*;8:481-488.
- Gould, E., McEwen, B.S., Tanapat, P., Galea, L.A., Fuchs, E. 1997. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci*;17:2492-2498.
- Gouras, G.K., Tsai, J., Naslund, J., Vincent, B., Edgar, M., Checler, F., Greenfield, J.P., Haroutunian, V., Buxbaum, J.D., Xu, H., Greengard, P., Relkin, N.R. 2000. Intraneuronal Abeta42 accumulation in human brain. *Am J Pathol*;156:15-20.
- Graves, A.B., Bowen, J.D., Rajaram, L., McCormick, W.C., McCurry, S.M., Schellenberg, G.D., Larson, E.B. 1999. Impaired olfaction as a marker for cognitive decline: interaction with apolipoprotein E epsilon4 status. *Neurology*;53:1480-1487.

- Greenberg, L.H., Weiss, B. 1979. Ability of aged rats to alter beta adrenergic receptors of brain in response to repeated administration of reserpine and desmethylinipramine. *J Pharmacol Exp Ther*;211:309-316.
- Gritti, A., Bonfanti, L., Doetsch, F., Caille, I., Alvarez-Buylla, A., Lim, D.A., Galli, R., Verdugo, J.M., Herrera, D.G., Vescovi, A.L. 2002. Multipotent neural stem cells reside into the rostral extension and olfactory bulb of adult rodents. *J Neurosci*;22:437-445.
- Grudzien, A., Shaw, P., Weintraub, S., Bigio, E., Mash, D.C., Mesulam, M.M. 2007. Locus coeruleus neurofibrillary degeneration in aging, mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;28:327-335.
- Guerin, D., Peace, S.T., Didier, A., Linster, C., Cleland, T.A. 2008. Noradrenergic neuromodulation in the olfactory bulb modulates odor habituation and spontaneous discrimination. *Behav Neurosci*;122:816-826.
- Guérin, D., Sacquet, J., Mandairon, N., Jourdan, F., Didier, A. 2009. Early locus coeruleus degeneration and olfactory dysfunctions in Tg2576 mice. *Neurobiol Aging*;30:272-283.
- Gurwitz, D., Egozi, Y., Henis, Y.I., Kloog, Y., Sokolovsky, M. 1987. Agonist and antagonist binding to rat brain muscarinic receptors: influence of aging. *Neurobiol Aging*;8:115-122.
- Guthrie, K.M., Wilson, D.A., Leon, M. 1990. Early unilateral deprivation modifies olfactory bulb function. *J Neurosci*;10:3402-3412.
- Haapalinna, A., Sirvio, J., MacDonald, E., Virtanen, R., Heinonen, E. 2000. The effects of a specific alpha(2)-adrenoceptor antagonist, atipamezole, on cognitive performance and brain neurochemistry in aged Fisher 344 rats. *Eur J Pharmacol*;387:141-150.
- Haass, C., Selkoe, D.J. 2007. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol*;8:101-112.
- Haberly, L.B. 1973. Summed potentials evoked in opossum prepyriform cortex. *J Neurophysiol*;36:775-788.
- Halliday, G.M., McCann, H.L., Pamphlett, R., Brooks, W.S., Creasey, H., McCusker, E., Cotton, R.G., Broe, G.A., Harper, C.G. 1992. Brain stem serotonin-synthesizing neurons in Alzheimer's disease: a clinicopathological correlation. *Acta Neuropathol*;84:638-650.
- Hamilton, C.A., Howe, C.A., Reid, J.L. 1984. Changes in brain alpha-adrenoceptors with increasing age in rabbits. *Brain Res*;322:177-179.
- Hampel, H., Frank, R., Broich, K., Teipel, S.J., Katz, R.G., Hardy, J., Herholz, K., Bokde, A.L., Jessen, F., Hoessler, Y.C., Sanhai, W.R., Zetterberg, H., Woodcock, J., Blennow, K. 2010. Biomarkers for Alzheimer's disease: academic, industry and regulatory perspectives. *Nat Rev Drug Discov*;9:560-574.
- Hanna, A., Horne, P., Yager, D., Eckman, C., Eckman, E., Janus, C. 2009. Amyloid beta and impairment in multiple memory systems in older transgenic APP TgCRND8 mice. *Genes Brain Behav*;8:676-684.
- Hardy, A., Palouzier-Paulignan, B., Duchamp, A., Royet, J.P., Duchamp-Viret, P. 2005. 5-Hydroxytryptamine action in the rat olfactory bulb: in vitro electrophysiological patch-clamp recordings of juxtglomerular and mitral cells. *Neuroscience*;131:717-731.
- Hardy, J., Selkoe, D.J. 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*;297:353-356.
- Härtig, W., Klein, C., Brauer, K., Schüppel, K.F., Arendt, T., Brückner, G., Bigl, V. 2000. Abnormally phosphorylated protein tau in the cortex of aged individuals of various mammalian orders. *Acta neuropathologica*;100(3):305-312.
- Härtig, W. 2001. Hyperphosphorylated protein tau is restricted to neurons devoid of perineuronal nets in the cortex of aged bison. *Neurobiology of Aging*;22(1):25-33.
- Haughey, N.J., Liu, D., Nath, A., Borchard, A.C., Mattson, M.P. 2002a. Disruption of neurogenesis in the subventricular zone of adult mice, and in human cortical neuronal precursor cells in culture, by amyloid beta-peptide: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med*;1:125-135.

- Haughey, N.J., Nath, A., Chan, S.L., Borchard, A.C., Rao, M.S., Mattson, M.P. 2002b. Disruption of neurogenesis by amyloid beta-peptide, and perturbed neural progenitor cell homeostasis, in models of Alzheimer's disease. *J Neurochem*;83:1509-1524.
- Hawkes, C.H., Shephard, B.C. 1998. Olfactory evoked responses and identification tests in neurological disease. *Ann N Y Acad Sci*;855:608-615.
- Hayar, A., Heyward, P.M., Heinbockel, T., Shipley, M.T., Ennis, M. 2001. Direct excitation of mitral cells via activation of alpha1-noradrenergic receptors in rat olfactory bulb slices. *J Neurophysiol*;86:2173-2182.
- He, X.L., Zhou, W.Q., Bi, M.G., Du, G.H. 2010. Neuroprotective effects of icariin on memory impairment and neurochemical deficits in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice. *Brain Res*;1334:73-83.
- Heneka, M.T., Rodriguez, J.J., Verkhratsky, A. 2010a. Neuroglia in neurodegeneration. *Brain Res Rev*;63:189-211.
- Heneka, M.T., O'Banion, M.K., Terwel, D., Kummer, M.P. 2010b. Neuroinflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neural Transm*;117:919-947.
- Heneka, M.T., Gavriluyk, V., Landreth, G.E., O'Banion, M.K., Weinberg, G., Feinstein, D.L. 2003. Noradrenergic depletion increases inflammatory responses in brain: effects on IkappaB and HSP70 expression. *J Neurochem*;85:387-398.
- Heneka, M.T., Galea, E., Gavriluyk, V., Dumitrescu-Ozimek, L., Daeschner, J., O'Banion, M.K., Weinberg, G., Klockgether, T., Feinstein, D.L. 2002. Noradrenergic depletion potentiates beta -amyloid-induced cortical inflammation: implications for Alzheimer's disease. *J Neurosci*;22:2434-2442.
- Heneka, M.T., Nadrigny, F., Regen, T., Martinez-Hernandez, A., Dumitrescu-Ozimek, L., Terwel, D., Jandanhazi-Kurutz, D., Walter, J., Kirchoff, F., Hanisch, U.K., Kummer, M.P. 2010c. Locus ceruleus controls Alzheimer's disease pathology by modulating microglial functions through norepinephrine. *Proc Natl Acad Sci U S A*;107:6058-6063.
- Heneka, M.T., Ramanathan, M., Jacobs, A.H., Dumitrescu-Ozimek, L., Bilkei-Gorzo, A., Debeir, T., Sastre, M., Galldiks, N., Zimmer, A., Hoehn, M., Heiss, W.D., Klockgether, T., Staufenbiel, M. 2006. Locus ceruleus degeneration promotes Alzheimer pathogenesis in amyloid precursor protein 23 transgenic mice. *J Neurosci*;26:1343-1354.
- Hickman, S.E., Allison, E.K., El Khoury, J. 2008. Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging Alzheimer's disease mice. *J Neurosci*;28:8354-8360.
- Hinds, J.W., McNelly, N.A. 1977. Aging of the rat olfactory bulb: growth and atrophy of constituent layers and changes in size and number of mitral cells. *J Comp Neurol*;72:345-367.
- Hinds, J.W., McNelly, N.A. 1981. Aging in the rat olfactory system: correlation of changes in the olfactory epithelium and olfactory bulb. *J Comp Neurol*;203:441-453.
- Holcomb, L., Gordon, M.N., McGowan, E., Yu, X., Benkovic, S., Jantzen, P., Wright, K., Saad, I., Mueller, R., Morgan, D., Sanders, S., Zehr, C., O'Campo, K., Hardy, J., Prada, C.M., Eckman, C., Younkin, S., Hsiao, K., Duff, K. 1998. Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. *Nat Med*;4:97-100.
- Holcomb, L.A., Gordon, M.N., Jantzen, P., Hsiao, K., Duff, K., Morgan, D. 1999. Behavioral changes in transgenic mice expressing both amyloid precursor protein and presenilin-1 mutations: lack of association with amyloid deposits. *Behav Genet*;29:177-185.
- Hong, X.P., Peng, C.X., Wei, W., Tian, Q., Liu, Y.H., Yao, X.Q., Zhang, Y., Cao, F.Y., Wang, Q., Wang, J.Z. 2009. Essential role of tau phosphorylation in adult hippocampal neurogenesis. *Hippocampus*.
- Hoogendijk, W.J., Pool, C.W., Troost, D., van Zwieten, E., Swaab, D.F. 1995. Image analyser-assisted morphometry of the locus coeruleus in Alzheimer's disease, Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*;118 (Pt 1):131-143.

- Hoogendijk, W.J., Feenstra, M.G., Botterblom, M.H., Gilhuis, J., Sommer, I.E., Kamphorst, W., Eikelenboom, P., Swaab, D.F. 1999. Increased activity of surviving locus ceruleus neurons in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*;45:82-91.
- Horesh, D., Sapir, T., Francis, F., Wolf, S.G., Caspi, M., Elbaum, M., Chelly, J., Reiner, O. 1999. Doublecortin, a stabilizer of microtubules. *Hum Mol Genet*;8:1599-1610.
- Howlett, D.R., Richardson, J.C., Austin, A., Parsons, A.A., Bate, S.T., Davies, D.C., Gonzalez, M.I. 2004. Cognitive correlates of Abeta deposition in male and female mice bearing amyloid precursor protein and presenilin-1 mutant transgenes. *Brain Res*;1017:130-136.
- Hsiao, K., Chapman, P., Nilsen, S., Eckman, C., Harigaya, Y., Younkin, S., Yang, F., Cole, G. 1996. Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science*;274:99-102.
- Hsieh, H., Boehm, J., Sato, C., Iwatsubo, T., Tomita, T., Sisodia, S., Malinow, R. 2006. AMPAR removal underlies Abeta-induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron*;52:831-843.
- Hu, H., Tomasiwicz, H., Magnuson, T., Rutishauser, U. 1996. The role of polysialic acid in migration of olfactory bulb interneuron precursors in the subventricular zone. *Neuron*;16:735-743.
- Hu, L., Wong, T.P., Cote, S.L., Bell, K.F., Cuello, A.C. 2003. The impact of Abeta-plaques on cortical cholinergic and non-cholinergic presynaptic boutons in alzheimer's disease-like transgenic mice. *Neuroscience*;121:421-432.
- Huitron-Resendiz, S., Sanchez-Alavez, M., Gallegos, R., Berg, G., Crawford, E., Giacchino, J.L., Games, D., Henriksen, S.J., Criado, J.R. 2002. Age-independent and age-related deficits in visuospatial learning, sleep-wake states, thermoregulation and motor activity in PDAPP mice. *Brain Res*;928:126-137.
- Hummel, T., Kobal, G. 1992. Differences in human evoked potentials related to olfactory or trigeminal chemosensory activation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*;84:84-89.
- Hummel, T., Nordin, S. 2005. Olfactory disorders and their consequences for quality of life. *Acta Otolaryngol*;125:116-121.
- Hummel, T., Welge-Luessen, A. 2006. Assessment of olfactory function. *Adv Otorhinolaryngol*;63:84-98.
- Hummel, T., Kobal, G., Gudziol, H., Mackay-Sim, A. 2007. Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol*;264:237-243.
- Hyman, B.T., Arriagada, P.V., Van Hoesen, G.W. 1991. Pathologic changes in the olfactory system in aging and Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*;640:14-19.
- Ikonomovic, M.D., Abrahamson, E.E., Isanski, B.A., Wu, J., Mufson, E.J., DeKosky, S.T. 2007. Superior frontal cortex cholinergic axon density in mild cognitive impairment and early Alzheimer disease. *Arch Neurol*;64:1312-1317.
- Illig, K.R., Haberly, L.B. 2003. Odor-evoked activity is spatially distributed in piriform cortex. *J Comp Neurol*;457:361-373.
- Imai, T., Sakano, H. 2008. Odorant receptor-mediated signaling in the mouse. *Curr Opin Neurobiol*;18:251-260.
- Imayoshi, I., Sakamoto, M., Ohtsuka, T., Takao, K., Miyakawa, T., Yamaguchi, M., Mori, K., Ikeda, T., Itohara, S., Kageyama, R. 2008. Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neurosci*;11:1153-1161.
- Ishida, Y., Shirokawa, T., Komatsu, Y., Isobe, K. 2001a. Changes in cortical noradrenergic axon terminals of locus coeruleus neurons in aged F344 rats. *Neurosci Lett*;307:197-199.
- Ishida, Y., Shirokawa, T., Miyaishi, O., Komatsu, Y., Isobe, K. 2000. Age-dependent changes in projections from locus coeruleus to hippocampus dentate gyrus and frontal cortex. *Eur J Neurosci*;12:1263-1270.

- Ishida, Y., Shirokawa, T., Miyaishi, O., Komatsu, Y., Isobe, K. 2001b. Age-dependent changes in noradrenergic innervations of the frontal cortex in F344 rats. *Neurobiol Aging*;22:283-286.
- Iversen, L.L., Rossor, M.N., Reynolds, G.P., Hills, R., Roth, M., Mountjoy, C.Q., Foote, S.L., Morrison, J.H., Bloom, F.E. 1983. Loss of pigmented dopamine-beta-hydroxylase positive cells from locus coeruleus in senile dementia of Alzheimer's type. *Neurosci Lett*;39:95-100.
- Jacobsen, J.S., Wu, C.C., Redwine, J.M., Comery, T.A., Arias, R., Bowlby, M., Martone, R., Morrison, J.H., Pangalos, M.N., Reinhart, P.H., Bloom, F.E. 2006. Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*;103:5161-5166.
- Jahr, C.E., Nicoll, R.A. 1982. Noradrenergic modulation of dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb. *Nature*;297:227-229.
- Jaim-Etcheverry, G., Zieher, L.M. 1980. DSP-4: a novel compound with neurotoxic effects on noradrenergic neurons of adult and developing rats. *Brain Res*;188:513-523.
- Janus, C., Chishti, M.A., Westaway, D. 2000. Transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*;1502:63-75.
- Jardanhazi-Kurutz, D., Kummer, M.P., Terwel, D., Vogel, K., Dyrks, T., Thiele, A., Heneka, M.T. 2010. Induced LC degeneration in APP/PS1 transgenic mice accelerates early cerebral amyloidosis and cognitive deficits. *Neurochem Int*.
- Jarrett, J.T., Berger, E.P., Lansbury, P.T. 1993. The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry*;32:4693-4697.
- Jellinger, K.A., Attems, J. 2005. Alzheimer pathology in the olfactory bulb. *Neuropathol Appl Neurobiol*;31:203.
- Jin, K., Peel, A.L., Mao, X.O., Xie, L., Cottrell, B.A., Henshall, D.C., Greenberg, D.A. 2004. Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*;101:343-347.
- Jin, K., Sun, Y., Xie, L., Bateur, S., Mao, X.O., Smelick, C., Logvinova, A., Greenberg, D.A. 2003. Neurogenesis and aging: FGF-2 and HB-EGF restore neurogenesis in hippocampus and subventricular zone of aged mice. *Aging Cell*;2:175-183.
- Jones-Gotman, M., Zatorre, R.J. 1988. Olfactory identification deficits in patients with focal cerebral excision. *Neuropsychologia*;26:387-400.
- Josephs, K.A., Whitwell, J.L., Ahmed, Z., Shiung, M.M., Weigand, S.D., Knopman, D.S., Boeve, B.F., Parisi, J.E., Petersen, R.C., Dickson, D.W., Jack, C.R. 2008. Beta-amyloid burden is not associated with rates of brain atrophy. *Ann Neurol*;63:204-212.
- Joussain, P. 2009. Etude de la perception hédonique des odeurs durant le vieillissement normal et pathologique de type Alzheimer. Mémoire de Master 2 Neurosciences. Université Claude Bernard Lyon 1.
- Kalaria, R.N., Andorn, A.C. 1991. Adrenergic receptors in aging and Alzheimer's disease: decreased alpha 2-receptors demonstrated by [³H]p-aminoclonidine binding in prefrontal cortex. *Neurobiol Aging*;12:131-136.
- Kalinin, S., Gavriilyuk, V., Polak, P.E., Vasser, R., Zhao, J., Heneka, M.T., Feinstein, D.L. 2007. Noradrenaline deficiency in brain increases beta-amyloid plaque burden in an animal model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;28:1206-1214.
- Kam, M., Curtis, M.A., McGlashan, S.R., Connor, B., Nannmark, U., Faull, R.L. 2009. The cellular composition and morphological organization of the rostral migratory stream in the adult human brain. *J Chem Neuroanat*;37:196-205.
- Kamenetz, F., Tomita, T., Hsieh, H., Seabrook, G., Borchelt, D., Iwatsubo, T., Sisodia, S., Malinow, R. 2003. APP processing and synaptic function. *Neuron*;37:925-937.

- Kaneda, H., Maeshima, K., Goto, N., Kobayakawa, T., Ayabe-Kanamura, S., Saito, S. 2000. Decline in taste and odor discrimination abilities with age, and relationship between gustation and olfaction. *Chem Senses*;25:331-337.
- Kaneko, N., Okano, H., Sawamoto, K. 2006. Role of the cholinergic system in regulating survival of newborn neurons in the adult mouse dentate gyrus and olfactory bulb. *Genes Cells*;11:1145-1159.
- Kaplan, M.S. 1983. Proliferation of subependymal cells in the adult primate CNS: differential uptake of DNA labelled precursors. *J Hirnforsch*;24:23-33.
- Kaplan, M.S., Hinds, J.W. 1977. Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science*;197:1092-1094.
- Kaplan, M.S., Bell, D.H. 1984. Mitotic neuroblasts in the 9-day-old and 11-month-old rodent hippocampus. *J Neurosci*;4:1429-1441.
- Kareken, D.A., Mosnik, D.M., Doty, R.L., Dzemidzic, M., Hutchins, G.D. 2003. Functional anatomy of human odor sensation, discrimination, and identification in health and aging. *Neuropsychology*;17:482-495.
- Kareken, D.A., Doty, R.L., Moberg, P.J., Mosnik, D., Chen, S.H., Farlow, M.R., Hutchins, G.D. 2001. Olfactory-evoked regional cerebral blood flow in Alzheimer's disease. *Neuropsychology*;15:18-29.
- Katada, S., Hirokawa, T., Oka, Y., Suwa, M., Touhara, K. 2005. Structural basis for a broad but selective ligand spectrum of a mouse olfactory receptor: mapping the odorant-binding site. *J Neurosci*;25:1806-1815.
- Kay, L.M., Laurent, G. 1999. Odor- and context-dependent modulation of mitral cell activity in behaving rats. *Nat Neurosci*;2:1003-1009.
- Kelly, P.H., Bondolfi, L., Hunziker, D., Schlecht, H.P., Carver, K., Maguire, E., Abramowski, D., Wiederhold, K.H., Sturchler-Pierrat, C., Jucker, M., Bergmann, R., Staufenbiel, M., Sommer, B. 2003. Progressive age-related impairment of cognitive behavior in APP23 transgenic mice. *Neurobiol Aging*;24:365-378.
- Kelsch, W., Lin, C.W., Mosley, C.P., Lois, C. 2009. A critical period for activity-dependent synaptic development during olfactory bulb adult neurogenesis. *J Neurosci*;29:11852-11858.
- Kemp, A.H., Pierson, J.M., Helme, R.D. 2001. Quantitative electroencephalographic changes induced by odor detection and identification tasks: age related effects. *Arch Gerontol Geriatr*;33:95-107.
- Kempermann, G. 2009 Adult neurogenesis (Poster). In: Abcam.
- Kendrick, K.M., Levy, F., Keverne, E.B. 1992. Changes in the sensory processing of olfactory signals induced by birth in sheep. *Science*;256:833-836.
- Kermen, F., Sultan, S., Sacquet, J., Mandairon, N., Didier, A. 2010. Consolidation of an olfactory memory trace in the olfactory bulb is required for learning-induced survival of adult-born neurons and long-term memory. *PLoS One*;5:e12118.
- Kern, R.C., Conley, D.B., Haines, G.K., Robinson, A.M. 2004. Pathology of the olfactory mucosa: implications for the treatment of olfactory dysfunction. *Laryngoscope*;114:279-285.
- Keverne, E.B. 1999. The vomeronasal organ. *Science*;286:716-720.
- Keverne, E.B. 2004. Importance of olfactory and vomeronasal systems for male sexual function. *Physiol Behav*;83:177-187.
- Khlistunova, I., Biernat, J., Wang, Y., Pickhardt, M., von Bergen, M., Gazova, Z., Mandelkow, E., Mandelkow, E.M. 2006. Inducible expression of Tau repeat domain in cell models of tauopathy: aggregation is toxic to cells but can be reversed by inhibitor drugs. *J Biol Chem*;281:1205-1214.
- Kim, H.J., Chae, S.C., Lee, D.K., Chromy, B., Lee, S.C., Park, Y.C., Klein, W.L., Krafft, G.A., Hong, S.T. 2003. Selective neuronal degeneration induced by soluble oligomeric amyloid beta protein. *Faseb J*;17:118-120.

- King, D.L., Arendash, G.W. 2002. Behavioral characterization of the Tg2576 transgenic model of Alzheimer's disease through 19 months. *Physiol Behav*;75:627-642.
- King, D.L., Arendash, G.W., Crawford, F., Sterk, T., Menendez, J., Mullan, M.J. 1999. Progressive and gender-dependent cognitive impairment in the APP(SW) transgenic mouse model for Alzheimer's disease. *Behav Brain Res*;103:145-162.
- Kippin, T.E., Kapur, S., van der Kooy, D. 2005. Dopamine specifically inhibits forebrain neural stem cell proliferation, suggesting a novel effect of antipsychotic drugs. *J Neurosci*;25:5815-5823.
- Kirkitadze, M.D., Bitan, G., Teplow, D.B. 2002. Paradigm shifts in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders: the emerging role of oligomeric assemblies. *J Neurosci Res*;69:567-577.
- Klein, W.L., Krafft, G.A., Finch, C.E. 2001. Targeting small Abeta oligomers: the solution to an Alzheimer's disease conundrum? *Trends Neurosci*;24:219-224.
- Klenoff, J.R., Greer, C.A. 1998. Postnatal development of olfactory receptor cell axonal arbors. *J Comp Neurol*;390:256-267.
- Klingner, M., Apelt, J., Kumar, A., Sorger, D., Sabri, O., Steinbach, J., Scheunemann, M., Schliebs, R. 2003. Alterations in cholinergic and non-cholinergic neurotransmitter receptor densities in transgenic Tg2576 mouse brain with beta-amyloid plaque pathology. *Int J Dev Neurosci*;21:357-369.
- Klyubin, I., Betts, V., Welzel, A.T., Blennow, K., Zetterberg, H., Wallin, A., Lemere, C.A., Cullen, W.K., Peng, Y., Wisniewski, T., Selkoe, D.J., Anwyl, R., Walsh, D.M., Rowan, M.J. 2008. Amyloid beta protein dimer-containing human CSF disrupts synaptic plasticity: prevention by systemic passive immunization. *J Neurosci*;28:4231-4237.
- Knobloch, M., Konietzko, U., Krebs, D.C., Nitsch, R.M. 2007. Intracellular Abeta and cognitive deficits precede beta-amyloid deposition in transgenic arcAbeta mice. *Neurobiol Aging*;28:1297-1306.
- Konstantinidis, I., Hummel, T., Larsson, M. 2006. Identification of unpleasant odors is independent of age. *Arch Clin Neuropsychol*;21:615-621.
- Kornack, D.R., Rakic, P. 1999. Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the adult macaque monkey. *Proc Natl Acad Sci U S A*;96:5768-5773.
- Kornack, D.R., Rakic, P. 2001. The generation, migration, and differentiation of olfactory neurons in the adult primate brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*;98:4752-4757.
- Koss, E., Weiffenbach, J.M., Haxby, J.V., Friedland, R.P. 1988. Olfactory detection and identification performance are dissociated in early Alzheimer's disease. *Neurology*;38:1228-1232.
- Kotani, S., Yamauchi, T., Teramoto, T., Ogura, H. 2008. Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, enhances adult hippocampal neurogenesis. *Chem Biol Interact*;175:227-230.
- Kotilinek, L.A., Bacskai, B., Westerman, M., Kowarabayashi, T., Younkin, L., Hyman, B.T., Younkin, S., Ashe, K.H. 2002. Reversible memory loss in a mouse transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*;22:6331-6335.
- Kovacs, I., Torok, I., Zombori, J., Kasa, P. 1998. Cholinergic structures and neuropathologic alterations in the olfactory bulb of Alzheimer's disease brain samples. *Brain Res*;789:167-170.
- Kovacs, T. 2004. Mechanisms of olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative disorders. *Ageing Res Rev*;3:215-232.
- Kovacs, T., Cairns, N.J., Lantos, P.L. 1999. beta-amyloid deposition and neurofibrillary tangle formation in the olfactory bulb in ageing and Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*;25:481-491.
- Kovacs, T., Cairns, N.J., Lantos, P.L. 2001. Olfactory centres in Alzheimer's disease: olfactory bulb is involved in early Braak's stages. *Neuroreport*;12:285-288.
- Koylu, E.O., Smith, Y., Couceyro, P.R., Kuhar, M.J. 1999. CART peptides colocalize with tyrosine hydroxylase neurons in rat locus coeruleus. *Synapse*;31:309-311.

- Kraemer, S., Apfelbach, R. 2004. Olfactory sensitivity, learning and cognition in young adult and aged male Wistar rats. *Physiol Behav*;81:435-442.
- Kuhn, H.G., Winkler, J., Kempermann, G., Thal, L.J., Gage, F.H. 1997. Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult rat brain. *J Neurosci*;17:5820-5829.
- Kulkarni, V.A., Jha, S., Vaidya, V.A. 2002. Depletion of norepinephrine decreases the proliferation, but does not influence the survival and differentiation, of granule cell progenitors in the adult rat hippocampus. *Eur J Neurosci*;16:2008-2012.
- Kwon, B.S., Kim, M.K., Kim, W.H., Pyo, J.S., Cheon, Y.H., Cha, C.I., Nam, S.Y., Baik, T.K., Lee, B.L. 2005. Age-related changes in microvillar cells of rat olfactory epithelium. *Neurosci Lett*;378:65-69.
- LaFerla, F.M., Green, K.N., Oddo, S. 2007. Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*;8:499-509.
- Lagier, S., Carleton, A., Lledo, P.M. 2004. Interplay between local GABAergic interneurons and relay neurons generates gamma oscillations in the rat olfactory bulb. *J Neurosci*;24:4382-4392.
- Lagier, S., Panzanelli, P., Russo, R.E., Nissant, A., Bathellier, B., Sassoe-Pognetto, M., Fritschy, J.M., Lledo, P.M. 2007. GABAergic inhibition at dendrodendritic synapses tunes gamma oscillations in the olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A*;104:7259-7264.
- Lalonde, R., Dumont, M., Staufenbiel, M., Sturchler-Pierrat, C., Strazielle, C. 2002. Spatial learning, exploration, anxiety, and motor coordination in female APP23 transgenic mice with the Swedish mutation. *Brain Res*;956:36-44.
- Lalonde, R., Lewis, T.L., Strazielle, C., Kim, H., Fukuchi, K. 2003. Transgenic mice expressing the betaAPP695SWE mutation: effects on exploratory activity, anxiety, and motor coordination. *Brain Res*;977:38-45.
- Lambert, M.P., Barlow, A.K., Chromy, B.A., Edwards, C., Freed, R., Liosatos, M., Morgan, T.E., Rozovsky, I., Trommer, B., Viola, K.L., Wals, P., Zhang, C., Finch, C.E., Krafft, G.A., Klein, W.L. 1998. Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc Natl Acad Sci U S A*;95:6448-6453.
- Lanctot, K.L., Herrmann, N., Mazzotta, P. 2001. Role of serotonin in the behavioral and psychological symptoms of dementia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*;13:5-21.
- Landis, B.N., Konnerth, C.G., Hummel, T. 2004. A study on the frequency of olfactory dysfunction. *Laryngoscope*;114:1764-1769.
- Langdon, P.E., Harley, C.W., McLean, J.H. 1997. Increased beta adrenoceptor activation overcomes conditioned olfactory learning deficits induced by serotonin depletion. *Brain Res Dev Brain Res*;102:291-293.
- Larsson, M., Backman, L. 1998. Modality memory across the adult life span: evidence for selective age-related olfactory deficits. *Exp Aging Res*;24:63-82.
- Larsson, M., Nilsson, L.G., Olofsson, J.K., Nordin, S. 2004. Demographic and cognitive predictors of cued odor identification: evidence from a population-based study. *Chem Senses*;29:547-554.
- Larsson, M., Semb, H., Winblad, B., Amberla, K., Wahlund, L.O., Backman, L. 1999. Odor identification in normal aging and early Alzheimer's disease: effects of retrieval support. *Neuropsychology*;13:47-53.
- LaSarge, C.L., Montgomery, K.S., Tucker, C., Slaton, G.S., Griffith, W.H., Setlow, B., Bizon, J.L. 2007. Deficits across multiple cognitive domains in a subset of aged Fischer 344 rats. *Neurobiol Aging*;28:928-936.
- Lau, W.M., Qiu, G., Helmeste, D.M., Lee, T.M., Tang, S.W., So, K.F., Tang, S.W. 2007. Corticosteroid decreases subventricular zone cell proliferation, which could be reversed by paroxetine. *Restor Neurol Neurosci*;25:17-23.

- Lawlor, B.A., Sunderland, T., Hill, J.L., Mellow, A.M., Molchan, S.E., Mueller, E.A., Jacobsen, F.M., Murphy, D.L. 1989. Evidence for a decline with age in behavioral responsivity to the serotonin agonist, m-chlorophenylpiperazine, in healthy human subjects. *Psychiatry Res*;29:1-10.
- Lazarini, F., Mouthon, M.A., Gheusi, G., de Chaumont, F., Olivo-Marin, J.C., Lamarque, S., Abrous, D.N., Boussin, F.D., Lledo, P.M. 2009. Cellular and behavioral effects of cranial irradiation of the subventricular zone in adult mice. *PLoS One*;4:e7017.
- Lazarov, O., Marr, R.A. 2010. Neurogenesis and Alzheimer's disease: at the crossroads. *Exp Neurol*;223:267-281.
- Le Jeune, H., Aubert, I., Jourdan, F., Quirion, R. 1995. Comparative laminar distribution of various autoradiographic cholinergic markers in adult rat main olfactory bulb. *J Chem Neuroanat*;9:99-112.
- Lee, A.C., Tian, H., Grosmaître, X., Ma, M. 2009. Expression patterns of odorant receptors and response properties of olfactory sensory neurons in aged mice. *Chem Senses*;34:695-703.
- Lee, J.J., Chang, C.K., Liu, I.M., Chi, T.C., Yu, H.J., Cheng, J.T. 2001. Changes in endogenous monoamines in aged rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*;28:285-289.
- Lehrner, J.P., Brucke, T., Dal-Bianco, P., Gatterer, G., Kryspin-Exner, I. 1997. Olfactory functions in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *Chem Senses*;22:105-110.
- Leighty, R.E., Nilsson, L.N., Potter, H., Costa, D.A., Low, M.A., Bales, K.R., Paul, S.M., Arendash, G.W. 2004. Use of multimetric statistical analysis to characterize and discriminate between the performance of four Alzheimer's transgenic mouse lines differing in A β deposition. *Behav Brain Res*;153:107-121.
- Lenington, J.B., Yang, Z., Conover, J.C. 2003. Neural stem cells and the regulation of adult neurogenesis. *Reprod Biol Endocrinol*;1:99.
- Leon, M. 1998. Compensatory responses to early olfactory restriction. *Ann N Y Acad Sci*;855:104-108.
- Lesne, S., Koh, M.T., Kotilinek, L., Kaye, R., Glabe, C.G., Yang, A., Gallagher, M., Ashe, K.H. 2006. A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. *Nature*;440:352-357.
- Levy, F., Keller, M. 2009. Olfactory mediation of maternal behavior in selected mammalian species. *Behav Brain Res*;200:336-345.
- Levy, F., Guevara-Guzman, R., Hinton, M.R., Kendrick, K.M., Keverne, E.B. 1993. Effects of parturition and maternal experience on noradrenaline and acetylcholine release in the olfactory bulb of sheep. *Behav Neurosci*;107:662-668.
- Lewis, J., Dickson, D.W., Lin, W.L., Chisholm, L., Corral, A., Jones, G., Yen, S.H., Sahara, N., Skipper, L., Yager, D., Eckman, C., Hardy, J., Hutton, M., McGowan, E. 2001. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*;293:1487-1491.
- Lezoualc'h, F., Robert, S.J. 2003. The serotonin 5-HT₄ receptor and the amyloid precursor protein processing. *Exp Gerontol*;38:159-166.
- Li, B., Yamamori, H., Tatebayashi, Y., Shafit-Zagardo, B., Tanimukai, H., Chen, S., Iqbal, K., Grundke-Iqbal, I. 2008. Failure of neuronal maturation in Alzheimer disease dentate gyrus. *J Neuropathol Exp Neurol*;67:78-84.
- Li, J., Zhu, M., Manning-Bog, A.B., Di Monte, D.A., Fink, A.L. 2004. Dopamine and L-dopa disaggregate amyloid fibrils: implications for Parkinson's and Alzheimer's disease. *Faseb J*;18:962-964.
- Lim, D.A., Tramontin, A.D., Trevejo, J.M., Herrera, D.G., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A. 2000. Noggin antagonizes BMP signaling to create a niche for adult neurogenesis. *Neuron*;28:713-726.
- Lin, H., Bhatia, R., Lal, R. 2001. Amyloid beta protein forms ion channels: implications for Alzheimer's disease pathophysiology. *Faseb J*;15:2433-2444.

- Linster, C., Hasselmo, M. 1997. Modulation of inhibition in a model of olfactory bulb reduces overlap in the neural representation of olfactory stimuli. *Behav Brain Res*;84:117-127.
- Litaudon, P., Datiche, F., Cattarelli, M. 1997. Optical recording of the rat piriform cortex activity. *Prog Neurobiol*;52:485-510.
- Liu, X., Wang, Q., Haydar, T.F., Bordey, A. 2005. Nonsynaptic GABA signaling in postnatal subventricular zone controls proliferation of GFAP-expressing progenitors. *Nat Neurosci*;8:1179-1187.
- Lledo, P.M., Alonso, M., Grubb, M.S. 2006. Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nat Rev Neurosci*;7:179-193.
- Lois, C., Alvarez-Buylla, A. 1994. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science*;264:1145-1148.
- Lois, C., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A. 1996. Chain migration of neuronal precursors. *Science*;271:978-981.
- Loo, A.T., Youngentob, S.L., Kent, P.F., Schwob, J.E. 1996. The aging olfactory epithelium: neurogenesis, response to damage, and odorant-induced activity. *Int J Dev Neurosci*;14:881-900.
- Lopez-Toledano, M.A., Shelanski, M.L. 2007. Increased neurogenesis in young transgenic mice overexpressing human APP(Sw, Ind). *J Alzheimers Dis*;12:229-240.
- Lovasic, L., Bauschke, H., Janus, C. 2005. Working memory impairment in a transgenic amyloid precursor protein TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease. *Genes Brain Behav*;4:197-208.
- Lue, L.F., Kuo, Y.M., Roher, A.E., Brachova, L., Shen, Y., Sue, L., Beach, T., Kurth, J.H., Rydel, R.E., Rogers, J. 1999. Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am J Pathol*;155:853-862.
- Luo, J., Daniels, S.B., Lenington, J.B., Notti, R.Q., Conover, J.C. 2006. The aging neurogenic subventricular zone. *Aging Cell*;5:139-152.
- Luterman, J.D., Haroutunian, V., Yemul, S., Ho, L., Purohit, D., Aisen, P.S., Mohs, R., Pasinetti, G.M. 2000. Cytokine gene expression as a function of the clinical progression of Alzheimer disease dementia. *Arch Neurol*;57:1153-1160.
- Luth, H.J., Apelt, J., Ihunwo, A.O., Arendt, T., Schliebs, R. 2003. Degeneration of beta-amyloid-associated cholinergic structures in transgenic APP SW mice. *Brain Res*;977:16-22.
- Luzzi, S., Snowden, J.S., Neary, D., Coccia, M., Provinciali, L., Lambon Ralph, M.A. 2007. Distinct patterns of olfactory impairment in Alzheimer's disease, semantic dementia, frontotemporal dementia, and corticobasal degeneration. *Neuropsychologia*;45:1823-1831.
- Lyness, S.A., Zarow, C., Chui, H.C. 2003. Neuron loss in key cholinergic and aminergic nuclei in Alzheimer disease: a meta-analysis. *Neurobiol Aging*;24:1-23.
- Machold, R., Hayashi, S., Rutlin, M., Muzumdar, M.D., Nery, S., Corbin, J.G., Gritli-Linde, A., Dellovade, T., Porter, J.A., Rubin, L.L., Dudek, H., McMahon, A.P., Fishell, G. 2003. Sonic hedgehog is required for progenitor cell maintenance in telencephalic stem cell niches. *Neuron*;39:937-950.
- Macrides, F., Davis, B.J., Youngs, W.M., Nadi, N.S., Margolis, F.L. 1981. Cholinergic and catecholaminergic afferents to the olfactory bulb in the hamster: a neuroanatomical, biochemical, and histochemical investigation. *J Comp Neurol*;203:495-514.
- Maggi, A., Schmidt, M.J., Ghetti, B., Enna, S.J. 1979. Effect of aging on neurotransmitter receptor binding in rat and human brain. *Life Sci*;24:367-373.
- Mamounas, L.A., Altar, C.A., Blue, M.E., Kaplan, D.R., Tessarollo, L., Lyons, W.E. 2000. BDNF promotes the regenerative sprouting, but not survival, of injured serotonergic axons in the adult rat brain. *J Neurosci*;20:771-782.
- Manaye, K.F., McIntire, D.D., Mann, D.M., German, D.C. 1995. Locus coeruleus cell loss in the aging human brain: a non-random process. *J Comp Neurol*;358:79-87.

- Mandairon, N., Stack, C., Linster, C. 2006a. Olfactory enrichment improves the recognition of individual components in mixtures. *Physiol Behav*;89:379-384.
- Mandairon, N., Didier, A., Linster, C. 2008a. Odor enrichment increases interneurons responsiveness in spatially defined regions of the olfactory bulb correlated with perception. *Neurobiol Learn Mem*;90:178-184.
- Mandairon, N., Sacquet, J., Jourdan, F., Didier, A. 2006b. Long-term fate and distribution of newborn cells in the adult mouse olfactory bulb: Influences of olfactory deprivation. *Neuroscience*;141:443-451.
- Mandairon, N., Stack, C., Kiselycznyk, C., Linster, C. 2006c. Broad activation of the olfactory bulb produces long-lasting changes in odor perception. *Proc Natl Acad Sci U S A*;103:13543-13548.
- Mandairon, N., Ferretti, C.J., Stack, C.M., Rubin, D.B., Cleland, T.A., Linster, C. 2006d. Cholinergic modulation in the olfactory bulb influences spontaneous olfactory discrimination in adult rats. *Eur J Neurosci*;24:3234-3244.
- Mandairon, N., Sacquet, J., Garcia, S., Ravel, N., Jourdan, F., Didier, A. 2006e. Neurogenic correlates of an olfactory discrimination task in the adult olfactory bulb. *Eur J Neurosci*;24:3578-3588.
- Mandairon, N., Peace, S., Karnow, A., Kim, J., Ennis, M., Linster, C. 2008b. Noradrenergic modulation in the olfactory bulb influences spontaneous and reward-motivated discrimination, but not the formation of habituation memory. *Eur J Neurosci*;27:1210-1219.
- Mandairon, N., Peace, S.T., Boudadi, K., Boxhorn, C.E., Narla, V.A., Suffis, S.D., Cleland, T.A. 2010. Compensatory responses to age-related decline in odor quality acuity: Cholinergic neuromodulation and olfactory enrichment. *Neurobiol Aging*.
- Mandairon, N., Sultan, S., Rey, N., Kermen, F., Moreno, M., Busto, G., Farget, V., Messaoudi, B., Thevenet, M., Didier, A. 2009. A computer-assisted odorized hole-board for testing olfactory perception in mice. *J Neurosci Methods*;180:296-303.
- Marchetti-Gauthier, E., Roman, F.S., Dumuis, A., Bockaert, J., Soumireu-Mourat, B. 1997. BIMU1 increases associative memory in rats by activating 5-HT4 receptors. *Neuropharmacology*;36:697-706.
- Marcyniuk, B., Mann, D.M., Yates, P.O. 1986. Loss of nerve cells from locus coeruleus in Alzheimer's disease is topographically arranged. *Neurosci Lett*;64:247-252.
- Marien, M.R., Colpaert, F.C., Rosenquist, A.C. 2004. Noradrenergic mechanisms in neurodegenerative diseases: a theory. *Brain Res Brain Res Rev*;45:38-78.
- Marino, M.D., Bourdelat-Parks, B.N., Cameron Liles, L., Weinshenker, D. 2005. Genetic reduction of noradrenergic function alters social memory and reduces aggression in mice. *Behav Brain Res*;161:197-203.
- Martin, C., Gervais, R., Messaoudi, B., Ravel, N. 2006. Learning-induced oscillatory activities correlated to odour recognition: a network activity. *Eur J Neurosci*;23:1801-1810.
- Martin, C., Gervais, R., Hugues, E., Messaoudi, B., Ravel, N. 2004. Learning modulation of odor-induced oscillatory responses in the rat olfactory bulb: a correlate of odor recognition? *J Neurosci*;24:389-397.
- Maslov, A.Y., Barone, T.A., Plunkett, R.J., Pruitt, S.C. 2004. Neural stem cell detection, characterization, and age-related changes in the subventricular zone of mice. *J Neurosci*;24:1726-1733.
- Matarredona, E.R., Murillo-Carretero, M., Moreno-Lopez, B., Estrada, C. 2004. Nitric oxide synthesis inhibition increases proliferation of neural precursors isolated from the postnatal mouse subventricular zone. *Brain Res*;995:274-284.
- Matthews, K.L., Chen, C.P., Esiri, M.M., Keene, J., Minger, S.L., Francis, P.T. 2002. Noradrenergic changes, aggressive behavior, and cognition in patients with dementia. *Biol Psychiatry*;51:407-416.

- Maurer, K., Volk, S., Gerbaldo, H. 1997. Auguste D and Alzheimer's disease. *Lancet*;349:1546-1549.
- McCune, S.K., Voigt, M.M., Hill, J.M. 1993. Expression of multiple alpha adrenergic receptor subtype messenger RNAs in the adult rat brain. *Neuroscience*;57:143-151.
- McLean, C.A., Cherny, R.A., Fraser, F.W., Fuller, S.J., Smith, M.J., Beyreuther, K., Bush, A.I., Masters, C.L. 1999. Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*;46:860-866.
- McLean, J.H., Shipley, M.T. 1987. Serotonergic afferents to the rat olfactory bulb: I. Origins and laminar specificity of serotonergic inputs in the adult rat. *J Neurosci*;7:3016-3028.
- McLean, J.H., Harley, C.W. 2004. Olfactory learning in the rat pup: a model that may permit visualization of a mammalian memory trace. *Neuroreport*;15:1691-1697.
- McLean, J.H., Shipley, M.T., Nickell, W.T., Aston-Jones, G., Reyher, C.K. 1989. Chemoanatomical organization of the noradrenergic input from locus coeruleus to the olfactory bulb of the adult rat. *J Comp Neurol*;285:339-349.
- McQuade, R., Creton, D., Stanford, S.C. 1999. Effect of novel environmental stimuli on rat behaviour and central noradrenaline function measured by in vivo microdialysis. *Psychopharmacology (Berl)*;145:393-400.
- Mechawar, N., Saghatelian, A., Grailhe, R., Scoriels, L., Gheusi, G., Gabellec, M.M., Lledo, P.M., Changeux, J.P. 2004. Nicotinic receptors regulate the survival of newborn neurons in the adult olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A*;101:9822-9826.
- Mehlhorn, G., Hollborn, M., Schliebs, R. 2000. Induction of cytokines in glial cells surrounding cortical beta-amyloid plaques in transgenic Tg2576 mice with Alzheimer pathology. *Int J Dev Neurosci*;18:423-431.
- Meisami, E., Mikhail, L., Baim, D., Bhatnagar, K.P. 1998. Human olfactory bulb: aging of glomeruli and mitral cells and a search for the accessory olfactory bulb. *Ann N Y Acad Sci*;855:708-715.
- Merkle, F.T., Mirzadeh, Z., Alvarez-Buylla, A. 2007. Mosaic organization of neural stem cells in the adult brain. *Science*;317:381-384.
- Merkle, F.T., Tramontin, A.D., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A. 2004. Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone. *Proc Natl Acad Sci U S A*;101:17528-17532.
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Rogers, J. 1987. Age-related shrinkage of cortically projecting cholinergic neurons: a selective effect. *Ann Neurol*;22:31-36.
- Metsaars, W.P., Hauw, J.J., van Welsem, M.E., Duyckaerts, C. 2003. A grading system of Alzheimer disease lesions in neocortical areas. *Neurobiol Aging*;24:563-572.
- Middei, S., Geracitano, R., Caprioli, A., Mercuri, N., Ammassari-Teule, M. 2004. Preserved fronto-striatal plasticity and enhanced procedural learning in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease overexpressing mutant hAPP^{swe}. *Learn Mem*;11:447-452.
- Miller, J.A., Zahniser, N.R. 1988. Quantitative autoradiographic analysis of 125I-pindolol binding in Fischer 344 rat brain: changes in beta-adrenergic receptor density with aging. *Neurobiol Aging*;9:267-272.
- Mirich, J.M., Williams, N.C., Berlau, D.J., Brunjes, P.C. 2002. Comparative study of aging in the mouse olfactory bulb. *J Comp Neurol*;454:361-372.
- Mizrahi, A. 2007. Dendritic development and plasticity of adult-born neurons in the mouse olfactory bulb. *Nat Neurosci*;10:444-452.
- Moberg, P.J., Pearlson, G.D., Speedie, L.J., Lipsey, J.R., Strauss, M.E., Folstein, S.E. 1987. Olfactory recognition: differential impairments in early and late Huntington's and Alzheimer's diseases. *J Clin Exp Neuropsychol*;9:650-664.
- Moechars, D., Dewachter, I., Lorent, K., Reverse, D., Baekelandt, V., Naidu, A., Tesseur, I., Spittaels, K., Haute, C.V., Checler, F., Godaux, E., Cordell, B., Van Leuven, F. 1999. Early phenotypic changes in transgenic mice that overexpress different mutants of amyloid precursor protein in brain. *J Biol Chem*;274:6483-6492.

- Mombaerts, P. 2004. Genes and ligands for odorant, vomeronasal and taste receptors. *Nat Rev Neurosci*;5:263-278.
- Mombaerts, P., Wang, F., Dulac, C., Chao, S.K., Nemes, A., Mendelsohn, M., Edmondson, J., Axel, R. 1996. Visualizing an olfactory sensory map. *Cell*;87:675-686.
- Montag-Sallaz, M., Buonviso, N. 2002. Altered odor-induced expression of c-fos and arg 3.1 immediate early genes in the olfactory system after familiarization with an odor. *J Neurobiol*;52:61-72.
- Moore, T.L., Schettler, S.P., Killiany, R.J., Herndon, J.G., Luebke, J.I., Moss, M.B., Rosene, D.L. 2005. Cognitive impairment in aged rhesus monkeys associated with monoamine receptors in the prefrontal cortex. *Behav Brain Res*;160:208-221.
- Moran, P.M., Higgins, L.S., Cordell, B., Moser, P.C. 1995. Age-related learning deficits in transgenic mice expressing the 751-amino acid isoform of human beta-amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*;92:5341-5345.
- Moreno, M.M., Linster, C., Escanilla, O., Sacquet, J., Didier, A., Mandairon, N. 2009. Olfactory perceptual learning requires adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*;106:17980-17985.
- Morgan, C.D., Nordin, S., Murphy, C. 1995. Odor identification as an early marker for Alzheimer's disease: impact of lexical functioning and detection sensitivity. *J Clin Exp Neuropsychol*;17:793-803.
- Morgan, C.D., Covington, J.W., Geisler, M.W., Polich, J., Murphy, C. 1997. Olfactory event-related potentials: older males demonstrate the greatest deficits. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*;104:351-358.
- Morgan, C.D., Geisler, M.W., Covington, J.W., Polich, J., Murphy, C. 1999. Olfactory P3 in young and older adults. *Psychophysiology*;36:281-287.
- Morgan, D. 2006. Immunotherapy for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*;9:425-432.
- Morgan, D., Diamond, D.M., Gottschall, P.E., Ugen, K.E., Dickey, C., Hardy, J., Duff, K., Jantzen, P., DiCarlo, G., Wilcock, D., Connor, K., Hatcher, J., Hope, C., Gordon, M., Arendash, G.W. 2000. A beta peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease. *Nature*;408:982-985.
- Moriceau, S., Sullivan, R.M. 2004. Unique neural circuitry for neonatal olfactory learning. *J Neurosci*;24:1182-1189.
- Moriizumi, T., Tsukatani, T., Sakashita, H., Miwa, T. 1994. Olfactory disturbance induced by deafferentation of serotonergic fibers in the olfactory bulb. *Neuroscience*;61:733-738.
- Morilak, D.A., Barrera, G., Echevarria, D.J., Garcia, A.S., Hernandez, A., Ma, S., Petre, C.O. 2005. Role of brain norepinephrine in the behavioral response to stress. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*;29:1214-1224.
- Morinaga, A., Ono, K., Ikeda, T., Ikeda, Y., Shima, K., Noguchi-Shinohara, M., Samuraki, M., Yanase, D., Yoshita, M., Iwasa, K., Mastunari, I., Yamada, M. 2010. A Comparison of the Diagnostic Sensitivity of MRI, CBF-SPECT, FDG-PET and Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Detecting Alzheimer's Disease in a Memory Clinic. *Dement Geriatr Cogn Disord*;30:285-292.
- Morita, Y., Zhang, J.H., Hironaka, T., Tateno, E., Noguchi, K., Sato, M., Kiyama, H., Tohyama, M. 1990. Postnatal development of preproenkephalin mRNA containing neurons in the rat lower brainstem. *J Comp Neurol*;292:193-213.
- Morris, R.G., Salmon, D.P. 2007. The centennial of Alzheimer's disease and the publication of "Uber eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde" by Alois Alzheimer. *Cortex*;43:821-825.
- Morse, J.K., Wiegand, S.J., Anderson, K., You, Y., Cai, N., Carnahan, J., Miller, J., DiStefano, P.S., Altar, C.A., Lindsay, R.M. 1993. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) prevents the degeneration of medial septal cholinergic neurons following fimbria transection. *J Neurosci*;13:4146-4156.

- Mouly, A.M., Fort, A., Ben-Boutayab, N., Gervais, R. 2001. Olfactory learning induces differential long-lasting changes in rat central olfactory pathways. *Neuroscience*;102:11-21.
- Mouret, A., Gheusi, G., Gabellec, M.M., de Chaumont, F., Olivo-Marin, J.C., Lledo, P.M. 2008. Learning and survival of newly generated neurons: when time matters. *J Neurosci*;28:11511-11516.
- Mouri, A., Noda, Y., Hara, H., Mizoguchi, H., Tabira, T., Nabeshima, T. 2007. Oral vaccination with a viral vector containing Abeta cDNA attenuates age-related Abeta accumulation and memory deficits without causing inflammation in a mouse Alzheimer model. *Faseb J*;21:2135-2148.
- Mouton, P.R., Pakkenberg, B., Gundersen, H.J., Price, D.L. 1994. Absolute number and size of pigmented locus coeruleus neurons in young and aged individuals. *J Chem Neuroanat*;7:185-190.
- Mucke, L. 2009. Neuroscience: Alzheimer's disease. *Nature*;461:895-897.
- Murase, S., Horwitz, A.F. 2002. Deleted in colorectal carcinoma and differentially expressed integrins mediate the directional migration of neural precursors in the rostral migratory stream. *J Neurosci*;22:3568-3579.
- Murchison, C.F., Zhang, X.Y., Zhang, W.P., Ouyang, M., Lee, A., Thomas, S.A. 2004. A distinct role for norepinephrine in memory retrieval. *Cell*;117:131-143.
- Murphy, C., Nordin, S., Acosta, L. 1997. Odor learning, recall, and recognition memory in young and elderly adults. *Neuropsychology*;11:126-137.
- Murphy, C., Jernigan, T.L., Fennema-Notestine, C. 2003. Left hippocampal volume loss in Alzheimer's disease is reflected in performance on odor identification: a structural MRI study. *J Int Neuropsychol Soc*;9:459-471.
- Murphy, C., Cain, W.S., Gilmore, M.M., Skinner, R.B. 1991. Sensory and semantic factors in recognition memory for odors and graphic stimuli: elderly versus young persons. *Am J Psychol*;104:161-192.
- Murphy, C., Gilmore, M.M., Seery, C.S., Salmon, D.P., Lasker, B.R. 1990. Olfactory thresholds are associated with degree of dementia in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;11:465-469.
- Murphy, C., Nordin, S., de Wijk, R.A., Cain, W.S., Polich, J. 1994. Olfactory-evoked potentials: assessment of young and elderly, and comparison to psychophysical threshold. *Chem Senses*;19:47-56.
- Murphy, C., Wetter, S., Morgan, C.D., Ellison, D.W., Geisler, M.W. 1998. Age effects on central nervous system activity reflected in the olfactory event-related potential. Evidence for decline in middle age. *Ann N Y Acad Sci*;855:598-607.
- Murphy, C., Cerf-Ducastel, B., Calhoun-Haney, R., Gilbert, P.E., Ferdon, S. 2005. ERP, fMRI and functional connectivity studies of brain response to odor in normal aging and Alzheimer's disease. *Chem Senses*;30 Suppl 1:i170-171.
- Murphy, C., Morgan, C.D., Geisler, M.W., Wetter, S., Covington, J.W., Madowitz, M.D., Nordin, S., Polich, J.M. 2000. Olfactory event-related potentials and aging: normative data. *Int J Psychophysiol*;36:133-145.
- Nagao, H., Yamaguchi, M., Takahashi, Y., Mori, K. 2002. Grouping and representation of odorant receptors in domains of the olfactory bulb sensory map. *Microsc Res Tech*;58:168-175.
- Nagy, Z., Esiri, M.M., Cato, A.M., Smith, A.D. 1997. Cell cycle markers in the hippocampus in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*;94:6-15.
- Nai, Q., Dong, H.W., Linster, C., Ennis, M. 2010. Activation of alpha1 and alpha2 noradrenergic receptors exert opposing effects on excitability of main olfactory bulb granule cells. *Neuroscience*.

- Nai, Q., Dong, H.W., Hayar, A., Linster, C., Ennis, M. 2009. Noradrenergic regulation of GABAergic inhibition of main olfactory bulb mitral cells varies as a function of concentration and receptor subtype. *J Neurophysiol*;101:2472-2484.
- Nakai, S., Matsunaga, W., Isobe, K., Shirokawa, T. 2006. Age-dependent interactive changes in serotonergic and noradrenergic cortical axon terminals in F344 rats. *Neurosci Res*;54:220-229.
- Nakayasu, C., Kanemura, F., Hirano, Y., Shimizu, Y., Tonosaki, K. 2000. Sensitivity of the olfactory sense declines with the aging in senescence-accelerated mouse (SAM-P1). *Physiol Behav*;70:135-139.
- Nam, S.C., Kim, Y., Dryanovski, D., Walker, A., Goings, G., Woolfrey, K., Kang, S.S., Chu, C., Chenn, A., Erdelyi, F., Szabo, G., Hockberger, P., Szele, F.G. 2007. Dynamic features of postnatal subventricular zone cell motility: a two-photon time-lapse study. *J Comp Neurol*;505:190-208.
- Naslund, J., Haroutunian, V., Mohs, R., Davis, K.L., Davies, P., Greengard, P., Buxbaum, J.D. 2000. Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline. *Jama*;283:1571-1577.
- Ng, K.L., Li, J.D., Cheng, M.Y., Leslie, F.M., Lee, A.G., Zhou, Q.Y. 2005. Dependence of olfactory bulb neurogenesis on prokineticin 2 signaling. *Science*;308:1923-1927.
- Nguyen-Ba-Charvet, K.T., Picard-Riera, N., Tessier-Lavigne, M., Baron-Van Evercooren, A., Sotelo, C., Chedotal, A. 2004. Multiple roles for slits in the control of cell migration in the rostral migratory stream. *J Neurosci*;24:1497-1506.
- Niccoli-Waller, C.A., Harvey, J., Nordin, S., Murphy, C. 1999. Remote Odor Memory in Alzheimer's Disease: Deficits as Measured by Familiarity. *Journal of Adult Development*;06:131-136.
- Niidome, T., Taniuchi, N., Akaike, A., Kihara, T., Sugimoto, H. 2008. Differential regulation of neurogenesis in two neurogenic regions of APP^{swe}/PS1^{dE9} transgenic mice. *Neuroreport*;19:1361-1364.
- Nissant, A., Bardy, C., Katagiri, H., Murray, K., Lledo, P.M. 2009. Adult neurogenesis promotes synaptic plasticity in the olfactory bulb. *Nat Neurosci*;12:728-730.
- Nordberg, A. 2008. Amyloid plaque imaging in vivo: current achievement and future prospects. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*;35 Suppl 1:S46-50.
- Nordin, S., Murphy, C. 1998. Odor memory in normal aging and Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*;855:686-693.
- Nordin, S., Murphy, C., Davidson, T.M., Quinonez, C., Jalowayski, A.A., Ellison, D.W. 1996. Prevalence and assessment of qualitative olfactory dysfunction in different age groups. *Laryngoscope*;106:739-744.
- Nordin, S., Quinonez, C., Morgan, C.D., Geisler, M.W., Polich, J., Murphy, C. 1999. Olfactory event-related potentials in young and elderly adults: evaluation of tracking task versus eyes open/closed recording. *Chem Senses*;24:459-464.
- Numan, S., Lane-Ladd, S.B., Zhang, L., Lundgren, K.H., Russell, D.S., Seroogy, K.B., Nestler, E.J. 1998. Differential regulation of neurotrophin and trk receptor mRNAs in catecholaminergic nuclei during chronic opiate treatment and withdrawal. *J Neurosci*;18:10700-10708.
- Nusser, Z., Kay, L.M., Laurent, G., Homanics, G.E., Mody, I. 2001. Disruption of GABA(A) receptors on GABAergic interneurons leads to increased oscillatory power in the olfactory bulb network. *J Neurophysiol*;86:2823-2833.
- Nyback, H., Nyman, H., Schalling, D. 1987. Neuropsychological test performance and CSF levels of monoamine metabolites in healthy volunteers and patients with Alzheimer's dementia. *Acta Psychiatr Scand*;76:648-656.
- Oddo, S., Caccamo, A., Kitazawa, M., Tseng, B.P., LaFerla, F.M. 2003a. Amyloid deposition precedes tangle formation in a triple transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;24:1063-1070.

- Oddo, S., Vasilevko, V., Caccamo, A., Kitazawa, M., Cribbs, D.H., LaFerla, F.M. 2006. Reduction of soluble Abeta and tau, but not soluble Abeta alone, ameliorates cognitive decline in transgenic mice with plaques and tangles. *J Biol Chem*;281:39413-39423.
- Oddo, S., Caccamo, A., Shepherd, J.D., Murphy, M.P., Golde, T.E., Kaye, R., Metherate, R., Mattson, M.P., Akbari, Y., LaFerla, F.M. 2003b. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron*;39:409-421.
- Ognibene, E., Middei, S., Daniele, S., Adriani, W., Ghirardi, O., Caprioli, A., Laviola, G. 2005. Aspects of spatial memory and behavioral disinhibition in Tg2576 transgenic mice as a model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res*;156:225-232.
- Ohm, T.G., Braak, H. 1987. Olfactory bulb changes in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*;73:365-369.
- Ohm, T.G., Busch, C., Bohl, J. 1997. Unbiased estimation of neuronal numbers in the human nucleus coeruleus during aging. *Neurobiol Aging*;18:393-399.
- Ohno, M., Chang, L., Tseng, W., Oakley, H., Citron, M., Klein, W.L., Vassar, R., Disterhoft, J.F. 2006. Temporal memory deficits in Alzheimer's mouse models: rescue by genetic deletion of BACE1. *Eur J Neurosci*;23:251-260.
- Okutani, F., Kaba, H., Takahashi, S., Seto, K. 1998. The biphasic effects of locus coeruleus noradrenergic activation on dendrodendritic inhibition in the rat olfactory bulb. *Brain Res*;783:272-279.
- O'Meara, G., Coumis, U., Ma, S.Y., Kehr, J., Mahoney, S., Bacon, A., Allen, S.J., Holmes, F., Kahl, U., Wang, F.H., Kearns, I.R., Ove-Ogren, S., Dawbarn, D., Mufson, E.J., Davies, C., Dawson, G., Wynick, D. 2000. Galanin regulates the postnatal survival of a subset of basal forebrain cholinergic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*;97:11569-11574.
- Ono, K., Condron, M.M., Teplow, D.B. 2009. Structure-neurotoxicity relationships of amyloid beta-protein oligomers. *Proc Natl Acad Sci U S A*;106:14745-14750.
- Ono, K., Tomasiewicz, H., Magnuson, T., Rutishauser, U. 1994. N-CAM mutation inhibits tangential neuronal migration and is phenocopied by enzymatic removal of polysialic acid. *Neuron*;13:595-609.
- Ouchi, Y., Yoshikawa, E., Futatsubashi, M., Yagi, S., Ueki, T., Nakamura, K. 2009. Altered brain serotonin transporter and associated glucose metabolism in Alzheimer disease. *J Nucl Med*;50:1260-1266.
- Packer, M.A., Stasiv, Y., Benraiss, A., Chmielnicki, E., Grinberg, A., Westphal, H., Goldman, S.A., Enikolopov, G. 2003. Nitric oxide negatively regulates mammalian adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*;100:9566-9571.
- Paik, S.I., Lehman, M.N., Seiden, A.M., Duncan, H.J., Smith, D.V. 1992. Human olfactory biopsy. The influence of age and receptor distribution. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*;118:731-738.
- Palmer, A.M., Wilcock, G.K., Esiri, M.M., Francis, P.T., Bowen, D.M. 1987a. Monoaminergic innervation of the frontal and temporal lobes in Alzheimer's disease. *Brain Res*;401:231-238.
- Palmer, A.M., Francis, P.T., Bowen, D.M., Benton, J.S., Neary, D., Mann, D.M., Snowden, J.S. 1987b. Catecholaminergic neurones assessed ante-mortem in Alzheimer's disease. *Brain Res*;414:365-375.
- Parameshwaran, K., Dhanasekaran, M., Suppiramaniam, V. 2008. Amyloid beta peptides and glutamatergic synaptic dysregulation. *Exp Neurol*;210:7-13.
- Paratcha, G., Ibanez, C.F., Ledda, F. 2006. GDNF is a chemoattractant factor for neuronal precursor cells in the rostral migratory stream. *Mol Cell Neurosci*;31:505-514.
- Patel, R.C., Larson, J. 2009. Impaired olfactory discrimination learning and decreased olfactory sensitivity in aged C57Bl/6 mice. *Neurobiol Aging*;30:829-837.

- Pencea, V., Bingaman, K.D., Freedman, L.J., Luskin, M.B. 2001. Neurogenesis in the subventricular zone and rostral migratory stream of the neonatal and adult primate forebrain. *Exp Neurol*;172:1-16.
- Pepeu, G. 1988. Acetylcholine and brain aging. *Pharmacol Res Commun*;20:91-97.
- Peretto, P., Merighi, A., Fasolo, A., Bonfanti, L. 1999. The subependymal layer in rodents: a site of structural plasticity and cell migration in the adult mammalian brain. *Brain Res Bull*;49:221-243.
- Peters, J.M., Hummel, T., Kratzsch, T., Lotsch, J., Skarke, C., Frolich, L. 2003. Olfactory function in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an investigation using psychophysical and electrophysiological techniques. *Am J Psychiatry*;160:1995-2002.
- Petersen, R.C., Doody, R., Kurz, A., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rabins, P.V., Ritchie, K., Rossor, M., Thal, L., Winblad, B. 2001. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol*;58:1985-1992.
- Petreau, L., Alvarez-Buylla, A. 2002. Maturation and death of adult-born olfactory bulb granule neurons: role of olfaction. *J Neurosci*;22:6106-6113.
- Philipson, O., Lord, A., Gumucio, A., O'Callaghan, P., Lannfelt, L., Nilsson, L.N. 2010. Animal models of amyloid-beta-related pathologies in Alzheimer's disease. *Febs J*;277:1389-1409.
- Pieribone, V.A., Nicholas, A.P., Dagerlind, A., Hokfelt, T. 1994. Distribution of alpha 1 adrenoceptors in rat brain revealed by in situ hybridization experiments utilizing subtype-specific probes. *J Neurosci*;14:4252-4268.
- Pimplikar, S.W. 2009. Reassessing the amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol*;41:1261-1268.
- Pittman, R.N., Minneman, K.P., Molinoff, P.B. 1980. Alterations in beta 1- and beta 2-adrenergic receptor density in the cerebellum of aging rats. *J Neurochem*;35:273-275.
- Plailly, J., Howard, J.D., Gitelman, D.R., Gottfried, J.A. 2008. Attention to odor modulates thalamocortical connectivity in the human brain. *J Neurosci*;28:5257-5267.
- Platel, J.C., Dave, K.A., Gordon, V., Lacar, B., Rubio, M.E., Bordey, A. 2010. NMDA receptors activated by subventricular zone astrocytic glutamate are critical for neuroblast survival prior to entering a synaptic network. *Neuron*;65:859-872.
- Price, D.L., Sisodia, S.S. 1998. Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. *Annu Rev Neurosci*;21:479-505.
- Price, J.L., Davis, P.B., Morris, J.C., White, D.L. 1991. The distribution of tangles, plaques and related immunohistochemical markers in healthy aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;12:295-312.
- Pringle, A.K., Sundstrom, L.E., Wilde, G.J., Williams, L.R., Iannotti, F. 1996. Brain-derived neurotrophic factor, but not neurotrophin-3, prevents ischaemia-induced neuronal cell death in organotypic rat hippocampal slice cultures. *Neurosci Lett*;211:203-206.
- Pugh, P.L., Richardson, J.C., Bate, S.T., Upton, N., Sunter, D. 2007. Non-cognitive behaviours in an APP/PS1 transgenic model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res*;178:18-28.
- Puverel, S., Nakatani, H., Parras, C., Soussi-Yanicostas, N. 2009. Prokineticin receptor 2 expression identifies migrating neuroblasts and their subventricular zone transient-amplifying progenitors in adult mice. *J Comp Neurol*;512:232-242.
- Qi, S.B., Nomura, Y. 1988. Age related changes in the inhibitory effect of clonidine on high K⁺-evoked noradrenaline release from brain slices of rats. *J Pharmacobiodyn*;11:483-485.
- Querfurth, H.W., LaFerla, F.M. 2010. Alzheimer's disease. *N Engl J Med*;362:329-344.
- Quinn, J.F., Bussiere, J.R., Hammond, R.S., Montine, T.J., Henson, E., Jones, R.E., Stackman, R.W., Jr. 2007. Chronic dietary alpha-lipoic acid reduces deficits in hippocampal memory of aged Tg2576 mice. *Neurobiol Aging*;28:213-225.

- Quinones-Hinajosa, A., Sanai, N., Gonzalez-Perez, O., Garcia-Verdugo, J.M. 2007. The human brain subventricular zone: stem cells in this niche and its organization. *Neurosurg Clin N Am*;18:15-20, vii.
- Quinones-Hinajosa, A., Sanai, N., Soriano-Navarro, M., Gonzalez-Perez, O., Mirzadeh, Z., Gil-Perotin, S., Romero-Rodriguez, R., Berger, M.S., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A. 2006. Cellular composition and cytoarchitecture of the adult human subventricular zone: a niche of neural stem cells. *J Comp Neurol*;494:415-434.
- Quintanilla, R.A., Orellana, D.I., Gonzalez-Billault, C., Maccioni, R.B. 2004. Interleukin-6 induces Alzheimer-type phosphorylation of tau protein by deregulating the cdk5/p35 pathway. *Exp Cell Res*;295:245-257.
- Rangel, S., Leon, M. 1995. Early odor preference training increases olfactory bulb norepinephrine. *Brain Res Dev Brain Res*;85:187-191.
- Ransmayr, G., Faucheux, B., Nowakowski, C., Kubis, N., Federspiel, S., Kaufmann, W., Henin, D., Hauw, J.J., Agid, Y., Hirsch, E.C. 2000. Age-related changes of neuronal counts in the human pedunculopontine nucleus. *Neurosci Lett*;288:195-198.
- Raskind, M.A., Peskind, E.R., Halter, J.B., Jimerson, D.C. 1984. Norepinephrine and MHPG levels in CSF and plasma in Alzheimer's disease. *Arch Gen Psychiatry*;41:343-346.
- Ravel, N., Elaagouby, A., Gervais, R. 1994. Scopolamine injection into the olfactory bulb impairs short-term olfactory memory in rats. *Behav Neurosci*;108:317-324.
- Ravel, N., Vigouroux, M., Elaagouby, A., Gervais, R. 1992. Scopolamine impairs delayed matching in an olfactory task in rats. *Psychopharmacology (Berl)*;109:439-443.
- Reyes, P.F., Deems, D.A., Suarez, M.G. 1993. Olfactory-related changes in Alzheimer's disease: a quantitative neuropathologic study. *Brain Res Bull*;32:1-5.
- Reynolds, B.A., Weiss, S. 1992. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*;255:1707-1710.
- Richard, M.B., Taylor, S.R., Greer, C.A. 2010. Age-induced disruption of selective olfactory bulb synaptic circuits. *Proc Natl Acad Sci U S A*;107:15613-15618.
- Richardson, J.C., Kendal, C.E., Anderson, R., Priest, F., Gower, E., Soden, P., Gray, R., Topps, S., Howlett, D.R., Lavender, D., Clarke, N.J., Barnes, J.C., Haworth, R., Stewart, M.G., Rupniak, H.T. 2003. Ultrastructural and behavioural changes precede amyloid deposition in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Neuroscience*;122:213-228.
- Rizk, P., Salazar, J., Raisman-Vozari, R., Marien, M., Ruberg, M., Colpaert, F., Debeir, T. 2006. The alpha2-adrenoceptor antagonist dexefaroxan enhances hippocampal neurogenesis by increasing the survival and differentiation of new granule cells. *Neuropsychopharmacology*;31:1146-1157.
- Robbins, T.W., Roberts, A.C. 2007. Differential regulation of fronto-executive function by the monoamines and acetylcholine. *Cereb Cortex*;17 Suppl 1:i151-160.
- Robinson, D.M., Keating, G.M. 2006. Memantine: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drugs*;66:1515-1534.
- Rochefort, C., Lledo, P.M. 2005. Short-term survival of newborn neurons in the adult olfactory bulb after exposure to a complex odor environment. *Eur J Neurosci*;22:2863-2870.
- Rochefort, C., Gheusi, G., Vincent, J.D., Lledo, P.M. 2002. Enriched odor exposure increases the number of newborn neurons in the adult olfactory bulb and improves odor memory. *J Neurosci*;22:2679-2689.
- Rodriguez, J.J., Jones, V.C., Verkhratsky, A. 2009. Impaired cell proliferation in the subventricular zone in an Alzheimer's disease model. *Neuroreport*;20:907-912.
- Rodriguez, J.J., Jones, V.C., Tabuchi, M., Allan, S.M., Knight, E.M., LaFerla, F.M., Oddo, S., Verkhratsky, A. 2008. Impaired adult neurogenesis in the dentate gyrus of a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*;3:e2935.
- Rogers, J., Lue, L.F. 2001. Microglial chemotaxis, activation, and phagocytosis of amyloid beta-peptide as linked phenomena in Alzheimer's disease. *Neurochem Int*;39:333-340.

- Roman, F.S., Alescio-Lautier, B., Soumireu-Mourat, B. 1996. Age-related learning and memory deficits in odor-reward association in rats. *Neurobiol Aging*;17:31-40.
- Rosin, D.L., Talley, E.M., Lee, A., Stornetta, R.L., Gaylinn, B.D., Guyenet, P.G., Lynch, K.R. 1996. Distribution of alpha 2C-adrenergic receptor-like immunoreactivity in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*;372:135-165.
- Rosli, Y., Breckenridge, L.J., Smith, R.A. 1999. An ultrastructural study of age-related changes in mouse olfactory epithelium. *J Electron Microsc (Tokyo)*;48:77-84.
- Royet, J.P., Croisile, B., Williamson-Vasta, R., Hibert, O., Serclerat, D., Guerin, J. 2001. Rating of different olfactory judgements in Alzheimer's disease. *Chem Senses*;26:409-417.
- Rustay, N.R., Cronin, E.A., Curzon, P., Markosyan, S., Bitner, R.S., Ellis, T.A., Waring, J.F., Decker, M.W., Rueter, L.E., Browman, K.E. 2010. Mice expressing the Swedish APP mutation on a 129 genetic background demonstrate consistent behavioral deficits and pathological markers of Alzheimer's disease. *Brain Res*;1311:136-147.
- Rylett, R.J., Williams, L.R. 1994. Role of neurotrophins in cholinergic-neurone function in the adult and aged CNS. *Trends Neurosci*;17:486-490.
- Sadowski, M., Pankiewicz, J., Scholtzova, H., Ji, Y., Quartermain, D., Jensen, C.H., Duff, K., Nixon, R.A., Gruen, R.J., Wisniewski, T. 2004. Amyloid-beta deposition is associated with decreased hippocampal glucose metabolism and spatial memory impairment in APP/PS1 mice. *J Neuropathol Exp Neurol*;63:418-428.
- Saghatelian, A., de Chevigny, A., Schachner, M., Lledo, P.M. 2004. Tenascin-R mediates activity-dependent recruitment of neuroblasts in the adult mouse forebrain. *Nat Neurosci*;7:347-356.
- Saghatelian, A., Roux, P., Migliore, M., Rochefort, C., Desmaisons, D., Charneau, P., Shepherd, G.M., Lledo, P.M. 2005. Activity-dependent adjustments of the inhibitory network in the olfactory bulb following early postnatal deprivation. *Neuron*;46:103-116.
- Sakono, M., Zako, T. 2010. Amyloid oligomers: formation and toxicity of Abeta oligomers. *Febs J*;277:1348-1358.
- Sakuma, K., Nakashima, K., Takahashi, K. 1996. Olfactory evoked potentials in Parkinson's disease, Alzheimer's disease and anosmic patients. *Psychiatry Clin Neurosci*;50:35-40.
- Sallaz, M., Jourdan, F. 1996. Odour-induced c-fos expression in the rat olfactory bulb: involvement of centrifugal afferents. *Brain Res*;721:66-75.
- Sanai, N., Tramontin, A.D., Quinones-Hinojosa, A., Barbaro, N.M., Gupta, N., Kunwar, S., Lawton, M.T., McDermott, M.W., Parsa, A.T., Manuel-Garcia Verdugo, J., Berger, M.S., Alvarez-Buylla, A. 2004. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature*;427:740-744.
- Santacruz, K., Lewis, J., Spires, T., Paulson, J., Kotilinek, L., Ingelsson, M., Guimaraes, A., DeTure, M., Ramsden, M., McGowan, E., Forster, C., Yue, M., Orne, J., Janus, C., Mariash, A., Kuskowski, M., Hyman, B., Hutton, M., Ashe, K.H. 2005. Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science*;309:476-481.
- Sara, S.J. 2009. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. *Nat Rev Neurosci*;10:211-223.
- Sastre, M., Garcia-Sevilla, J.A. 1994. Alpha 2-adrenoceptor subtypes identified by [³H]RX821002 binding in the human brain: the agonist guanoxabenz does not discriminate different forms of the predominant alpha 2A subtype. *J Neurochem*;63:1077-1085.
- Savonenko, A., Xu, G.M., Melnikova, T., Morton, J.L., Gonzales, V., Wong, M.P., Price, D.L., Tang, F., Markowska, A.L., Borchelt, D.R. 2005. Episodic-like memory deficits in the APP^{swe}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer's disease: relationships to beta-amyloid deposition and neurotransmitter abnormalities. *Neurobiol Dis*;18:602-617.
- Savonenko, A.V., Xu, G.M., Price, D.L., Borchelt, D.R., Markowska, A.L. 2003. Normal cognitive behavior in two distinct congenic lines of transgenic mice hyperexpressing mutant APP SWE. *Neurobiol Dis*;12:194-211.

- Sawamoto, K., Wichterle, H., Gonzalez-Perez, O., Cholfin, J.A., Yamada, M., Spassky, N., Murcia, N.S., Garcia-Verdugo, J.M., Marin, O., Rubenstein, J.L., Tessier-Lavigne, M., Okano, H., Alvarez-Buylla, A. 2006. New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. *Science*;311:629-632.
- Scarpace, P.J., Tumer, N., Mader, S.L. 1991. Beta-adrenergic function in aging. Basic mechanisms and clinical implications. *Drugs Aging*;1:116-129.
- Schaeffer, E.L., Novaes, B.A., da Silva, E.R., Skaf, H.D., Mendes-Neto, A.G. 2009. Strategies to promote differentiation of newborn neurons into mature functional cells in Alzheimer brain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*;33:1087-1102.
- Schemper, T., Voss, S., Cain, W.S. 1981. Odor identification in young and elderly persons: sensory and cognitive limitations. *J Gerontol*;36:446-452.
- Schiffman, S., Pasternak, M. 1979. Decreased discrimination of food odors in the elderly. *J Gerontol*;34:73-79.
- Schiffman, S.S. 1997. Taste and smell losses in normal aging and disease. *Jama*;278:1357-1362.
- Schiffman, S.S., Moss, J., Erickson, R.P. 1976. Thresholds of food odors in the elderly. *Exp Aging Res*;2:389-398.
- Schliebs, R., Arendt, T. 2006. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. *J Neural Transm*;113:1625-1644.
- Schoenbaum, G., Nugent, S., Saddoris, M.P., Gallagher, M. 2002. Teaching old rats new tricks: age-related impairments in olfactory reversal learning. *Neurobiol Aging*;23:555-564.
- Schoppa, N.E., Urban, N.N. 2003. Dendritic processing within olfactory bulb circuits. *Trends Neurosci*;26:501-506.
- Selkoe, D.J. 2002. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*;298:789-791.
- Selkoe, D.J. 2008. Soluble oligomers of the amyloid beta-protein impair synaptic plasticity and behavior. *Behav Brain Res*;192:106-113.
- Serby, M., Larson, P., Kalkstein, D. 1991. The nature and course of olfactory deficits in Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry*;148:357-360.
- Shang, Y., Dluzen, D.E. 2001. Nisoxetine infusion into the olfactory bulb enhances the capacity for male rats to identify conspecifics. *Neuroscience*;104:957-964.
- Shepherd, G., Greer, C. (1990) The olfactory bulb. In: *The synaptic organization of the brain* (Shepherd G, ed), p 133. Oxford, New-York: Oxford university press.
- Shepherd, G.M., Chen, W.R., Willhite, D., Migliore, M., Greer, C.A. 2007. The olfactory granule cell: from classical enigma to central role in olfactory processing. *Brain Res Rev*;55:373-382.
- Shimazaki, T., Shingo, T., Weiss, S. 2001. The ciliary neurotrophic factor/leukemia inhibitory factor/gp130 receptor complex operates in the maintenance of mammalian forebrain neural stem cells. *J Neurosci*;21:7642-7653.
- Shingo, T., Gregg, C., Enwere, E., Fujikawa, H., Hassam, R., Geary, C., Cross, J.C., Weiss, S. 2003. Pregnancy-stimulated neurogenesis in the adult female forebrain mediated by prolactin. *Science*;299:117-120.
- Shiple, M.T., Halloran, F.J., de la Torre, J. 1985. Surprisingly rich projection from locus coeruleus to the olfactory bulb in the rat. *Brain Res*;329:294-299.
- Shirokawa, T., Ishida, Y., Isobe, K. 2003. Age-related changes in the release and uptake activity of presynaptic axon terminals of rat locus coeruleus neurons. *Neurosci Lett*;344:212-214.
- Shores, M.M., White, S.S., Veith, R.C., Szot, P. 1999. Tyrosine hydroxylase mRNA is increased in old age and norepinephrine uptake transporter mRNA is decreased in middle age in locus coeruleus of Brown-Norway rats. *Brain Res*;826:143-147.
- Silvestrelli, G., Lanari, A., Parnetti, L., Tomassoni, D., Amenta, F. 2006. Treatment of Alzheimer's disease: from pharmacology to a better understanding of disease pathophysiology. *Mech Ageing Dev*;127:148-157.

- Sims, N.R., Zaidan, E. 1995. Biochemical changes associated with selective neuronal death following short-term cerebral ischaemia. *Int J Biochem Cell Biol*;27:531-550.
- Snappyan, M., Lemasson, M., Brill, M.S., Blais, M., Massouh, M., Ninkovic, J., Gravel, C., Berthod, F., Gotz, M., Barker, P.A., Parent, A., Saghatelian, A. 2009. Vasculature guides migrating neuronal precursors in the adult mammalian forebrain via brain-derived neurotrophic factor signaling. *J Neurosci*;29:4172-4188.
- Snowden, J.S., Stopford, C.L., Julien, C.L., Thompson, J.C., Davidson, Y., Gibbons, L., Pritchard, A., Lendon, C.L., Richardson, A.M., Varma, A., Neary, D., Mann, D. 2007. Cognitive phenotypes in Alzheimer's disease and genetic risk. *Cortex*;43:835-845.
- Stackman, R.W., Eckenstein, F., Frei, B., Kulhanek, D., Nowlin, J., Quinn, J.F. 2003. Prevention of age-related spatial memory deficits in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease by chronic Ginkgo biloba treatment. *Exp Neurol*;184:510-520.
- Steinbach, S., Staudenmaier, R., Hummel, T., Arnold, W. 2008. [Loss of olfaction with aging: a frequent disorder receiving little attention]. *Z Gerontol Geriatr*;41:394-402.
- Sterniczuk, R., Antle, M.C., Laferla, F.M., Dyck, R. 2010. Characterization of the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease: Part 2. Behavioral and cognitive changes. *Brain Res*;In Press.
- Stevens, J., Cain, W.S., Weinstein, D. 1987. Aging impairs the ability to detect gas odor. *Fire Technology*;23:198-204.
- Stevens, J.C., Cain, W.S. 1987. Old-age deficits in the sense of smell as gauged by thresholds, magnitude matching, and odor identification. *Psychol Aging*;2:36-42.
- Stevens, J.C., Plantinga, A., Cain, W.S. 1982. Reduction of odor and nasal pungency associated with aging. *Neurobiol Aging*;3:125-132.
- Stevens, J.C., Cain, W.S., Demarque, A. 1990. Memory and identification of stimulated odors in elderly and young persons. *Bulletin of the Psychonomic Society*;24:293-296.
- Stopfer, M. 2005. Olfactory coding: inhibition reshapes odor responses. *Curr Biol*;15:R996-998.
- Strong, R., Hicks, P., Hsu, L., Bartus, R.T., Enna, S.J. 1980. Age-related alterations in the rodent brain cholinergic system and behavior. *Neurobiol Aging*;1:59-63.
- Struble, R.G., Clark, H.B. 1992. Olfactory bulb lesions in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;13:469-473.
- Sturchler-Pierrat, C., Abramowski, D., Duke, M., Wiederhold, K.H., Mistl, C., Rothacher, S., Ledermann, B., Burki, K., Frey, P., Paganetti, P.A., Waridel, C., Calhoun, M.E., Jucker, M., Probst, A., Staufenbiel, M., Sommer, B. 1997. Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A*;94:13287-13292.
- Sullivan, R.M., Stackenwalt, G., Nasr, F., Lemon, C., Wilson, D.A. 2000. Association of an odor with activation of olfactory bulb noradrenergic beta-receptors or locus coeruleus stimulation is sufficient to produce learned approach responses to that odor in neonatal rats. *Behav Neurosci*;114:957-962.
- Sultan, S., Mandairon, N., Kermen, F., Garcia, S., Sacquet, J., Didier, A. 2010. Learning-dependent neurogenesis in the olfactory bulb determines long-term olfactory memory. *Faseb J*;24:2355-2363.
- Suzuki, Y., Yamamoto, S., Umegaki, H., Onishi, J., Mogi, N., Fujishiro, H., Iguchi, A. 2004. Smell identification test as an indicator for cognitive impairment in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*;19:727-733.
- Szot, P., White, S.S., Greenup, J.L., Leverenz, J.B., Peskind, E.R., Raskind, M.A. 2006. Compensatory changes in the noradrenergic nervous system in the locus ceruleus and hippocampus of postmortem subjects with Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *J Neurosci*;26:467-478.

- Szot, P., White, S.S., Greenup, J.L., Leverenz, J.B., Peskind, E.R., Raskind, M.A. 2007. Changes in adrenoceptors in the prefrontal cortex of subjects with dementia: evidence of compensatory changes. *Neuroscience*;146:471-480.
- Szot, P., Leverenz, J.B., Peskind, E.R., Kiyasu, E., Rohde, K., Miller, M.A., Raskind, M.A. 2000. Tyrosine hydroxylase and norepinephrine transporter mRNA expression in the locus coeruleus in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res*;84:135-140.
- Tagliabattola, G., Hogan, D., Zhang, W.R., Dineley, K.T. 2009. Intermediate- and long-term recognition memory deficits in Tg2576 mice are reversed with acute calcineurin inhibition. *Behav Brain Res*;200:95-99.
- Takahashi, L.K., Nakashima, B.R., Hong, H., Watanabe, K. 2005. The smell of danger: a behavioral and neural analysis of predator odor-induced fear. *Neurosci Biobehav Rev*;29:1157-1167.
- Takei, N., Nihonmatsu, I., Kawamura, H. 1989. Age-related decline of acetylcholine release evoked by depolarizing stimulation. *Neurosci Lett*;101:182-186.
- Talamo, B.R., Rudel, R., Kosik, K.S., Lee, V.M., Neff, S., Adelman, L., Kauer, J.S. 1989. Pathological changes in olfactory neurons in patients with Alzheimer's disease. *Nature*;337:736-739.
- Talley, E.M., Rosin, D.L., Lee, A., Guyenet, P.G., Lynch, K.R. 1996. Distribution of alpha 2A-adrenergic receptor-like immunoreactivity in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*;372:111-134.
- Tanapat, P., Hastings, N.B., Reeves, A.J., Gould, E. 1999. Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. *J Neurosci*;19:5792-5801.
- Tapia-Arancibia, L., Aliaga, E., Silhol, M., Arancibia, S. 2008. New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. *Brain Res Rev*;59:201-220.
- ter Laak, H.J., Renkawek, K., van Workum, F.P. 1994. The olfactory bulb in Alzheimer disease: a morphologic study of neuron loss, tangles, and senile plaques in relation to olfaction. *Alzheimer Dis Assoc Disord*;8:38-48.
- Thal, D.R., Rub, U., Orantes, M., Braak, H. 2002. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology*;58:1791-1800.
- Thoenen, H. 1995. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science*;270:593-598.
- Thomas, S.J., Grossberg, G.T. 2009. Memantine: a review of studies into its safety and efficacy in treating Alzheimer's disease and other dementias. *Clin Interv Aging*;4:367-377.
- Tiraboschi, P., Hansen, L.A., Thal, L.J., Corey-Bloom, J. 2004. The importance of neuritic plaques and tangles to the development and evolution of AD. *Neurology*;62:1984-1989.
- Tohgi, H., Ueno, M., Abe, T., Takahashi, S., Nozaki, Y. 1992. Concentrations of monoamines and their metabolites in the cerebrospinal fluid from patients with senile dementia of the Alzheimer type and vascular dementia of the Binswanger type. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect*;4:69-77.
- Tomonaga, M. 1981. Neurofibrillary tangles and Lewy bodies in the locus ceruleus neurons of the aged brain. *Acta Neuropathol*;53:165-168.
- Trinchese, F., Liu, S., Battaglia, F., Walter, S., Mathews, P.M., Arancio, O. 2004. Progressive age-related development of Alzheimer-like pathology in APP/PS1 mice. *Ann Neurol*;55:801-814.
- Trombley, P.Q. 1992. Norepinephrine inhibits calcium currents and EPSPs via a G-protein-coupled mechanism in olfactory bulb neurons. *J Neurosci*;12:3992-3998.
- Trombley, P.Q., Shepherd, G.M. 1992. Noradrenergic inhibition of synaptic transmission between mitral and granule cells in mammalian olfactory bulb cultures. *J Neurosci*;12:3985-3991.
- Tronel, S., Sara, S.J. 2002. Mapping of olfactory memory circuits: region-specific c-fos activation after odor-reward associative learning or after its retrieval. *Learn Mem*;9:105-111.

- Tropepe, V., Craig, C.G., Morshead, C.M., van der Kooy, D. 1997. Transforming growth factor-alpha null and senescent mice show decreased neural progenitor cell proliferation in the forebrain subependyma. *J Neurosci*;17:7850-7859.
- Tsai, K.J., Tsai, Y.C., Shen, C.K. 2007. G-CSF rescues the memory impairment of animal models of Alzheimer's disease. *J Exp Med*;204:1273-1280.
- Tsuboi, Y., Wszolek, Z.K., Graff-Radford, N.R., Cookson, N., Dickson, D.W. 2003. Tau pathology in the olfactory bulb correlates with Braak stage, Lewy body pathology and apolipoprotein epsilon4. *Neuropathol Appl Neurobiol*;29:503-510.
- Tyler, W.J., Petzold, G.C., Pal, S.K., Murthy, V.N. 2007. Experience-dependent modification of primary sensory synapses in the mammalian olfactory bulb. *J Neurosci*;27:9427-9438.
- Uchida, N., Takahashi, Y.K., Tanifuji, M., Mori, K. 2000. Odor maps in the mammalian olfactory bulb: domain organization and odorant structural features. *Nat Neurosci*;3:1035-1043.
- Valley, M.T., Mullen, T.R., Schultz, L.C., Sagdullaev, B.T., Firestein, S. 2009. Ablation of mouse adult neurogenesis alters olfactory bulb structure and olfactory fear conditioning. *Front Neurosci*;3:51.
- Van Dam, D., D'Hooge, R., Staufenbiel, M., Van Ginneken, C., Van Meir, F., De Deyn, P.P. 2003. Age-dependent cognitive decline in the APP23 model precedes amyloid deposition. *Eur J Neurosci*;17:388-396.
- van Praag, H., Kempermann, G., Gage, F.H. 2000. Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci*;1:191-198.
- Vankov, A., Herve-Minvielle, A., Sara, S.J. 1995. Response to novelty and its rapid habituation in locus coeruleus neurons of the freely exploring rat. *Eur J Neurosci*;7:1180-1187.
- Verret, L., Trouche, S., Zerwas, M., Rampon, C. 2007a. Hippocampal neurogenesis during normal and pathological aging. *Psychoneuroendocrinology*;32 Suppl 1:S26-30.
- Verret, L., Jankowsky, J.L., Xu, G.M., Borchelt, D.R., Rampon, C. 2007b. Alzheimer's-type amyloidosis in transgenic mice impairs survival of newborn neurons derived from adult hippocampal neurogenesis. *J Neurosci*;27:6771-6780.
- Veyrac, A., Didier, A., Colpaert, F., Jourdan, F., Marien, M. 2005. Activation of noradrenergic transmission by alpha2-adrenoceptor antagonists counteracts deafferentation-induced neuronal death and cell proliferation in the adult mouse olfactory bulb. *Exp Neurol*;194:444-456.
- Veyrac, A., Nguyen, V., Marien, M., Didier, A., Jourdan, F. 2007. Noradrenergic control of odor recognition in a nonassociative olfactory learning task in the mouse. *Learn Mem*;14:847-854.
- Veyrac, A., Sacquet, J., Nguyen, V., Marien, M., Jourdan, F., Didier, A. 2009. Novelty determines the effects of olfactory enrichment on memory and neurogenesis through noradrenergic mechanisms. *Neuropsychopharmacology*;34:786-795.
- Vijayashankar, N., Brody, H. 1979. A quantitative study of the pigmented neurons in the nuclei locus coeruleus and subcoeruleus in man as related to aging. *J Neuropathol Exp Neurol*;38:490-497.
- Villemagne, V.L., Pike, K.E., Darby, D., Maruff, P., Savage, G., Ng, S., Ackermann, U., Cowie, T.F., Currie, J., Chan, S.G., Jones, G., Tochon-Danguy, H., O'Keefe, G., Masters, C.L., Rowe, C.C. 2008. Abeta deposits in older non-demented individuals with cognitive decline are indicative of preclinical Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*;46:1688-1697.
- Viticchi, C., Gentile, S., Piantanelli, L. 1989. Ageing and thymus-induced differential regulation of beta 1 and beta 2 adrenoceptors of mouse brain cortex. *Arch Gerontol Geriatr*;8:13-20.
- Viticchi, C., Bulian, D., Pierpaoli, W., Piantanelli, L. 1994. Brain cortex alpha- and beta-adrenoceptors are differentially modulated by pineal graft in aging mice. *Ann N Y Acad Sci*;719:448-453.

- Vloeberghs, E., Van Dam, D., Franck, F., Serroyen, J., Geert, M., Staufenbiel, M., De Deyn, P.P. 2008. Altered ingestive behavior, weight changes, and intact olfactory sense in an APP overexpression model. *Behav Neurosci*;122:491-497.
- Wallin, A.K., Blennow, K., Andreasen, N., Minthon, L. 2006. CSF biomarkers for Alzheimer's Disease: levels of beta-amyloid, tau, phosphorylated tau relate to clinical symptoms and survival. *Dement Geriatr Cogn Disord*;21:131-138.
- Walsh, D.M., Selkoe, D.J. 2004. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron*;44:181-193.
- Walsh, D.M., Townsend, M., Podlisny, M.B., Shankar, G.M., Fadeeva, J.V., El Agnaf, O., Hartley, D.M., Selkoe, D.J. 2005. Certain inhibitors of synthetic amyloid beta-peptide (Abeta) fibrillogenesis block oligomerization of natural Abeta and thereby rescue long-term potentiation. *J Neurosci*;25:2455-2462.
- Wang, J., Dickson, D.W., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M. 1999. The levels of soluble versus insoluble brain Abeta distinguish Alzheimer's disease from normal and pathologic aging. *Exp Neurol*;158:328-337.
- Wang, J., Eslinger, P.J., Smith, M.B., Yang, Q.X. 2005. Functional magnetic resonance imaging study of human olfaction and normal aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*;60:510-514.
- Wang, J.M., Singh, C., Liu, L., Irwin, R.W., Chen, S., Chung, E.J., Thompson, R.F., Brinton, R.D. 2010a. Allopregnanolone reverses neurogenic and cognitive deficits in mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*;107:6498-6503.
- Wang, R., Dineley, K.T., Sweatt, J.D., Zheng, H. 2004. Presenilin 1 familial Alzheimer's disease mutation leads to defective associative learning and impaired adult neurogenesis. *Neuroscience*;126:305-312.
- Wang, Y.J., Gao, C.Y., Yang, M., Liu, X.H., Sun, Y., Pollard, A., Dong, X.Y., Wu, X.B., Zhong, J.H., Zhou, H.D., Zhou, X.F. 2010b. Intramuscular delivery of a single chain antibody gene prevents brain Abeta deposition and cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Behav Immun*.
- Weiler, E., Farbman, A.I. 1997. Proliferation in the rat olfactory epithelium: age-dependent changes. *J Neurosci*;17:3610-3622.
- Weiner, M.W., Aisen, P.S., Jack, C.R., Jr., Jagust, W.J., Trojanowski, J.Q., Shaw, L., Saykin, A.J., Morris, J.C., Cairns, N., Beckett, L.A., Toga, A., Green, R., Walter, S., Soares, H., Snyder, P., Siemers, E., Potter, W., Cole, P.E., Schmidt, M. 2010. The Alzheimer's disease neuroimaging initiative: progress report and future plans. *Alzheimers Dement*;6:202-211 e207.
- Weinshenker, D. 2008. Functional consequences of locus coeruleus degeneration in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*;5:342-345.
- Weldon, D.T., Rogers, S.D., Ghilardi, J.R., Finke, M.P., Cleary, J.P., O'Hare, E., Esler, W.P., Maggio, J.E., Mantyh, P.W. 1998. Fibrillar beta-amyloid induces microglial phagocytosis, expression of inducible nitric oxide synthase, and loss of a select population of neurons in the rat CNS in vivo. *J Neurosci*;18:2161-2173.
- Wen, P.H., Shao, X., Shao, Z., Hof, P.R., Wisniewski, T., Kelley, K., Friedrich, V.L., Jr., Ho, L., Pasinetti, G.M., Shioi, J., Robakis, N.K., Elder, G.A. 2002. Overexpression of wild type but not an FAD mutant presenilin-1 promotes neurogenesis in the hippocampus of adult mice. *Neurobiol Dis*;10:8-19.
- Wenge, B., Bonisch, H. 2009. Interference of the noradrenergic neurotoxin DSP4 with neuronal and nonneuronal monoamine transporters. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*;380:523-529.
- Wesson, D.W., Levy, E., Nixon, R.A., Wilson, D.A. 2010. Olfactory dysfunction correlates with amyloid-beta burden in an Alzheimer's disease mouse model. *J Neurosci*;30:505-514.

- Westerman, M.A., Cooper-Blacketer, D., Mariash, A., Kotilinek, L., Kawarabayashi, T., Younkin, L.H., Carlson, G.A., Younkin, S.G., Ashe, K.H. 2002. The relationship between Abeta and memory in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*;22:1858-1867.
- Whitehouse, P.J., Price, D.L., Struble, R.G., Clark, A.W., Coyle, J.T., Delon, M.R. 1982. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science*;215:1237-1239.
- Whitman, M.C., Greer, C.A. 2009. Adult neurogenesis and the olfactory system. *Prog Neurobiol*;89:162-175.
- Whitman, M.C., Fan, W., Rela, L., Rodriguez-Gil, D.J., Greer, C.A. 2009. Blood vessels form a migratory scaffold in the rostral migratory stream. *J Comp Neurol*;516:94-104.
- Wilcock, G.K., Esiri, M.M., Bowen, D.M., Smith, C.C. 1983. The nucleus basalis in Alzheimer's disease: cell counts and cortical biochemistry. *Neuropathol Appl Neurobiol*;9:175-179.
- Wilcock, G.K., Esiri, M.M., Bowen, D.M., Hughes, A.O. 1988. The differential involvement of subcortical nuclei in senile dementia of Alzheimer's type. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*;51:842-849.
- Willhite, D.C., Nguyen, K.T., Masurkar, A.V., Greer, C.A., Shepherd, G.M., Chen, W.R. 2006. Viral tracing identifies distributed columnar organization in the olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A*;103:12592-12597.
- Williamson, J., Goldman, J., Marder, K.S. 2009. Genetic aspects of Alzheimer disease. *Neurologist*;15:80-86.
- Wilson, D.A. 2001. Receptive fields in the rat piriform cortex. *Chem Senses*;26:577-584.
- Wilson, D.A., Sullivan, R.M. 1994. Neurobiology of associative learning in the neonate: early olfactory learning. *Behav Neural Biol*;61:1-18.
- Wilson, D.A., Sullivan, R.M. 1995. The D2 antagonist spiperone mimics the effects of olfactory deprivation on mitral/tufted cell odor response patterns. *J Neurosci*;15:5574-5581.
- Wilson, D.A., Stevenson, R.J. 2003. Olfactory perceptual learning: the critical role of memory in odor discrimination. *Neurosci Biobehav Rev*;27:307-328.
- Wilson, D.A., Sullivan, R.M., Leon, M. 1987. Single-unit analysis of postnatal olfactory learning: modified olfactory bulb output response patterns to learned attractive odors. *J Neurosci*;7:3154-3162.
- Wilson, D.A., Guthrie, K.M., Leon, M. 1990. Modification of olfactory bulb synaptic inhibition by early unilateral olfactory deprivation. *Neurosci Lett*;116:250-256.
- Winner, B., Cooper-Kuhn, C.M., Aigner, R., Winkler, J., Kuhn, H.G. 2002. Long-term survival and cell death of newly generated neurons in the adult rat olfactory bulb. *Eur J Neurosci*;16:1681-1689.
- Wirhns, O., Breyhan, H., Schafer, S., Roth, C., Bayer, T.A. 2008. Deficits in working memory and motor performance in the APP/PS1ki mouse model for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*;29:891-901.
- Wisniewski, T., Boutajangout, A. 2010. Immunotherapeutic approaches for Alzheimer's disease in transgenic mouse models. *Brain Struct Funct*;214:201-218.
- Wittko, I.M., Schanzer, A., Kuzmichev, A., Schneider, F.T., Shibuya, M., Raab, S., Plate, K.H. 2009. VEGFR-1 regulates adult olfactory bulb neurogenesis and migration of neural progenitors in the rostral migratory stream in vivo. *J Neurosci*;29:8704-8714.
- Wolfman, C., Abo, V., Calvo, D., Medina, J., Dajas, F., Silveira, R. 1994. Recovery of central noradrenergic neurons one year after the administration of the neurotoxin DSP4. *Neurochem Int*;25:395-400.
- Won, M.H., Ohno, T., Suh, J.G., Lee, J.C., Jo, S.M., Oh, Y.S., Namikawa, T., Kitoh, J. 1998. Serotonergic neurons are present and innervate blood vessels in the olfactory bulb of the laboratory shrew, *Suncus murinus*. *Neurosci Lett*;243:53-56.

- Woo, C.C., Leon, M. 1995. Distribution and development of beta-adrenergic receptors in the rat olfactory bulb. *J Comp Neurol*;352:1-10.
- Wright, D.E., Seroogy, K.B., Lundgren, K.H., Davis, B.M., Jennes, L. 1995. Comparative localization of serotonin1A, 1C, and 2 receptor subtype mRNAs in rat brain. *J Comp Neurol*;351:357-373.
- Wysocki, C.J., Gilbert, A.N. 1989. National Geographic Smell Survey. Effects of age are heterogenous. *Ann N Y Acad Sci*;561:12-28.
- Xu, Z.Q., Shi, T.J., Hokfelt, T. 1998. Galanin/GMAP- and NPY-like immunoreactivities in locus coeruleus and noradrenergic nerve terminals in the hippocampal formation and cortex with notes on the galanin-R1 and -R2 receptors. *J Comp Neurol*;392:227-251.
- Yakushev, I., Bartenstein, P., Siessmeier, T., Hiemke, C., Scheurich, A., Lotz, J., Fellgiebel, A., Muller, M.J. 2010. Cerebrospinal Fluid Tau Protein Levels and (18)F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography in the Differential Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*;30:245-253.
- Yamaguchi, M., Mori, K. 2005. Critical period for sensory experience-dependent survival of newly generated granule cells in the adult mouse olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A*;102:9697-9702.
- Yao, Z.X., Papadopoulos, V. 2002. Function of beta-amyloid in cholesterol transport: a lead to neurotoxicity. *Faseb J*;16:1677-1679.
- Yeshurun, Y., Sobel, N. 2010. An odor is not worth a thousand words: from multidimensional odors to unidimensional odor objects. *Annu Rev Psychol*;61:219-241, C211-215.
- Yilmazer-Hanke, D.M., Hanke, J. 1999. Progression of Alzheimer-related neuritic plaque pathology in the entorhinal region, perirhinal cortex and hippocampal formation. *Dement Geriatr Cogn Disord*;10:70-76.
- Yoshikawa, K. 2000. Cell cycle regulators in neural stem cells and postmitotic neurons. *Neurosci Res*;37:1-14.
- Young, J.W., Sharkey, J., Finlayson, K. 2009. Progressive impairment in olfactory working memory in a mouse model of Mild Cognitive Impairment. *Neurobiol Aging*;30:1430-1443.
- Yousem, D.M., Maldjian, J.A., Hummel, T., Alsop, D.C., Geckle, R.J., Kraut, M.A., Doty, R.L. 1999. The effect of age on odor-stimulated functional MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*;20:600-608.
- Yuan, Q., Harley, C.W., McLean, J.H. 2003. Mitral cell beta1 and 5-HT2A receptor colocalization and cAMP coregulation: a new model of norepinephrine-induced learning in the olfactory bulb. *Learn Mem*;10:5-15.
- Zaia, A., Viticchi, C., Piantanelli, L. 1992. Differential regulation of brain beta-adrenoceptor subpopulations in aging rodents. *Ann N Y Acad Sci*;673:200-205.
- Zald, D.H., Pardo, J.V. 1997. Emotion, olfaction, and the human amygdala: amygdala activation during aversive olfactory stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*;94:4119-4124.
- Zarow, C., Lyness, S.A., Mortimer, J.A., Chui, H.C. 2003. Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson diseases. *Arch Neurol*;60:337-341.
- Zatorre, R.J., Jones-Gotman, M. 1991. Human olfactory discrimination after unilateral frontal or temporal lobectomy. *Brain*;114 (Pt 1A):71-84.
- Zhang, C., McNeil, E., Dressler, L., Siman, R. 2007. Long-lasting impairment in hippocampal neurogenesis associated with amyloid deposition in a knock-in mouse model of familial Alzheimer's disease. *Exp Neurol*;204:77-87.
- Zhuo, J.M., Prescott, S.L., Murray, M.E., Zhang, H.Y., Baxter, M.G., Nicolle, M.M. 2007. Early discrimination reversal learning impairment and preserved spatial learning in a longitudinal study of Tg2576 APPsw mice. *Neurobiol Aging*;28:1248-1257.

- Ziabreva, I., Perry, E., Perry, R., Minger, S.L., Ekonomou, A., Przyborski, S., Ballard, C. 2006. Altered neurogenesis in Alzheimer's disease. *J Psychosom Res*;61:311-316.
- Zilka, N., Ferencik, M., Hulin, I. 2006. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: protector or promoter? *Bratisl Lek Listy*;107:374-383.