



HAL
open science

Signatures neurales de la perception hédonique des odeurs chez la souris

Maellie Midroit

► **To cite this version:**

Maellie Midroit. Signatures neurales de la perception hédonique des odeurs chez la souris. Neurosciences. Université de Lyon, 2018. Français. NNT : 2018LYSE1005 . tel-01796891

HAL Id: tel-01796891

<https://theses.hal.science/tel-01796891>

Submitted on 22 May 2018

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.



N°d'ordre NNT : xxx

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

**Ecole Doctorale Neurosciences et Cognition
(ED 476 - NSCo)**

Spécialité de doctorat : Neurosciences

Soutenue publiquement le 26/01/2018, par :

Maëllie MIDROIT

Signatures neurales de la valeur hédonique des odeurs chez la souris

Devant le jury composé de :

Pr Catherine BELZUNG (Professeure des Universités, Univ. Tours) – Rapporteur
Pr Anne DIDIER (Professeure des Universités, Univ. Lyon 1) – Examinatrice
Pr Jérôme GOLEBIOWSKI (Professeur des Universités, Univ. Nice) – Rapporteur
Pr Xavier GROSMAITRE (Professeur des Universités, Univ. De Bourgogne) – Examineur
Dr Nathalie MANDAIRON (Chargée de Recherche HDR, CNRS CRNL) – Directrice de thèse
Dr Marcello SOLINAS (Directeur de Recherche HDR, CNRS) – Examineur

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Président du Conseil Académique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil Formation et Vie Universitaire

Vice-président de la Commission Recherche

Directrice Générale des Services

M. le Professeur Frédéric FLEURY

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Didier REVEL

M. le Professeur Philippe CHEVALIER

M. Fabrice VALLÉE

Mme Dominique MARCHAND

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur G.RODE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. X. PERROT

Directeur : Mme la Professeure A-M. SCHOTT

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. THEVENARD

Directeur : Mme C. FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur G. TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. le Professeur J-C PLENET

Directeur : M. Y. VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. le Professeur E.PERRIN

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE

Mes travaux de thèse ont été réalisés au sein de l'équipe Neuroplasticité et Neuropathologie de la Perception Olfactive (Neuropop) dirigée par le Pr. Anne Didier du Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon (CRNL). Ils ont été effectués sous la direction du Dr. Nathalie Mandairon. Ces travaux ont été possibles grâce au financement de la Fondation Edmond Roudnitska (sous l'égide de la Fondation de France) et ont débuté en octobre 2014. Au cours de ma thèse j'ai également effectué un monitorat en Physiologie au sein de l'Université Claude Bernard Lyon 1 ce qui m'a permis d'avoir un aperçu du monde de l'enseignement. Grâce à un financement du Programme Avenir Lyon Saint-Etienne j'ai eu la chance de pouvoir effectuer un séjour de recherche d'un peu plus de 3 mois dans le laboratoire du Dr. Daniel Wesson aux Etats-Unis (Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, Ohio, USA) afin de compléter mes recherches, mes connaissances et mes compétences.

Avant-propos

Pourquoi cet intérêt pour les systèmes sensoriels ?

Nous ne connaissons notre environnement qu'au travers de nos sens.

Une des fonctions principales de notre cerveau est de détecter grâce à nos différents sens, les innombrables informations du monde extérieur, de les évaluer, les intégrer et d'induire une réaction appropriée. Pour ce faire, des cellules spécialisées (récepteurs sensoriels) permettent la transformation du message sensoriel en message nerveux qui code les différents aspects du stimulus sur la base de ses propriétés. Les messages provenant des différents organes sensoriels sont transportés vers le cerveau et entraînent une sensation, qui, interprétée en fonction de notre expérience, constitue la perception.

L'ensemble des modalités sensorielles se divise en sensibilité somesthésique et en sens dits 'spécifiques' que l'on connaît au nombre de cinq : l'odorat (ou olfaction), la vision, l'ouïe, le goût et le toucher.

Pourquoi ce choix de l'olfaction ?

L'odorat, le 'vilain petit canard' des sens.

L'olfaction ou odorat est un sens chimique qui permet la détection et l'analyse des molécules volatiles, appelées molécules odorantes ou odorants, portées par notre environnement. Chez l'animal, les molécules odorantes sont une source d'informations considérable qui permettent de repérer, localiser et choisir sa nourriture, de se reproduire, d'interagir socialement et d'éviter les prédateurs. En bref, l'olfaction permet à l'animal de survivre dans son environnement et de perpétuer son espèce.

Chez l'homme, c'est une autre histoire. Avec notre éternel besoin de nous dissocier du reste de la sphère du vivant, nous avons pendant longtemps dévalué, voire même dénigré, ce sens considéré comme un 'trait archaïque' (souligné par Annicke Le Guéer dans « Odorat et goût » (Salesse & Gervais, 2013)), une part rémanente de notre essence animale : les odeurs déclenchent des envies, des appétits insatiables et donc devaient être condamnées car elles sont nuisibles à l'équilibre de la société.

L'odorat fût même considéré comme impropre à la connaissance, comme en témoigne la maxime de Saint Bernard « odoratus impedit cogitationem » : les odeurs empêchent de penser, et nous l'avons affublé de nombreux titres discriminatoires : 'parent pauvre des sens' (Le

Guérer, 1998) ou encore ‘ingrat et inutile’ car trop relié au corps et à l’animalité (Kant). Nous pensions également que ce sens avait régressé lors de notre évolution à la bipédie, ce qui nous distinguait des autres animaux plus proches de la terre (Freud). La découverte de récepteurs olfactifs par Linda Buck et Richard Axel en 1991 et les travaux qui ont suivi n’ont pas été en faveur d’un changement d’opinion, bien au contraire. Le nombre des récepteurs olfactifs, évalué à 390 chez l’homme et 1035 chez la souris par exemple (Buck & Axel, 1991; Zhang & Firestein, 2002; Saito *et al.*, 2009), a renforcé cette vision réductionniste de l’importance de l’olfaction chez l’homme. Nous nous auto-qualifions même de microsmates, c’est-à-dire avec un sens olfactif moins développé que des animaux macrosmates comme les rongeurs compte tenu de notre nombre réduit de récepteurs. Pour toutes ces raisons, l’odorat apparaît moins important pour l’espèce humaine comparé à d’autres.

Pourtant, ces petits messagers chimiques que sont les odorants, sont une source d’informations intarissable pour l’homme également, malgré notre tendance à les sous-estimer. Du choix de la nourriture, par exemple d’un bon fromage de caractère pour tout bon Français qui se respecte, d’un cosmétique ou un parfum pour plaire à son partenaire, ou encore l’évitement de dangers (incendie, nourriture avariée...), les odeurs guident, motivent notre comportement et orientent nos choix au quotidien.

Le système olfactif est doté d’un étage récepteur et de plusieurs cortex (primaire et secondaires), qui sont eux-mêmes connectés à d’autres aires cérébrales non olfactives. Une telle organisation permet d’une part une grande finesse de détection et de traitement des différents stimuli olfactifs, et d’autre part, une intégration multi-sensorielle. Par exemple, l’odeur du mercaptan (qui est utilisé pour donner une odeur au propane) peut être détectée par l’homme à des concentrations de $0,2 \times 10^{-6}$ g/L (Yeshurun & Sobel, 2010) ou encore, la molécule de pyrrolidino[1,2-e]-4H-2,4-diméthyl-1,3,5-dithiazine peut être détectée à une concentration infime de 10^{-18} g/L d’eau, ce qui correspond à environ 4 µg dans une piscine olympique (Meierhenrich *et al.*, 2005). Une étude s’intéressant aux capacités de discrimination olfactive humaine, vient également étayer ces constatations en montrant que le nez humain pouvait discriminer plus de mille milliards de stimuli olfactifs (Bushdid *et al.*, 2014). Avec seulement quelques centaines de récepteurs olfactifs différents, le système olfactif humain dépasse de loin les autres sens dans le nombre de stimuli différents qu’il peut discriminer (plusieurs millions de couleurs différentes (Newhall, 1943; Pointer, 1998) et presque un demi-million de tonalités (Stevens, 1938). Il est ainsi difficile de continuer à considérer l’olfaction comme le « parent pauvre des sens » et de sous-estimer le pouvoir des odeurs.

Vous l'aurez deviné, le protagoniste de cette thèse sera l'olfaction. Dans la suite de ce manuscrit, le terme 'odorant' fera référence à la molécule et désignera le stimulus olfactif. Le terme 'odeur' sera réservé à la sensation odorante ou percept olfactif généré par l'odorant.

Pourquoi étudier la valeur hédonique des odeurs ?

Le terme hédonique vient originellement du grec ancien ἡδονή / *hēdonē*, « plaisir » puis dérivé ἡδύς / *hēdús*, « doux » ou « agréable ». L'hédonisme est une doctrine philosophique selon laquelle la recherche du plaisir et l'évitement du déplaisir constituent le but ultime de la vie. Les fondations directes d'une telle philosophie sont la curiosité et le goût pour l'existence d'une part, et d'autre part l'autonomie de pensée, le savoir et l'expérience du réel. De manière amusante, je trouve que cela correspond de très près à la définition du métier de chercheur que j'ai réalisé avec passion au cours de ces trois années de thèse.

Le terme hédonique fait aujourd'hui référence aux plaisirs sensoriels. Nous nous délectons d'aliments savoureux qui viennent émoustiller nos papilles, nous apprécions contempler un beau paysage et nous nous laissons volontiers charmer par les notes harmonieuses qui composent une belle musique ou enivrer par le délicat parfum d'une fleur ou de l'être aimé. Pour comprendre par quels mécanismes nous jouissons quotidiennement du monde qui nous entoure, l'étude des bases neurales de la perception hédonique apparaît comme essentielle.



"La recherche du parfum ne suit pas d'autre voie que celle de l'obsession"
(Colette)

Sommaire

RESUME.....	1
ABSTRACT.....	2
LISTE DES ABREVIATIONS.....	3
INTRODUCTION.....	5
L'OLFACTION, UN SENS COMPLEXE MULTIDIMENSIONNEL... MAIS SURTOUT HEDONIQUE.....	6
A – L'olfaction, un sens complexe multidimensionnel.....	6
1 – L'olfaction, un sens énigmatique.....	6
2 – Les diverses dimensions du percept olfactif.....	7
B – L'olfaction, un sens majoritairement hédonique.....	7
1 – La valeur hédonique : dimension principale du percept olfactif.....	7
1.1 – Chez l'homme.....	7
<i>Définition et évaluation de la valeur hédonique.....</i>	<i>7</i>
<i>La valeur hédonique guide les comportements.....</i>	<i>9</i>
<i>La valeur hédonique des odeurs, une dimension hautement plastique.....</i>	<i>10</i>
1.2 – Chez l'animal.....	12
<i>Définition et évaluation de la valeur hédonique.....</i>	<i>12</i>
<i>La valeur hédonique guide les comportements.....</i>	<i>13</i>
<i>La valeur hédonique des odeurs, une dimension hautement plastique.....</i>	<i>14</i>
ORGANISATION DU SYSTEME OLFACTIF PRINCIPAL.....	15
A – L'étage périphérique.....	16
1 – L'épithélium olfactif	16
2 – Les récepteurs olfactifs.....	17
2.1 – Introduction.....	17
2.2 – Sélectivité aux odeurs des neurorécepteurs olfactifs.....	17
2.3 – Les neurorécepteurs olfactifs, acteurs de la transduction.....	18
3 – Les projections épithélio-bulbaires : vers les glomérules.....	19
B – L'étage relai : le bulbe olfactif.....	20
1 – Organisation cyto-architecturale bulbaire.....	21
1.1 – Le bulbe olfactif possède une architecture en 6 couches.....	21
<i>La couche des nerfs olfactifs.....</i>	<i>21</i>

<i>La couche glomérulaire</i>	21
<i>La couche plexiforme externe et la couche des cellules mitrales</i>	22
<i>La couche plexiforme interne</i>	23
<i>La couche granulaire</i>	23
1.2 – Neurogenèse adulte.....	24
1.3 – Les afférences centrales sur le bulbe olfactif.....	25
2 – Intégration bulbaire de l'information olfactive.....	25
2.1 – Introduction.....	25
2.2 – Les interneurons inhibiteurs périglomérulaires et granulaires – véritables affineurs du message olfactif.....	26
<i>Les cellules périglomérulaires</i>	26
<i>Les cellules granulaires</i>	27
2.3 – Le bulbe olfactif : un centre mnésique.....	28
3 – Les efférences : transmission du message bulbaire vers les structures olfactives secondaires.....	29
C – L'étage cortical de traitement supérieur.....	31
1 – Les différentes structures corticales olfactives secondaires.....	31
1.1 – Le cortex piriforme.....	31
1.2 – Le noyau olfactif antérieur.....	33
1.3 – L'amygdale.....	33
1.4 – Le cortex entorhinal.....	34
1.5 – Le tubercule olfactif.....	34
<i>Le tubercule olfactif : un cortex olfactif unique</i>	34
Anatomie du TO.....	34
Innervation olfactive du TO (input olfactif).....	36
Connexions du TO avec les autres régions cérébrales.....	37
<i>Les différents rôles du tubercule olfactif</i>	40
Traitement de l'information olfactive.....	40
Véritable centre d'intégration multi-sensorielle.....	40
Comportements motivés.....	41
1.6 – Conclusion.....	41
ORGANISATION DU SYSTEME DE LA RECOMPENSE.....	41
A – Qu'est-ce qu'une récompense ?.....	41
B – Découverte d'un système spécifique de traitement des récompenses.....	42
C – L'inextricable relation Dopamine-Récompense.....	42
D – Le réseau dopaminergique méso-cortico-limbique.....	44
1 – La voie méso-limbique.....	45
1.1 – Le striatum ventral.....	45
<i>Le noyau accumbens</i>	45

<i>Le tubercule olfactif</i>	47
1.2 – Le pallidum ventral.....	47
2 – La voie méso-corticale : importance du cortex orbitofrontal.....	48
B – Système de la récompense et olfaction.....	50
 LE CODAGE CEREBRAL DE LA VALEUR HEDONIQUE DES ODEURS.....	51
A – Chez l’homme.....	51
B – La valeur hédonique des odeurs : théorie de l’acquis vs théorie de l’inné.....	54
C – Chez l’animal.....	58
1 – Codage de la valeur hédonique innée et étage périphérique.....	58
2 – Codage de la valeur hédonique innée et étage bulbaire.....	58
3 – Codage de la valeur hédonique innée et étage central.....	59
4 – Conclusion.....	62
 OBJECTIFS DE LA THESE.....	63
 RESULTATS.....	66
ETUDE 1 : Etude de la signature neurale de la valeur hédonique innée des odeurs dans le bulbe olfactif (publiée).....	67
<i>Résumé étude 1</i>	85
ETUDE 2 : Développement d’une méthode de cartographie cérébrale à haute-résolution permettant de recaler l’activité neuronale dans un atlas de référence (en préparation).....	86
<i>Résumé étude 2</i>	114
ETUDE 3 : Et au-delà du BO ? Elucider les circuits neuronaux qui sous-tendent le traitement de la valeur hédonique des odeurs et qui supportent l’attraction qu’elles induisent (en préparation).....	115
<i>Résumé étude 3</i>	158
 DISCUSSION GENERALE.....	159
ATTRACTION OU REPULSION SPONTANNEMENT INDUITE PAR DES ODORANTS NON-BIOLOGIQUES.....	161
SIGNATURE NEURALE DE LA VALEUR HEDONIQUE INNEE DES ODEURS..	162
A – La valeur hédonique des odeurs est encodée dès le bulbe olfactif.....	163
B – La signature neurale hédonique est transmise de manière singulière aux structures olfactives secondaires.....	165

1 – Absence de mise en évidence d’une réponse hédonique dans les structures olfactives secondaires.....	165
2 – La singularité du tubercule olfactif dans la représentation la valeur hédonique des odeurs.....	168
C – Le système de la récompense est recruté par les odeurs selon leur valeur hédonique.....	171
UNE ODEUR = UNE RECOMPENSE ?.....	175
A – Préférence de place conditionnée.....	175
B – La dopamine joue un rôle central dans la motivation et la récompense.....	176
C – Auto-stimulation du bulbe olfactif.....	178
D – Quelle pourrait être la nature du pouvoir récompensant d’une odeur sans signification biologique ?.....	180
LA REPRESENTATION DE LA VALENCE HEDONIQUE POURRAIT-ELLE ETRE LATERALISEE ?.....	181
CONCLUSION GENERALE.....	182
PERSPECTIVES.....	183
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	185
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	221
ANNEXES.....	222
Annexe 1 : La plasticité hors du commun du système olfactif (publié).....	223

Résumé

Chez l'homme comme chez l'animal, les odeurs guident et motivent le comportement comme le choix de la nourriture, d'un partenaire ou l'évitement d'un danger comme un incendie. La valeur hédonique (le caractère plus ou moins plaisant) est la dimension principale du percept olfactif. Elle dicte les comportements d'attraction ou de fuite. Bien que cette valeur hédonique soit façonnée et acquise par l'expérience, certaines odeurs non-familiales sont spontanément attractives ou répulsives ce qui suggère une composante prédéterminée (innée) de la valeur hédonique des odeurs. Dans ce contexte, l'objectif de ma thèse est de déterminer la signature neurale de la valeur hédonique innée des odeurs.

Premièrement (étude 1), nous avons testé le niveau d'attractivité spontanée d'une série d'odorants non-biologiques non-expérimentés, puis nous avons analysé l'activité neuronale en réponse aux odeurs spontanément attractives (plaisantes) et répulsives (déplaisantes) grâce à la cartographie de l'expression du gène précoce Zif268 dans le bulbe olfactif, premier relai central de l'information olfactive. Cette expérience nous a permis de révéler une signature neurale de la valeur hédonique des odeurs le long de l'axe antéro-postérieur du bulbe olfactif que nous avons validé par optogénétique. En effet, des changements de l'activité neurale dans cette zone modulent le niveau d'attractivité des odeurs.

Subséquentement, nous avons recherché comment le message hédonique des odeurs était interprété par les centres supérieurs. Dans ce but, nous avons développé une méthode (étude 2) permettant de recalibrer les cerveaux expérimentaux dans un atlas de référence assurant une cartographie plus rapide, précise et fiable des neurones activés en réponse aux odeurs dans les différentes régions cérébrales. Ainsi et pour terminer, en combinant cette méthode d'imagerie cellulaire à des approches comportementales, optogénétiques, électrophysiologiques et pharmacologiques (étude 3), nous avons montré que l'attraction spontanée des odeurs non-biologiques était dictée par le système de récompense, et donc qu'une odeur non-biologique et non conditionnée au préalable agirait comme une récompense, motivant alors les comportements d'approche et de retrait.

Discipline : Neurosciences

Mots clefs : Olfaction, valeur hédonique, attractivité, imagerie cellulaire, enregistrements unitaires extracellulaires, optogénétique, bulbe olfactif, tubercule olfactif, système de la récompense.

Abstract

In all species including humans, odors guide and motivate behavior such as the choice of food, a partner, or the avoidance of a danger like a fire. The hedonic value (pleasantness) is the main dimension of olfactory perception. It dictates attraction or avoidance behavior. Although this hedonic value is shaped by experience, unfamiliar odorants are spontaneously attractive or repulsive, suggesting a predetermined (innate) component of the odor hedonic value. In this context, the aim of my thesis is to determine the neural signature of innate hedonic value of odors.

First (study 1), we tested the level of spontaneous attractiveness of a series of unexperienced non-biological odors, then we analyzed the neuronal activity in response to spontaneously attractive (pleasant) and repulsive (unpleasant) odorants thanks to the mapping of the early gene *Zif268* expression in the olfactory bulb, the first central relay of olfactory information. This experiment revealed a neural signature of the odorants hedonic value along the antero-posterior axis of the olfactory bulb that we then validated by optogenetics. Indeed, changes in neural activity in this area modulate the level of odor-attractiveness.

Then, we investigated how the information of the hedonic component of odorants was interpreted by higher brain centers. To this end, we have developed a method (study 2) for matching the experimental brains in a reference atlas ensuring a faster, more accurate and reliable mapping of activated neurons in response to odors in different brain regions. Finally, by combining this cellular imaging method with behavioral, optogenetic, electrophysiological and pharmacological approaches (study 3), we have shown that the spontaneous attraction of non-biological odors is dictated by the reward system, and that a non-biological and unconditioned odor can act as a reward, motivating the approach and repulsive behaviors.

Discipline: Neurosciences

Key words: Olfaction, hedonics, attractiveness, cellular imagery, extracellular unit recordings, optogenetics, olfactory bulb, olfactory tubercle, reward system

Liste des abréviations

2-MB	Acide 2-MéthylButyrique
AON	Noyau Olfactif Antérieur
BO	Bulbe Olfactif
Cellule GR	Cellule Granulaire
Cellule M	Cellule Mitrale
Cellule P	Cellule à Panache
Cellule PG	Cellule Périglomérulaire
DA	Dopamine
EntCx	Cortex Entorhinal
EO	Epithélium Olfactif
GABA	Acide γ -AminoButyrique
HbL	Habénula Latérale
IC	Îlot de Calleja
IRMf	Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle
LOT	Tractus Olfactif Latéral
MSN	Medium spiny neuron (neurone de projection épineux)
MTMT	MéthylThio-MéthylThiol
NAc	Noyau Accumbens
NAcShell	Noyau Accumbens partie Shell
NAcCore	Noyau Accumbens partie Core
NpHR	<i>Natronomonas</i> halorhodopsin

(Souris injectées avec le lentivirus Lenti-hSyn-NpHR-EYFP)

OR	Récepteur Olfactif
OSN	Neurone Olfactif Sensoriel ou neurorécepteur
OFC	Cortex OrbitoFrontal
OFCm	Cortex OrbitoFrontal médial
PFC	Cortex Préfrontal
PFCm	Cortex Préfrontal médial
PirCx	Cortex Piriforme
PirCxa	Cortex Piriforme antérieur
PirCxp	Cortex Piriforme postérieur
plCoA	Amygdale Corticale postéro-latérale
TAAR	Trace Amine-Associated Receptor
TEP	Tomographie par Emission de Positons
TMT	2,5-dihydro-2,4,5-TriMéthylThiazoline
TO	Tubercule Olfactif
TOl	Tubercule Olfactif latéral
TOm	Tubercule Olfactif médial
VP	Pallidum Ventral
VS	Striatum Ventral
VTA	Aire Tegmentale Ventrale
VTAp	Aire Tegmentale Ventrale postérieure

Introduction

L'OLFACTION, UN SENS COMPLEXE MULTIDIMENSIONNEL... MAIS SURTOUT HEDONIQUE

A - L'olfaction, un sens complexe multidimensionnel

1 - L'olfaction, un sens énigmatique

Dans la nature, les informations portées par les odeurs sont une source considérable de renseignements essentielle à la survie de l'espèce. Elles permettent de localiser des sources de nourriture, de les identifier, de se reproduire, d'éviter les prédateurs....

Le système olfactif des mammifères est capable de traduire l'information olfactive en une réponse comportementale adéquate. Cette relation entrée sensorielle - sortie comportementale est loin d'être simple. La difficulté réside dans l'extraordinaire diversité des odorants de notre monde. Prenons l'exemple simple d'une pomme. Tout le monde reconnaît l'odeur d'une pomme. En réalité, une pomme émet une combinaison de plus de 100 molécules odorantes différentes, présentes à des concentrations différentes, qui sont détectées, analysées et combinées par notre système olfactif pour nous amener d'une part à la reconnaissance de l'odeur de la pomme mais en plus à la capacité de distinguer différentes catégories de pommes. Afin de simplifier les analyses, la recherche fondamentale en olfaction utilise souvent des odorants mono-moléculaires ou des mixtures de quelques molécules afin d'étudier les bases cérébrales de la perception olfactive.

Une des particularités de la perception olfactive est donc sa complexité. Les odorants appartiennent à de nombreuses classes chimiques : alcools, aldéhydes, amides, amines, esters, éthers, composés halogénés, cétones, nitriles, phénols, composés soufrés, etc...(Arctander, 1994). Les molécules sont de taille et de forme variables, présentent différentes fonctions chimiques, à des positions différentes ainsi que des degrés d'insaturation divers (Arctander, 1994; Johnson & Leon, 2007). Les odorants présentent des propriétés physico-chimiques très diverses avec des masses moléculaires (de quelques grammes/mol pour certains à plus de 400 grammes/mol pour d'autres (Dravnieks, 1985; Arctander, 1994)) ou pressions de vapeur qui peuvent être très différentes.

Alors qu'en vision ou en audition, la lumière et le son peuvent être facilement décrits par des mesures physiques simples comme la longueur d'onde ou la fréquence, l'incroyable diversité structurale des odorants fait que la perception olfactive ne peut pas être prédite sur la base des propriétés physiques des stimuli (Agapakis & Tolaas, 2012). En effet, des molécules de structures très similaires peuvent avoir des odeurs très voisines ou au contraire très différentes

(Meierhenrich *et al.*, 2005). Par exemple, deux molécules énantiomères, qui sont les images non superposables l'une de l'autre dans un miroir plan, peuvent être perceptuellement très différentes (exemple de la (+) Carvone / (-) Carvone) ou totalement indissociables sans entraînement olfactif (cas du (+) Limonène / (-) Limonène). D'un autre côté, des structures très différentes peuvent donner des odeurs similaires (comme certains macrocycles et composés nitrés à odeur de musc).

Le lien entre la structure des molécules odorantes et le percept olfactif qui en découle, reste aujourd'hui encore confus et fait de l'olfaction un sens très énigmatique.

2 - Les diverses dimensions du percept olfactif

Parmi les différentes dimensions du percept olfactif, la grande majorité des études en olfaction réalisées chez l'homme s'intéressent à trois caractéristiques fondamentales de l'odeur : l'intensité, la qualité ou identité et la valeur hédonique. Les autres dimensions, telles que la familiarité ou la comestibilité par exemple, ne seront pas abordées ici.

L'intensité de l'odeur est proportionnelle à la concentration de l'odorant dans l'air inhalé. Est-ce que cette odeur est très forte ou au contraire faible ?

L'identité de l'odeur, c'est le fait de la nommer. Que représente cette odeur ? Une banane ? Plutôt une rose ?

La valeur hédonique ou valence de l'odeur représente son caractère plus ou moins agréable. Est-ce que je trouve cette odeur plaisante ou déplaisante ? Cette dimension, que nous allons décrire ci-après, se définit comme étant la dimension principale du percept olfactif et sera le sujet principal de cette thèse.

Il est à noter que selon certains auteurs, la valeur hédonique et l'intensité perçue seraient des paramètres perceptifs en partie corrélés (Henion, 1971; Distel *et al.*, 1999). En effet, l'odeur de certains composés a tendance à devenir désagréable à forte concentration.

B - L'olfaction, un sens majoritairement hédonique

1 - La valeur hédonique : dimension principale du percept olfactif

1.1 - Chez l'homme

Définition et évaluation de la valeur hédonique

Si vous demandez à quelqu'un de sentir un odorant, vous pouvez être assuré que sa première réaction sera de dire 'j'aime' (en ressentant plusieurs fois l'odorant) ou 'je n'aime pas' (en

éloignant la source odorante). Ainsi ce caractère plus ou moins plaisant du stimulus olfactif est le reflet de ce qui est communément appelé la valeur hédonique ou valence de l'odeur.

Parmi les trois dimensions fondamentales du percept olfactif, la valeur hédonique en est la principale. La preuve en est que la simple lecture des termes couramment employés dans la langue française pour désigner les odeurs (parfum, senteur, fragrance, effluve, exhalaison, puanteur, bouquet, remugle, miasme...(David, 2002)) fait immédiatement écho à la dimension de valeur hédonique de l'odeur, plutôt qu'à son intensité ou à sa qualité. L'importance de cette dimension se reflète également par l'émergence d'expressions directement en lien avec la valeur hédonique des odeurs : « Je ne peux pas le sentir », « ça sent le roussi », « ça sent la fin », « fais comme tu sens », « ça sent pas la rose », « je le sens bien » etc... De plus, en recherche expérimentale, la valeur hédonique est le premier critère que nous utilisons pour décrire et catégoriser les odeurs, avant même de les nommer (Schiffman, 1974; Richardson & Zucco, 1989; Dubois & Rouby, 2002; Yeshurun & Sobel, 2010) et en absence de consigne particulière quant à la nature du critère de similarité, les sujets regroupent spontanément les odeurs selon leur caractère plus ou moins plaisant (Wise *et al.*, 2000).

La valeur hédonique d'une odeur est généralement évaluée grâce à l'utilisation d'échelles ordinales allant de 1 (très déplaisant) à 9 (très plaisant) (Stevens, 1958; Poncelet *et al.*, 2010).

La vitesse d'évaluation peut être mesurée et prise en compte pour déterminer la valeur hédonique des odeurs. En effet, il a été révélé que nous évaluons plus rapidement les odeurs considérées comme déplaisantes par rapport aux odeurs considérées plaisantes (Bensafi *et al.*, 2002b) ce qui soulève l'hypothèse d'un traitement par des circuits cérébraux différents. Le volume et le débit de l'inspiration, aussi appelé sniff, en présence de l'odeur, peuvent être également utilisés comme témoin du jugement hédonique. Une odeur plaisante génère une inspiration plus ample qu'une odeur déplaisante, ce qui est aussi vrai en condition de représentation mentale, lorsque les participants s'imaginent l'odeur (Bensafi *et al.*, 2003; Bensafi *et al.*, 2007; Mandairon *et al.*, 2009).

De par leur forte teinte émotionnelle, il est également possible d'évaluer la perception hédonique des odeurs en quantifiant les réponses neurovégétatives des individus. Les odeurs déplaisantes provoquent une augmentation du rythme cardiaque ainsi que de la conductance de la peau (reflet de la sudation) par rapport aux odeurs plaisantes (Brauchli *et al.*, 1995; Alaoui-Ismaili *et al.*, 1997a; Alaoui-Ismaili *et al.*, 1997b; Bensafi *et al.*, 2002a). Ainsi la valeur hédonique d'une odeur agit fortement sur notre état émotionnel.

La valeur hédonique guide les comportements

De façon générale, l'olfaction joue un rôle essentiel chez l'homme. D'une part, la dimension hédonique guide la prise alimentaire. En effet, elle contribue au plaisir de manger, en permettant la sélection d'aliments savoureux et nutritifs, mais elle va aussi nous alerter d'un danger et permettre le rejet de nourriture avariée. Par exemple l'odeur agréable de pain sorti du four est, dans la plupart des cas, plaisante, tandis que l'odeur de viande avariée provoque une réaction de répulsion. La valeur hédonique conditionnerait également la satiété d'un aliment en modifiant la valeur hédonique de son odeur (Rolls & Rolls, 1997). Au début de la consommation de l'aliment, son odeur est plaisante puis devient finalement moins plaisante à force de consommation, ce qui conditionnerait l'arrêt de la prise.

D'autre part, la dimension hédonique oriente notre engagement dans une variété de relations sociales, comme la recherche du partenaire idéal ou encore la relation parent-enfant. Par exemple, des études ont montré que nous préférons les odeurs corporelles d'individus dont le patrimoine génétique est éloigné du nôtre (Wedekind *et al.*, 1995; Wedekind & Furi, 1997). Dans ces études, les sujets avaient pour consigne d'évaluer l'odeur de T-shirts préalablement portés par des individus de sexe opposé. Les sujets jugeaient l'odeur des T-shirts portés par des personnes génétiquement éloignées davantage plaisante que celle des T-shirts portés par des personnes génétiquement plus proches. Cette préférence aurait un intérêt évolutif en permettant un brassage génétique plus important et donc une plus grande diversité génotypique de la descendance. Récemment il a été montré qu'elle conditionnerait même la qualité de la relation de couple, la satisfaction sexuelle et le désir d'avoir des enfants (Kromer *et al.*, 2016).

Enfin, la dimension hédonique nous permet également de fuir les situations de danger (comme une fuite de gaz). Dans ce contexte, un nombre croissant de travaux suggère que les humains pourraient déceler des situations menaçantes via les signaux olfactifs émis par les hommes (Chen & Haviland-Jones, 2000; Ackerl *et al.*, 2002; Prehn *et al.*, 2006; Mujica-Parodi *et al.*, 2009; Zhou & Chen, 2009; de Groot *et al.*, 2012) qui servirait une fonction d'adaptation pour éviter un danger imminent. Par exemple, la diffusion d'une odeur de sueur prélevée chez des individus lors d'une situation stressante augmente la réaction de peur des sujets lors de la présentation d'un son menaçant (Prehn *et al.*, 2006).

Il me paraît intéressant de citer qu'au-delà de ces comportements cruciaux pour notre survie, la valeur hédonique des odeurs s'emploie aussi à guider une vaste gamme de comportements concernant les plaisirs. La valeur hédonique des odeurs est mise à profit dans le choix d'un cosmétique ou parfum (pourquoi certains choisiront « n°5 » de chez Chanel plutôt que « Shalimar » de Gerlain) ou encore pour la consommation préférentielle d'un vin rouge par

rapport à un blanc par exemple. Il est intéressant de noter que ces plaisirs quotidiens semblent surtout dirigés par la composante positive. Nous recherchons ce qui nous fait du bien. En effet, chez nos populations de plus en plus anxieuses (13,6% de la population Européenne souffrent d'anxiété), la recherche des plaisirs sensoriels augmente. De ce fait, la diffusion d'odeurs plaisantes ainsi que l'aromathérapie sont des pratiques en vogue. Leur utilisation est mise à profit, notamment en clinique ou dans les maisons de retraite, pour réduire l'anxiété. Des études ont montré que la diffusion d'odeurs plaisantes amélioreraient l'humeur et diminueraient le stress (Schiffman *et al.*, 1995a; Schiffman *et al.*, 1995b; Nakashima *et al.*, 2004; Abriat *et al.*, 2007; Jousain *et al.*, 2014). Dans un autre registre, l'utilisation d'odeurs plaisantes est également exploitée en marketing pour orienter le choix des consommateurs.

La société devient de plus en plus hédoniste et donc plus attentive aux émotions véhiculées par les odeurs. Malgré tout, les mécanismes cérébraux sous-jacents ne sont que peu connus.

La valeur hédonique des odeurs, une dimension hautement plastique

La perception hédonique des odeurs est tributaire de multiple facteurs (Rouby *et al.*, 2009). Elle dépend des caractéristiques du stimulus lui-même, de sa concentration, de sa fréquence d'exposition. Elle dépend également du perceveur (celui qui sent l'odeur), de son âge, son sexe, son statut hormonal, son statut émotionnel, son état physiologique et de ses connaissances linguistiques par exemple. Enfin, elle dépend du contexte (expérimental, culturel et sémantique) dans lequel le perceveur sent l'odeur. Nous savons par exemple que la familiarité, la culture et l'expérience façonnent notre perception hédonique. Ainsi, nous attribuons une valeur hédonique plus positive aux odeurs fréquemment rencontrées dans notre environnement (Pangborn *et al.*, 1988; Ferdenzi *et al.*, 2011).

Concernant la culture, nous, Français, adorons généralement l'odeur des fromages, les Asiatiques préfèrent l'odeur du fruit durian que l'on a comparé à l'odeur de putois ou d'égouts. Une étude réalisée en 2010 par Poncelet et ses collaborateurs montre que l'odeur de menthe est évaluée plus plaisante par des Français d'origine Algérienne où la consommation de thé à la menthe est précoce et fréquente, que par des Français originaires d'Europe qui n'ont pas cette culture. De manière intéressante, la valeur hédonique de l'odeur de rose, odeur qui possède la même influence culturelle pour les deux groupes, est évaluée similairement (Poncelet *et al.*, 2010). Un autre exemple est celui de l'odeur de gaulthérie. Cette odeur compose souvent les friandises aux États-Unis, est très appréciée par les Américains. A l'inverse en Europe, on la retrouve beaucoup dans les produits de soins médicaux, ce qui lui confère une valeur hédonique plutôt négative (Wysocki *et al.*, 1991).

Concernant l'effet de l'expérience, il a été montré que par exemple l'odeur d'eugénol, caractéristique des cabinets dentaires, est évaluée déplaisante et associée à un sentiment de peur, de colère ou de dégoût chez des individus qui ont vécu une mauvaise expérience chez le dentiste. Au contraire, cette odeur apparaît comme plaisante et provoque un sentiment de joie chez des sujets qui ne relatent pas de problème particulier lors des soins dentaires (Robin *et al.*, 1999).

Ainsi une même odeur peut avoir une valeur hédonique différente en fonction de l'association positive ou négative réalisée. Ainsi, les associations mnésiques influencent très fortement la perception hédonique des odeurs, en fonction des contextes dans lesquels les odeurs sont rencontrées ou encore en fonction des événements autobiographiques (Proust, 1922; Robin *et al.*, 1999; Chu & Downes, 2000; Forestell & Mennella, 2005).

Un autre exemple est celui de l'influence des autres sens dans l'évaluation hédonique des odeurs. En effet, il a été montré que la vue d'un vin blanc coloré en rouge modifiait les propriétés olfactives perçues pour les amener vers celles d'un vin rouge (Morrot *et al.*, 2001). Enfin, la valeur hédonique est sensible au contexte sémantique puisqu'elle se voit modulée lorsqu'elle est associée à des descripteurs verbaux (Herz, 2003; Djordjevic *et al.*, 2008).

Comme nous venons de le voir, la culture, l'apprentissage et l'expérience sculptent la valeur hédonique des odeurs qui est ainsi modulée tout au long de la vie. De manière intéressante, des études attestent que les nouveaux nés présenteraient déjà des préférences olfactives dès les premières heures post-natales. Soussignan et collaborateurs ont montré que les nouveaux nés répondaient par un comportement de dégoût (caractérisé par un retoussement du nez et une élévation de la lèvre supérieure) à l'odeur d'acide butyrique évaluée comme déplaisante par les adultes (Soussignan *et al.*, 1997). D'autres études ont montré que les nourrissons étaient naturellement attirés par l'odeur du sein de leur mère (Varendi *et al.*, 1994) et par l'odeur du lait maternel même lors de naissances prématurées (Bingham *et al.*, 2007). Ceci confirme le traitement précoce et potentiellement prédéterminé de la dimension hédonique des odeurs chez l'homme (Soussignan & Schaal, 2001). Toutefois, malgré des tests réalisés immédiatement après la naissance, les nourrissons sont loin d'être complètement novices en termes de perception olfactive. L'environnement in utero est propice à des expériences olfactives. Les nourrissons dont la mère a consommé de l'anis pendant sa grossesse développent une préférence envers cette odeur, qui suscite à l'inverse des réactions neutres voire même de dégoût chez les autres nourrissons (Schaal *et al.*, 2000).

En 2002, Köster suggère que la perception hédonique humaine posséderait une composante innée/prédéterminée qui serait restreinte à l'aversion pour les molécules odorantes dégagées

par les substances en décomposition (Köster, 2002). Des recherches récentes en lien avec cette vision montrent que le comportement aversif envers ces odeurs de décomposition peut avoir un fondement inné grâce à l'activation d'un groupe de récepteurs olfactifs spécialisés dans l'épithélium olfactif découvert au début du millénaire : les Trace Amine-Associated Receptors (TAARs) (Borowsky *et al.*, 2001; Bunzow *et al.*, 2001; Hussain *et al.*, 2013; Horowitz *et al.*, 2014; Li & Liberles, 2015), dont nous reparlerons dans une prochaine section. Présents chez la plupart des vertébrés dont l'homme, les TAARs se sont avérés détecter spécifiquement des molécules odorantes connues pour évoquer des réponses comportementales innées, sans avoir besoin d'une exposition préalable aux odorants.

Ensembles, ces données suggèrent que la valeur hédonique d'une odeur naîtrait d'une combinaison de valeur hédonique innée et d'influence de l'expérience.

1.2 - Chez l'animal

Définition et évaluation de la valeur hédonique

Chez les rongeurs aussi, la valeur hédonique représente la dimension principale de l'olfaction, en dictant la majorité des comportements (voir ci-après). Ils apparaissent alors comme d'excellents modèles pour étudier les bases neurales de la valeur hédonique des odeurs. Si déterminer la valeur hédonique d'une odeur est tâche aisée chez l'homme, grâce à la verbalisation possible des sensations, la capacité à les noter sur une échelle ordinale, ou encore grâce à des mesures comportementales et physiologiques, elle est moins évidente chez l'animal. Comment évaluer si la souris aime ou n'aime pas une odeur ? Puisque la notion de plaisir olfactif est difficilement évaluable, nous parlerons plutôt de préférences olfactives ou d'attractivité. Comme chez l'homme, chez l'animal les odeurs vont générer des comportements d'approche (attraction) ou de retrait (évitement/aversion) que nous pouvons directement évaluer par une approche comportementale simple en mesurant le temps d'exploration ou le nombre de visite à la source odorante par exemple (Kobayakawa *et al.*, 2007; Mandairon *et al.*, 2009; Kermen *et al.*, 2016). L'évaluation des préférences olfactives chez les animaux est donc indirecte et provient d'inférences établies à partir de données comportementales (Doty, 2003). Il est important de noter que les odeurs qui induisent plaisir et dégoût sont reflétées par un comportement d'approche et d'évitement chez l'homme également, où le volume d'air inhalé est corrélé au temps d'exploration de l'odeur (Mandairon *et al.*, 2009).

Dans la suite de cet exposé qui s'intéresse au modèle de la souris, le terme 'valeur hédonique' fera référence à l'attractivité et les termes d'odeurs 'plaisantes' et 'déplaisantes' seront employés pour caractériser les odeurs attractives et peu attractives respectivement.

La valeur hédonique guide les comportements

Chez l'animal, les odeurs peuvent attirer, comme les odeurs de nourriture palatable/riche en énergie ou celle d'un congénère, et peuvent repousser, comme celles de prédateurs ou de pathogènes (Li & Liberles, 2015).

Les odeurs orientent les relations parents-jeunes. Par exemple, il a été montré qu'immédiatement après la naissance et pendant les premières semaines de vie, les jeunes sont attirés par les signaux olfactifs émis par leur mère, les guidant alors vers la mamelle ce qui conditionne l'allaitement. Cette attraction est remarquable avant même la première expérience de tétée suggérant un mécanisme olfactif prédéterminé (Nyakas & Endroczi, 1970; Leon & Moltz, 1971; 1972; Al Ain *et al.*, 2013). Les odeurs présentes dans l'environnement du nid génèrent des préférences olfactives (Porter & Etscorn, 1974) qui peuvent également influencer les futurs comportements sociaux (Brown, 1986). De plus, il a été montré que l'odeur des jeunes est attractive pour les parents mais peut être aversive chez des animaux non sexuellement expérimentés (Numan, 2006).

Les animaux utilisent les odeurs également pour les comportements sociaux inter-individuels. Par exemple, les souris sont attirées par les odeurs émises par leurs congénères. Il a été notamment montré que plusieurs odorants retrouvés dans l'urine des souris leurs sont attractifs (comme la triméthyl-amine ou encore la molécule de méthylthio-méthylthiol (MTMT)) (Jemiolo *et al.*, 1991; Lin *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2013). Les odeurs guident également l'évitement des prédateurs. Par exemple, la molécule de 2-phényléthylamine produite par les carnivores, ou encore la 2,5-dihydro-2,4,5-triméthylthiazoline (TMT) produite par le renard, sont aversives pour les souris (Kobayakawa *et al.*, 2007; Ferrero *et al.*, 2011). De façon intéressante, cette réponse comportementale semble solidement ancrée pour l'espèce considérée étant donné que ces odeurs sont déjà aversives lors de la première exposition des animaux naïfs.

Outre les odeurs de prédateurs, les souris évitent également le dioxyde de carbone (CO₂) (Hu *et al.*, 2007), les odeurs de nourriture avariée (comme l'isoamylamine, les acides et aldéhydes aliphatiques (Kobayakawa *et al.*, 2007)) et celles émises par des organismes morts (comme la cadavérine ou la putrescine (Hussain *et al.*, 2013). La cadavérine ou la putrescine sont des diamines biogéniques issues de la décomposition des tissus animaux. Ces diamines sont connues pour engendrer des comportements très variés en fonction des espèces et de leur niche

écologique. Chez certaines espèces (souris, zébrafish et homme), elles sont aversives et signalent un danger potentiel (Yao *et al.*, 2009; Prounis & Shields, 2013; Wisman & Shrira, 2015), tandis qu'elle est attractive chez d'autres (rat, insectes et poisson rouge) et signalent une source de nourriture (Hamana & Matsuzaki, 1984; Heale *et al.*, 1996; Rolen *et al.*, 2003).

Il est important de souligner que les comportements d'approche et de retrait mentionnés dans ce paragraphe se font en réponse à des odeurs à forte connotation biologique. L'une des rares études menées sur les préférences olfactives spontanées des rongeurs pour des odeurs non biologiques, révèle aussi l'existence d'odeurs plus ou moins attractives. En effet, les souris présentent un comportement exploratoire significativement différent pour des odeurs sans signification biologique particulière. Par exemple, elles explorent plus longtemps le limonène (une odeur de d'agrumes) que le guaiacol (une odeur âcre et légèrement fumée) (Mandairon *et al.*, 2009). Il faut noter que les odeurs longuement explorées par les souris (très attractives) l'ont également été par les sujets (volume d'air inhalé ample) qui les ont aussi jugées très plaisantes ; les odeurs les moins explorées par les souris (peu attractives) ont été peu échantillonnées par les sujets (volume d'air inhalé faible) qui les ont évaluées déplaisantes. Ces résultats sont en faveur d'une conservation des préférences olfactives chez les mammifères et suggèrent que la valeur hédonique est en partie prédéterminée.

La valeur hédonique des odeurs, une dimension hautement plastique

Chez l'animal également, la valeur hédonique est très plastique et est modulée par l'expérience. C'est notamment en contexte d'apprentissage qu'elle a été principalement étudiée. Toute une gamme de protocoles d'apprentissages comportementaux, visant à associer une odeur (stimulus considéré initialement neutre), avec un stimulus ayant une valeur renforçante positive (comme une récompense alimentaire) ou négative (comme un choc électrique) pour l'animal, conduisent à une modification des préférences olfactives suivant de la valeur hédonique apprise de l'odeur. Par exemple, l'exposition répétée du très jeune rongeur à une odeur de menthe en même temps qu'il reçoit une stimulation tactile mimant la présence de sa mère induit une préférence pour cette odeur (Sullivan & Leon, 1986). D'autre part, chez le rongeur adulte, une réponse de peur (freezing) à l'odeur et d'évitement peut être induite par un unique couplage de l'odeur avec un choc électrique aux pattes. Après conditionnement, l'odeur a acquis les caractéristiques hédoniques du stimulus (négatif, choc électrique) qu'elle prédit et la simple présentation de l'odeur induit le freezing (Hegoburu *et al.*, 2009). De plus, une approche ou un évitement durable de l'odeur peut être provoqué en couplant cette dernière avec un renforcement positif ou négatif (par exemple, l'ingestion d'eau sucrée ou amère (Kay & Laurent, 1999)).

Pour conclure, le quotidien d'un humain ou d'un animal est fortement régi par la valeur hédonique des odeurs. Cette dernière génère un nombre important de comportements cruciaux et se révèle être une dimension essentielle de la fonction olfactive.

Comprendre l'origine de ces comportements nécessite le décryptage des mécanismes neuronaux qui sous-tendent la valeur hédonique des odeurs. Cette thèse a été rédigée à cette fin et tente donc d'apporter des connaissances nouvelles quant aux bases neurales qui régissent la valeur hédonique des odeurs. Il apparaît nécessaire de décrire l'organisation anatomique et fonctionnelle du système olfactif, et la section suivante s'y emploie.

ORGANISATION DU SYSTEME OLFACTIF PRINCIPAL

L'anatomie du système olfactif des mammifères a été spécifiée au cours du siècle dernier en utilisant une combinaison d'approches telles que des traceurs anatomiques, génétiques, des techniques d'imagerie et d'électrophysiologie, et a conduit à la distinction de deux systèmes olfactifs anatomiquement et fonctionnellement distincts (Lledo *et al.*, 2005) : le système olfactif accessoire et le système olfactif principal.

Le système olfactif accessoire permet principalement la détection et le traitement des informations portées par les phéromones qui sont des substances produites par un organisme induisant des réponses physiologiques et comportementales chez un autre membre de l'espèce ou entre espèces. Ce système est donc notamment requis pour l'établissement des comportements sociaux (Halpern & Martinez-Marcos, 2003). Il est constitué d'un organe voméronasal, présentant des neurorécepteurs spécifiques aux phéromones (Rodriguez, 2004), et d'un bulbe olfactif accessoire, traitant uniquement des informations provenant de l'organe voméronasal. Chez l'homme son existence est encore controversée (Meredith, 2001; Savic, 2001; Halpern & Martinez-Marcos, 2003; Bensafi *et al.*, 2004; Jacob *et al.*, 2004; Spencer *et al.*, 2004).

Le système olfactif accessoire converge et rentre en synergie avec le système olfactif principal, lui spécialisé dans la détection et le traitement des informations portées par les molécules odorantes. Dans la suite de cette introduction nous allons décrire le système olfactif principal de rongeur. Ce système comprend synthétiquement trois étages qui façonnent la représentation de l'information olfactive : l'épithélium olfactif (étage périphérique de détection), le bulbe olfactif (premier relai cortical de l'information olfactive) et les structures corticales olfactives supérieures. Une attention particulière sera portée sur certaines de ces structures, cruciales dans la problématique de cette thèse.

A - L'étage périphérique

Les odorants de notre environnement sont des composés volatiles de masse moléculaire inférieure à 300 daltons ($\sim 5 \times 10^{-22}$ grammes). La phase d'inspiration de la respiration permet à ces composés de pénétrer à l'intérieur des cavités nasales où prend naissance la voie olfactive.

1 - L'épithélium olfactif

L'épithélium olfactif (EO) est une région sensorielle spécifiquement différenciée de la muqueuse nasale, qui repose sur une couche de tissu conjonctif appelée la lamina propria. Il tapisse une région osseuse très repliée (les cornets olfactifs) dans la partie postéro-dorsale des cavités nasales. Ces nombreux repliements permettent une augmentation considérable de la surface de détection. Directement au contact avec le milieu extérieur, l'EO est protégé par un mucus aqueux sécrété par les glandes de Bowman trouvées à proximité. Cet épithélium pseudo-stratifié épais compte 3 types cellulaires différents : les neurones sensoriels olfactifs (OSNs, ou olfactory sensory neurons), les cellules de soutien et les cellules basales.

Les OSNs ou neurorécepteurs sont des neurones bipolaires différenciés en chimio-récepteurs qui initient l'acheminement du message olfactif. A leur pôle apical, ils émettent une dendrite unique ramifiée et porteuse de nombreux cils mobiles, riches en récepteurs olfactifs (ORs, ou olfactory receptors), qui émergent au niveau du mucus protecteur. A leur pôle basal s'étend un seul axone non-myélinisé (Purves *et al.*, 2001) qui, après avoir fasciculé avec les axones d'autres OSNs, traverse la lame basale puis la lame criblée de l'os éthmoïde avant de gagner le système nerveux central (le bulbe olfactif ou BO). Les OSNs sont estimés à 20 millions chez la souris et 12 millions chez l'homme (Moran *et al.*, 1982; Breer, 2003) et ont la particularité d'être les seuls neurones en contact direct avec l'extérieur. Ils connaissent une durée de vie courte avec un renouvellement continu (tous les 30 à 120 jours selon l'espèce et les conditions environnementales) (Graziadei *et al.*, 1978). Les OSNs sont les acteurs principaux de la détection des molécules odorantes, mais avant d'interagir avec eux, les molécules odorantes qui ont pénétré à l'intérieur des cavités nasales doivent traverser le mucus.

Le degré d'hydrophobicité conditionne la progression des odorants dans le mucus aqueux recouvrant l'épithélium. Si la molécule est hydrophile, elle pourra diffuser passivement au travers du mucus. Si la molécule est hydrophobe, elle sera prise en charge par des protéines de liaison qui assurent le transport des odorants hydrophobes jusqu'à la surface des cils des OSNs.

Ces neurones sont les initiateurs de la voie de transmission du message olfactif jusqu'aux centres supérieurs de traitement de l'information sensorielle.

Les cellules de soutien sont des cellules de forme prismatique qui s'étendent sur toute l'épaisseur de l'EO. Elles assurent notamment la cohésion au sein de l'EO, sa détoxification et la régulation de l'environnement ionique (Chen *et al.*, 1992).

Les cellules basales occupent la partie profonde de l'EO. Elles forment un stock de cellules souches assurant le renouvellement continu à l'âge adulte des OSNs (Schwob, 2002).

2 - Les récepteurs olfactifs

2.1 - Introduction

Le champ de recherche en olfaction a connu un intérêt croissant durant les trois dernières décennies, et ne cesse de passionner les neuroscientifiques, depuis la découverte des ORs en 1991 par Linda Buck et Richard Axel (Buck & Axel, 1991). Les ORs sont des récepteurs exprimés à la membrane plasmique des cils des OSNs qui baignent dans le mucus. Ils contiennent 7 domaines transmembranaires, sur lesquels viennent se fixer les odorants, et sont liés à une protéine G spécifique : G_{olf} . Chez les mammifères, les ORs sont codés au niveau du génome par une super-famille de gènes estimés au nombre de 1000 chez les rongeurs, ce qui correspond à 3% de leur génome, et à 400 chez l'homme (Buck & Axel, 1991; Buck, 1996; Zhang & Firestein, 2002; Nei *et al.*, 2008; Adipietro *et al.*, 2012). Parmi ce répertoire important de récepteurs différents, un OSN répond à la règle « 1 cellule - 1 récepteur » et exprime ainsi à la surface de ses cils, un seul type d'OR capable de lier un ou plusieurs odorants (Mombaerts, 1999). Il est estimé qu'un type d'OR est exprimé par 5000 à 10000 OSNs (Mobley *et al.*, 2014).

2.2 - Sélectivité aux odeurs des neurorécepteurs olfactifs

Des études électro-physiologiques ont montré qu'un OSN a la capacité de répondre à plusieurs odorants (Duchamp-Viret *et al.*, 1999). Compte tenu qu'un OSN n'exprime à sa membrane qu'un seul type d'OR, cela suggère qu'un OR donné pourrait lier plusieurs molécules odorantes. C'est ce qui a été démontré grâce à des techniques de biologie moléculaire et de neurophysiologie par Malnic *et al.* (1999). En analysant les variations de concentrations calciques intracellulaires en réponse à un panel d'odorants, les auteurs ont identifié le champ récepteur, c'est-à-dire la palette des différents ligands, de plusieurs OSNs isolés *in vitro* et ont ainsi démontré qu'un OR pouvait fixer plusieurs molécules odorantes. Cette caractéristique

assure une sensibilité et une flexibilité incroyable dans la détection d'un nombre colossal de molécules odorantes. De manière réciproque, en utilisant une RT-PCR (transcription inverse suivie d'une réaction en chaîne catalysée par la polymérase) sur cellule unique, les auteurs ont montré qu'une molécule odorante pouvait se lier à différents ORs (Malnic *et al.*, 1999). Ainsi, en activant une combinaison spécifique d'ORs, une molécule odorante possède un code combinatoire qui lui est propre, une signature de son identité au niveau de l'épithélium. Dans cette même étude, les auteurs ont également montré que l'induction de subtiles altérations au niveau de la molécule odorante modifiait son code combinatoire, ce qui renforce l'idée de signature de son identité.

Des travaux de biologie moléculaire réalisés chez le rongeur, ont permis de montrer que l'EO pouvait être sub-régionalisé en quatre zones exprimant différents types d'ORs (Ressler *et al.*, 1993; Vassar *et al.*, 1993; Strotmann *et al.*, 1994) mais que ces ORs étaient répartis de manière aléatoire au sein de chaque zone (Ressler *et al.*, 1993; Strotmann *et al.*, 1995; Levai *et al.*, 2003). Cette dynamique spatiale est spécifique du système olfactif et contraste avec l'organisation de l'étage récepteur habituellement rencontrée dans les autres systèmes sensoriels, où la proximité physique des récepteurs prédit la similarité de leur champ récepteur (tonotopie ou rétinotopie). Finalement, le codage spatial au niveau de l'EO serait représenté par une combinaison hétérogène d'ORs et donc de OSNs activés par l'odeur.

2.3 - Les neurorécepteurs olfactifs, acteurs de la transduction

Les OSNs sont les acteurs principaux de cet étage d'entrée, ils convertissent l'information chimique des odorants en message électrique (les potentiels d'action) que le cerveau peut interpréter. C'est ce que l'on appelle, la transduction (Schild & Restrepo, 1998; Kleene, 2008; Kaupp, 2010).

La liaison de la molécule odorante (le ligand) à son OR active les protéines G_{olf} et s'en suit une cascade de transduction olfactive (Kleene, 2008) avec la production de seconds messagers (adénosine monophosphate cyclique ou AMPc) qui activent ensuite des protéines kinases. Ces dernières favorisent alors l'ouverture de canaux permettant l'entrée de cations sodium et calcium (Zhao & Firestein, 1999) et la sortie d'anions chlore générant ainsi un courant local entrant dépolarisant. Si la sommation des différents courants locaux dépolarisants dépasse le seuil d'excitabilité, un train de potentiel d'action sera généré et propagé via l'axone pour atteindre le BO.

3 - Les projections épithélio-bulbaires : vers les glomérules

Le réseau neuronal qui s'étend de l'EO jusqu'au BO a fait l'objet de revues très détaillées (Wilson & Mainen, 2006; Zou *et al.*, 2009; Sakano, 2010; Mori & Sakano, 2011; Murthy, 2011; Lodovichi & Belluscio, 2012).

Les axones des OSNs projettent directement sur le BO, qui est un cortex cérébral. Le fait que les neurones sensoriels contactent directement les réseaux cérébraux corticaux est une caractéristique unique du système olfactif.

Chaque OSN va contacter synaptiquement (synapse excitatrice avec libération de glutamate, (Berkowicz *et al.*, 1994)), grâce à son axone unique, un seul glomérule (amas sphérique de connexions synaptiques situé à la périphérie du BO). Ainsi, chaque glomérule ne représente qu'un seul type d'OR, il répond à la règle « 1 OR - 1 OSN - 1 glomérule ».

Le patron d'activation spatiale induit par une odeur au niveau de l'EO (c'est-à-dire son code combinatoire) est transmis au BO en suivant deux niveaux d'organisation. Le premier niveau consiste en une projection « zone à zone » des afférences épithéliales sur les glomérules bulbaires. De manière plus précise, l'injection de traceurs rétrogrades tels que la horseradish peroxydase (Astic & Saucier, 1986; Astic *et al.*, 1987) ou encore l'isothiocyanate (Schoenfeld *et al.*, 1994), a permis de montrer que le BO reçoit dans ses régions dorsale, ventrale, médiale et latérale l'innervation des régions épithéliales homologues (Astic & Saucier, 1986; Saucier & Astic, 1986; Astic & Saucier, 1988). D'autre part, l'expression de gènes rapporteurs sous le contrôle de promoteurs d'un panel d'ORs a montré que les OSNs exprimant les ORs localisés le long de l'axe dorsomédial-ventrolatéral de l'EO, innervent les glomérules du BO répartis selon un axe dorso-ventral homologue. En effet, les OSNs de l'EO dorsal contactent les glomérules du BO antéro-dorsal (Touhara *et al.*, 1999; Kobayakawa *et al.*, 2007), et ceux de l'EO ventral innervent la partie postéro-ventrale du BO. Il est à noter qu'à contrario, aucun gradient de projection épithélio-bulbaire n'est observé sur l'axe antéro-postérieur (Astic & Saucier, 1986).

Le second niveau d'organisation se situe à un niveau plus fin. Bien que dispersés au sein d'une zone de l'EO, les OSNs (plusieurs milliers) exprimant le même OR se projettent de manière très ordonnée sur deux glomérules, dont la position est bien déterminée et invariable d'un animal à l'autre (Ressler *et al.*, 1994; Vassar *et al.*, 1994; Mombaerts *et al.*, 1996). A l'inverse, des OSNs proches physiquement dans l'EO ne contactent pas le même glomérule (Astic & Saucier, 1986; Schoenfeld *et al.*, 1994).

Cette importante convergence glomérulaire est permise notamment grâce aux ORs qui ont l'incroyable capacité de jouer un rôle dans le guidage axonal (Mombaerts, 2001), assurant une agglomération adéquate des OSNs, même éloignés, sur un même glomérule (Kauer, 1981; Astic & Saucier, 1986; Astic *et al.*, 1987). Toutefois, cette convergence glomérulaire n'indique pas forcément que tous les OSNs qui innervent un même glomérule expriment le même OR.

La forte convergence axonale des OSNs dispersés exprimant le même OR sur un glomérule assurerait l'intégration de l'information olfactive et permettrait une augmentation considérable du ratio signal/bruit (et donc une détection/discrimination des odeurs favorisée (Cleland *et al.*, 2007)).

Finalement, le patron d'activation spatiale induit par une odeur au niveau de l'EO (c'est-à-dire son code combinatoire) est transmis et converti en une carte topographique des glomérules activés dans le BO). Ces cartes d'activation glomérulaires ont été mises en évidence au moyen de différentes techniques d'imagerie qui ont permis de cartographier l'activité bulbaire. De manière plus précise, l'utilisation du 2-déoxyglucose (2-DG (Jourdan *et al.*, 1980; Royet *et al.*, 1987)), l'expression de gènes précoces (cFos (Onoda, 1992; Guthrie *et al.*, 1993; Sallaz & Jourdan, 1993) et Zif268 (Inaki *et al.*, 2002)) ou d'autres technique d'imagerie (Friedrich & Korsching, 1997; Rubin & Katz, 2001; Xu *et al.*, 2003; Schafer *et al.*, 2006) ont permis de révéler la réponse bulbaire à l'odeur. Il est apparu que ces cartes d'activation glomérulaires sont spécifiques d'une molécule odorante, reproductibles entre les animaux et symétriques entre les deux BOs. Ainsi, un odorant donné activera une combinaison qui lui est propre de plusieurs dizaines de glomérules reflétant ainsi le code combinatoire de l'EO et qui pourrait coder l'identité de l'odeur (Cleland *et al.*, 2007; Johnson & Leon, 2007). En effet, des odeurs perceptuellement proches engendreraient des cartes d'activité glomérulaire similaires (Linster *et al.*, 2001; Ho *et al.*, 2006).

B - L'étage relai : le bulbe olfactif

Le BO reçoit les informations des OSNs et les transmet à des structures corticales et sous-corticales (Shepherd *et al.*, 2004) (Fig.1). Bien qu'il soit la première structure contactée par les OSNs, le BO n'est pas uniquement un relai mais aussi un véritable centre d'intégration de l'information olfactive. Il est également le siège de la formation de traces mnésiques et d'apprentissage (Mouly *et al.*, 1993; Ravel *et al.*, 1994; Mandairon *et al.*, 2008a; Mandairon *et al.*, 2008b; Moreno *et al.*, 2009; Kermen *et al.*, 2010; Sultan *et al.*, 2010; Mandairon *et al.*,

2011; Sultan *et al.*, 2011a; Sultan *et al.*, 2011b; Moreno *et al.*, 2012; Moreno *et al.*, 2014). Cela vient notamment du fait des multiples types cellulaires qu'il contient associés à une grande plasticité (Nagayama *et al.*, 2014).

1 – Organisation cyto-architecturale bulbaire

Le BO est un paléo-cortex ovoïde pair situé à l'extrémité rostrale du télencéphale chez les rongeurs. Il repose sur la lame criblée de l'os éthmoïde qui le sépare de l'EO de la cavité nasale. Le BO reçoit l'information sensorielle à partir des OSNs et la transmet aux centres olfactifs supérieurs.

1.1 - Le bulbe olfactif possède une architecture en 6 couches

Distinctes et concentriques, on identifie de la périphérie vers le centre : la couche des nerfs olfactifs, la couche glomérulaire, la couche plexiforme externe, la couche des cellules mitrales, la couche plexiforme interne, et enfin la couche granulaire (Fig.1).

La couche des nerfs olfactifs

La couche des nerfs olfactifs est une couche superficielle constituée des axones des OSNs qui se sont regroupés en faisceaux à la sortie de l'EO et qui viennent contacter les glomérules.

La couche glomérulaire

Les glomérules sont des structures neuropilaires sphériques de 50-200 μm de diamètre (Pinching & Powell, 1971b) qui varient en nombre selon l'espèce considérée. Chez les rongeurs on dénombre plusieurs milliers de glomérules (environ 1800 chez la souris (Mori, 2014)) arrangés spatialement sur le pourtour du bulbe. Chaque glomérule résulte de la convergence de 5000 à 40000 terminaisons axoniques issues des OSNs qui contactent synaptiquement quelques dizaines de neurones relais du BO (cellules mitrales et à panache) au niveau de leur dendrite principale et de nombreux interneurons juxta-glomérulaires. Cette organisation glomérulaire favorise une transmission efficace du message olfactif aux neurones relais du BO et confère des implications fonctionnelles majeures dont nous reparlerons. Chaque glomérule forme une entité fermée, confinée par les interneurons juxta-glomérulaires et un fort réseau astrocytaire qui forment une limite physique à la diffusion des neurotransmetteurs dans le milieu environnant (De Saint Jan & Westbrook, 2005). Les interneurons juxta-glomérulaires sont

morphologiquement hétérogènes et comprennent trois types: les cellules à axone court, les cellules à panache superficielles, ou externes, et les cellules périglomérulaires (PGs) (Pinching & Powell, 1971c) qui forment le type cellulaire le plus abondant (Parrish-Aungst *et al.*, 2007). Les PGs ont leurs corps cellulaires alignés autour des glomérules. Il est important de noter qu'elles ne forment pas un ensemble homogène. Il existe en effet différentes catégories de PGs qui varient en morphologie (présence ou absence d'axone) et en localisation dans la couche glomérulaire ainsi qu'en profil neurochimique (GABA, Dopamine, Calbindine) (Toida *et al.*, 1998; Kosaka & Kosaka, 2011).

La couche plexiforme externe et la couche des cellules mitrales

La couche plexiforme externe est le lieu de résidence des corps cellulaires des cellules à Panache (cellules P). Les cellules P représentent l'un des deux types cellulaires des neurones principaux (encore appelés neurones relais ou neurones de projection) du BO. En fonction de la localisation de leur corps cellulaire, on peut identifier les cellules P externes ou superficielles qui développent leur corps cellulaire en surface de la couche plexiforme externe et dans la couche glomérulaire, et les cellules P intermédiaires et internes qui ont leur corps cellulaire dans la couche plexiforme externe exclusivement, dans les parties intermédiaire et profonde respectivement (Macrides & Schneider, 1982).

La couche plexiforme externe s'inscrit également comme une zone importante de passage de prolongements neuronaux et de contacts synaptiques entre les neurones relais et les cellules granulaires (décrites ci-après).

Les cellules Mitrales (cellules M) forment avec les cellules P le second type cellulaire de neurones principaux du BO. Bien qu'inférieures en nombre (chez le rat chaque bulbe mature comprend environ 70 000 cellules mitrales et 160 000 cellules à panache (Meisami & Safari, 1981), l'intérêt scientifique s'est majoritairement porté sur les cellules M qui sont ainsi considérées comme le type principal de neurones relais du BO.

Contrairement aux cellules P hétérogènes et dont les corps cellulaires sont dispersés dans la couche plexiforme externe, les cellules M sont généralement décrites comme un seul type cellulaire homogène (bien que des variations morphologiques semblent exister (Orona *et al.*, 1984; Kikuta *et al.*, 2013)) et leurs corps cellulaires s'arrangent en une unique couche cellulaire fine appelée la couche des cellules mitrales (Nagayama *et al.*, 2014).

A partir du corps cellulaire de ces cellules M et P émergent une dendrite apicale primaire unique, qui va contacter son glomérule attiré, et des dendrites latérales secondaires, très

longues, qui s'étendent dans la couche plexiforme externe où elles réalisent de nombreux contacts synaptiques avec les cellules granulaires détaillées ci-après (Mori, 2014).

Au niveau basal, les cellules M et P étendent un axone qui traverse la couche plexiforme interne puis la couche granulaire, les axones se regroupent en tractus olfactif latéral (LOT, ou lateral olfactory tract) et quittent ensuite le BO pour atteindre les structures olfactives secondaires (Cleland & Linster, 2003).

La couche plexiforme interne

Cette couche, quasiment dépourvue de corps cellulaires, est très mince. Elle contient principalement les collatérales des axones des neurones relais M et P ainsi que les dendrites apicales des neurones granulaires (décrits ci-après) (Price & Powell, 1970c).

La couche granulaire

La couche granulaire est la couche la plus interne du BO. Elle est très étendue et contient un très grand nombre de cellules. Les cellules granulaires (GRs), principalement GABAergiques mais pouvant toutefois libérer du glutamate (Didier *et al.*, 2001), représentent le type cellulaire majoritaire de la couche granulaire, ce qui lui a valu son nom, ainsi que la population d'interneurones inhibiteurs locaux la plus importante du BO. Les cellules GRs possèdent un corps cellulaire de petite taille (6-8 μm de diamètre (Price & Powell, 1970a)) localisé plus ou moins profondément dans la couche granulaire. Ces neurones ne possèdent pas d'axone mais étendent une unique dendrite apicale en direction de la couche plexiforme externe où elle se ramifiera en arborisation terminale pour innerver les cellules relais du BO.

Il faut noter que les cellules GRs ne forment pas un groupe homogène. Plusieurs classes de cellules GRs ont été identifiées qui diffèrent notamment au niveau morphologique et moléculaire (Nagayama *et al.*, 2014). Si l'on prend pour exemple le critère morphologique, il a été mis en évidence une diversité des cellules GRs dans la localisation plus ou moins profonde de leur corps cellulaire au sein de la couche granulaire. Aussi, certaines cellules GRs développent leur arborisation terminale dans la partie profonde de la couche plexiforme externe, d'autres innervent préférentiellement la partie superficielle et les dernières sont indifférentes concernant le niveau de la couche plexiforme externe qu'elles ciblent (Mori *et al.*, 1983; Mori, 1987). Suivant leur localisation profonde ou superficielle, les GRs contactent plutôt les cellules M ou P respectivement.

La couche granulaire héberge également une population très hétérogène de neurones à axone court, qui, par comparaison aux cellules GRs, possèdent un corps cellulaire plus large (10-20 μm de diamètre), des dendrites plus courtes et un axone qui projette dans les différentes couches du BO (Nagayama *et al.*, 2014).

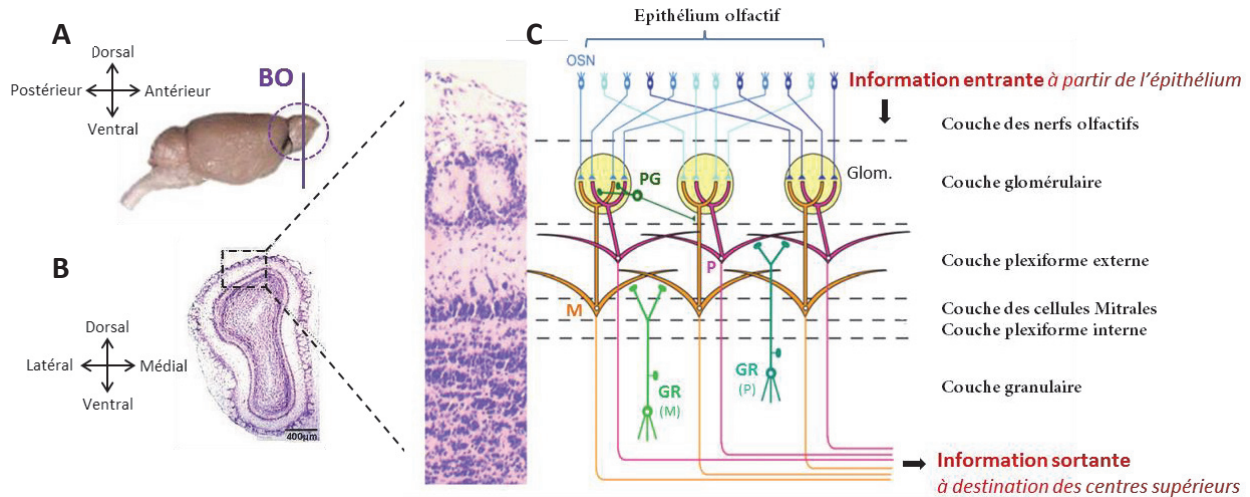


Figure 1. Organisation anatomique et cellulaire du bulbe olfactif. **A.** Vue sagittale d'un cerveau de souris avec le bulbe olfactif (BO) à l'avant. **B.** Coupe frontale d'un BO de souris, colorée au crésyl violet. **C.** Schéma simplifié du réseau cellulaire du BO. Les axones de neurones sensoriels olfactifs (OSNs) - en provenance de l'épithélium olfactif - exprimant le même OR innervent un glomérule spécifique (Glom). C'est par eux que l'information olfactive entre dans le BO. Les neurones relais bulbaires, cellules Mitrales (M) et à Panache (P), étendent leur dendrite principale - qui s'arborise au sein d'un glomérule - et plusieurs dendrites latérales - qui s'arborisent dans la couche plexiforme externe. Dans les glomérules, les axones des OSNs forment des synapses excitatrices avec les dendrites apicales des cellules M/P ainsi qu'avec les dendrites des interneurones périglomérulaires (PGs). Les PGs forment également des synapses réciproques dendrodendritiques avec les cellules M/P au sein d'un même glomérule. Les autres interneurones bulbaires, les cellules granulaires (GRs) étendent une unique dendrite apicale qui s'arborise dans la couche plexiforme externe où s'établissent des synapses réciproques dendrodendritiques avec les dendrites secondaires latérales des cellules M/P. Après modulation par les interneurones inhibiteurs PGs et GRs, les cellules relais M/P envoient l'information aux centres olfactifs secondaires. Modifié d'après Mori (2014).

1.2 - Neurogenèse adulte

Chez les mammifères, parmi les nombreuses particularités du système olfactif soulignées au cours de cette thèse, il est important de noter la persistance d'une neurogenèse bulbaire à l'âge adulte (Lepousez *et al.*, 2013). Rares sont les régions cérébrales bénéficiant d'une telle plasticité. Deux foyers neurogéniques principaux existent : la zone sous-granulaire du gyrus denté de l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire qui borde la paroi des ventricules latéraux. Dans cette dernière se logent des précurseurs neuronaux qui prolifèrent au sein de la paroi des ventricules (Temple & Alvarez-Buylla, 1999). Les cellules nouvellement formées migrent le long du flux rostral migratoire pour atteindre le centre du BO en 5 à 10 jours (Lois *et al.*, 1996) où elles y entament ensuite une migration radiale vers les couches granulaire et glomérulaire et se différencient en interneurones inhibiteurs PGs et GRs (Whitman & Greer, 2009). Cette

neurogenèse assure un apport continu d'interneurones inhibiteurs au sein du BO. Chez le rongeur, il est estimé à 80 000 le nombre de cellules granulaires arrivant chaque jour, ce qui représente environ 1% de la totalité de ces cellules.

Cet apport de nouveaux neurones continu à l'âge adulte confère au BO une incroyable plasticité et permettrait à l'animal une réponse adaptative aux challenges environnementaux (Lledo *et al.*, 2006).

1.3 - Les afférences centrales sur le bulbe olfactif

De nombreuses projections ciblent le BO, majoritairement du côté ipsi-latéral. Deux grandes classes de projections ont été identifiées : celles qui proviennent des structures olfacto-limbiques et qui sont glutamatergiques, et celles issues des centres neuromodulateurs. Ainsi, la première comprend les projections massives du cortex piriforme, du noyau olfactif antérieur, de l'amygdale et du cortex entorhinal (Price & Powell, 1970b; Shipley & Ennis, 1996; Neville & Haberly, 2003; Matsutani, 2010). La seconde regroupe les projections neuromodulatrices (Price & Powell, 1970b; McLean & Shipley, 1987) : noradrénergiques (provenant du locus cœruleus), cholinergiques (localisés dans le télencéphale basal et la branche horizontale de la bande de Broca), sérotoninergiques (émergeant des noyaux dorsaux et médians du raphé). Ces afférences originaires des structures avales plus centrales à destination du BO sont dites centrifuges. Elles atteignent les couches granulaires et glomérulaires du BO et agissent principalement sur les interneurones inhibiteurs (Price & Powell, 1970b; Pinching & Powell, 1972b; Shepherd *et al.*, 2004). En influant l'activité bulbaire, elles sont connues pour moduler le traitement de l'information et ont été associées à l'acquisition de la mémoire olfactive (Matsutani & Yamamoto, 2008).

2 - Intégration bulbaire de l'information olfactive

2.1 - Introduction

Nous l'avons mentionné précédemment, l'information olfactive détectée par les OSNs est transmise au niveau de la couche glomérulaire à un nombre restreint de neurones relais (~ 25 cellules M et 50 cellules P (Shipley *et al.*, 1996)). Etant donné que chaque neurone reliai connecte sa dendrite primaire unique à un seul glomérule, la spécificité d'un neurone reliai donné reflèterait celle du glomérule qu'il innerve (Mori *et al.*, 1999). Les neurones relais situés à l'aplomb du même glomérule établissent entre eux des jonctions gap intra-glomérulaires

(Kosaka & Kosaka, 2004) qui favorisent leur synchronisation au sein de ce glomérule (Buonviso *et al.*, 1992; Schoppa & Westbrook, 2001; Dhawale *et al.*, 2010), formant ainsi un réseau morphologiquement défini, une colonne d'activité (Guthrie *et al.*, 1993; Willhite *et al.*, 2006). En effet, Buonviso et Chaput ont montré en 1990 que l'activité de neurones relais voisins (distants de moins de 40 μm), potentiellement connectés au même glomérule, est davantage similaire que celle des neurones relais plus distants et donc appartenant à des colonnes d'activité différentes (Buonviso & Chaput, 1990). Ces colonnes d'activité sont analogues aux colonnes de dominance oculaires du cortex visuel ou aux 'barrels' du cortex somato-sensoriel (Lledo *et al.*, 2005).

Nous venons de voir que le BO reçoit l'information olfactive propre d'un odorant détecté au niveau de l'EO et la transmet aux centres supérieurs. Toutefois, l'information olfactive ne fait pas que converger et être relayée en son sein, mais elle y est intégrée et sculptée, notamment grâce à un nombre important d'interneurones.

2.2 - Les interneurones inhibiteurs périglomérulaires et granulaires – véritables affineurs du message olfactif

Les interneurones, par définition, restreignent leur activité à la structure hôte et n'innervent la plupart du temps pas d'autres régions cérébrales.

Le BO possède différentes classes d'interneurones mais nous n'aborderont ici que les deux types qui sont essentiels à la compréhension de cette thèse et dont nous avons déjà parlé : les cellules PGs et GRs, qui sont les interneurones inhibiteurs locaux les plus représentés et les plus étudiés du BO. Compte tenu de leur localisation, ils permettent une modulation du message olfactif à l'entrée (PGs) et à la sortie (GRs) du BO (Schoppa, 2006; Shepherd, 2007).

Les cellules périglomérulaires

Elles établissent des contacts synaptiques réciproques dendro-axoniques avec les terminaisons axoniques des OSNs. Ces derniers activent par libération de glutamate les cellules PGs qui peuvent les inhiber en retour (Ennis *et al.*, 2001). Elles établissent également des synapses dendro-dendritiques avec l'arborisation dendritique apicale des cellules relais M et P du BO. Enfin, l'activité des PGs est favorisée par un réseau latéral excitateur qui implique les deux autres classes d'interneurones juxta-glomérulaires mentionnés précédemment : les cellules à panache superficielles et les cellules à axone court (Pinching & Powell, 1971a).

Bien que limitées à la couche glomérulaire, les projections des axones et dendrites des PGs peuvent s'étendre latéralement sur plusieurs glomérules (Pinching & Powell, 1972a; Schneider & Macrides, 1978) et moduler ainsi l'activité des colonnes d'activité bulbaires. En contrôlant le niveau d'entrée de l'information olfactive et en permettant une augmentation du ratio signal/bruit par l'inhibition des glomérules (et donc des cellules relais) adjacents qui sont moins activés par l'odeur, les PGs se définissent comme des normalisateurs de l'entrée sensorielle. Cette normalisation serait requise pour la représentation de l'identité de l'odeur indépendamment de sa concentration (Aungst *et al.*, 2003; Cleland & Sethupathy, 2006; Cleland *et al.*, 2007).

Après sa transmission synaptique aux cellules relais du BO et son modelage glomérulaire, le message olfactif se propage le long de la dendrite apicale primaire des neurones relais jusqu'au corps cellulaire où il sera rétro-propagé le long des dendrites secondaires latérales sur de longues distances sans atténuation jusqu'à être bloqué par l'inhibition locale d'un autre type d'interneurones, les GRs (Xiong & Chen, 2002; Mori, 2014).

Les cellules granulaires

Ces cellules anaxoniques projettent une unique dendrite apicale qui établit des contacts réciproques dendro-dendritiques avec les dendrites latérales des cellules relais au niveau de la couche plexiforme externe (Lazarini & Lledo, 2011). Les neurones relais dépolarisent les GRs par libération de glutamate (excitateur) ; les GRs libèrent en retour du GABA (inhibiteur et unique message de sortie des GRs) formant ainsi une boucle d'interaction. (Schoppa *et al.*, 1998). Comme une GR établit des synapses avec les dendrites latérales de plusieurs cellules relais innervant des glomérules voisins, ce circuit fournirait la base anatomique d'une inhibition latérale de l'activité des cellules relais par les glomérules voisins (Mori & Yoshihara, 1995; Shepherd, 2007). La boucle d'interaction réciproque entre les GRs et les cellules relais est ainsi responsable de l'organisation spatiale de l'activité des cellules relais Elle facilite également leur synchronisation et la genèse des oscillations rythmiques au sein du réseau bulbaire qui participe au codage de l'odeur (Gervais *et al.*, 2007; Lazarini & Lledo, 2011).

Les GRs reçoivent également des informations au niveau de leur corps cellulaire et de leurs dendrites basales par des contacts synaptiques axodendritiques établis par des collatérales d'axones des neurones relais du BO (glutamatergiques), des projections corticales (glutamatergiques) et des systèmes neuromodulateurs (noradrénergique, cholinergique et sérotoninergique).

Une caractéristique notable du BO est que le nombre d'interneurones inhibiteurs locaux surpasse nettement le nombre de neurones de projection excitateurs qui transmettent l'information aux structures olfactives supérieures (Kaplan *et al.*, 1985; Parrish-Aungst *et al.*, 2007; Mori, 2014). Contrairement aux autres régions cérébrales, où une faible population d'interneurones inhibiteurs module l'activité d'un nombre conséquent de neurones de projection, le BO possède un nombre colossal d'interneurones inhibiteurs en son sein. Ils régulent l'activité des cellules M et P, et dotent ainsi le BO d'une grande plasticité. Ceci suggère que le BO façonne de manière très importante et précise le message olfactif, le raffine, avant de le transmettre aux structures corticales olfactives secondaires. Cette singularité va à l'encontre de la définition réductionniste du BO comme simple relai de l'information olfactive et le place davantage dans la catégorie des structures corticales, qui traitent l'information olfactive en provenance de l'environnement, l'intègrent en fonction de l'état interne et externe de l'organisme et engendrent une réponse comportementale et/ou physiologique adaptée.

2.3 - Le bulbe olfactif : un centre mnésique

Le rôle du BO dans les apprentissages a été très documenté (Wilson *et al.*, 2004; Sanchez-Andrade *et al.*, 2005; Matsutani & Yamamoto, 2008; Mouly & Sullivan, 2010; Lepousez *et al.*, 2013; Kay, 2014; Martin & Ravel, 2014; Sakamoto *et al.*, 2014; Tong *et al.*, 2014; Lledo & Valley, 2016).

Diverses méthodes électro-physiologiques ou d'expression de gènes précoces (comme Zif-268 ou c-Fos par exemple), dépendantes de l'activité neuronale, ont permis de mettre en évidence une évolution de la réponse bulbaire à l'odeur avec l'expérience olfactive ainsi qu'avec la mise en mémoire des odeurs. Brièvement, une exposition simple et répétée à un odorant entraîne une modulation de la réponse du réseau bulbaire à l'odorant en diminuant le nombre de cellules relais qui y répondent, suggérant un accroissement de l'inhibition (Buonviso & Chaput, 2000). Des modifications du réseau du BO ont aussi été recensées lors d'apprentissages. Par exemple, dans le cas d'un apprentissage associatif, où une stimulation olfactive est associée à un renforcement positif, une récompense, la réponse évoquée par l'odorant (potentiels de champ locaux) est modifiée (Martin *et al.*, 2004; Gervais *et al.*, 2007). Le BO intervient également dans un apprentissage olfactif non-associatif, implicite, appelé apprentissage perceptif. Celui-ci est défini par l'amélioration des performances de discrimination entre deux odorants perceptuellement similaires (i.e. évoquant des cartes d'activité bulbaires chevauchantes) et non discriminés spontanément, suite à l'exposition répétée à ces mêmes odorants (enrichissement

olfactif) (Mandairon *et al.*, 2006; Moreno *et al.*, 2009). Pour finir, le BO apparaît également un centre mnésique important (Mouly *et al.*, 1993; Ravel *et al.*, 1994).

Ainsi, le BO n'a pas comme unique rôle de relayer l'information olfactive aux centres supérieurs mais il est une structure clé du codage, de la discrimination et de la mise en mémoire des odeurs. Cela est permis grâce à ses multiples types cellulaires très interconnectés qui forment des réseaux sophistiqués de traitement de l'information (Nagayama *et al.*, 2014).

3 – Les efférences : transmission du message bulbaire vers les structures olfactives secondaires

Du BO, les axones des cellules relais se regroupent pour former le LOT permettant la transmission du message olfactif au cortex olfactif dit « secondaire » qui regroupe les structures directement ciblées par le BO, à savoir le noyau olfactif antérieur (AON, ou anterior olfactory nucleus), le cortex piriforme (PirCx), le tubercule olfactif (TO), le cortex entorhinal (EntCx) et le cortex amygdalien (Cleland & Linster, 2003; Doty, 2012) (Fig.2). En d'autres termes, les centres olfactifs secondaires sont définis par les régions qui reçoivent l'input synaptique direct des cellules M et P du BO (Price, 1985; Neville & Haberly, 2004; Wilson & Sullivan, 2011; Doty, 2012).

De manière importante, il est à noter qu'un contraste réside dans le patron d'innervation des structures olfactives secondaires. Contrairement aux cellules M qui innerveraient toutes les structures olfactives secondaires, les cellules P restreindraient leurs cibles aux structures olfactives dites antérieures : le noyau olfactif antérieur, la partie rostrale du cortex piriforme et le tubercule olfactif (Haberly & Price, 1977; Scott, 1981; Luskin & Price, 1982; Igarashi *et al.*, 2012) (Fig.2). Dans ce contexte, Nagayama *et al.* (2010) ont montré que le cortex piriforme était préférentiellement innervé par des cellules M tandis que le tubercule olfactif (TO) recevait notamment l'information olfactive à partir des cellules P. D'autres travaux ont suggéré que les structures secondaires olfactives seraient innervées par des axones provenant de sous-populations de cellules relais réparties de manière non uniforme dans le BO. Par exemple le TO recevrait les axones des neurones de projections localisés préférentiellement dans la région ventrale du BO (Haberly & Price, 1977; Scott *et al.*, 1980; Imamura *et al.*, 2011).

La différence de date de naissance entre les cellules M (E10 et E13) et P (E13 et E16) (Hinds, 1968; Imamura *et al.*, 2011) déterminerait la localisation de leur corps cellulaire selon un axe dorso-ventral et médio-latéral du BO mais également le patron de propagation de l'axone et

donc de leur structure cible (Inaki *et al.*, 2004; Imamura *et al.*, 2011). En effet, l'étude de Imamura *et al.* (2011) a montré que les cellules relais nées tardivement migreraient de manière tangentielle dans la région postéro-ventrale du BO et auraient tendance à cibler de manière plus importante le TO par rapport aux cellules nées plus précocement.

De plus, comme il a été montré que les cellules M et P ne décodaient pas l'information olfactive dans le BO de la même manière (Nagayama *et al.*, 2004), avec des seuils, des latences de réponse (genèse de potentiels d'action), des fréquences de décharge et des sensibilités aux odeurs différentes (Ezeh *et al.*, 1993; Mori & Shepherd, 1994; Nagayama *et al.*, 2004; Shepherd *et al.*, 2004; Igarashi *et al.*, 2012; Kikuta *et al.*, 2013), le message olfactif n'est pas communiqué de manière uniforme aux différentes structures corticales olfactives secondaires.

Ainsi, les axones des cellules relais du BO transmettent le message olfactif aux structures olfactives secondaires qui appartiennent au système sensoriel et limbique. Contrairement aux autres modalités sensorielles, l'information olfactive ne passe pas par le thalamus avant d'atteindre le cortex olfactif secondaire (Smythies, 1997). Ainsi, seules deux à trois synapses séparent les OSNs des régions cérébrales fortement impliquées dans les émotions, la récompense et la prise de décision. Il existe donc un lien anatomique privilégié entre olfaction, émotions et motivation.

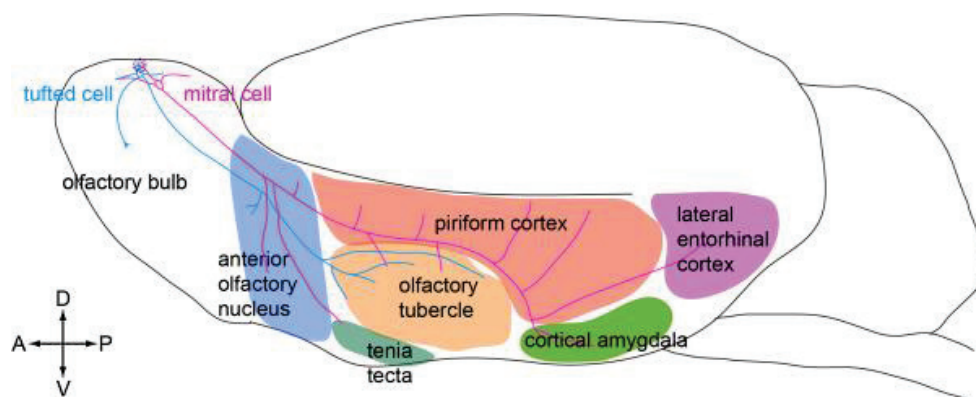


Figure 2. Représentation schématique des projections des cellules relais M/P du bulbe olfactif sur les structures olfactives secondaires. Les cellules P (tufted cells en bleu clair) projettent leurs axones vers le noyau olfactif antérieur (anterior olfactory nucleus en bleu), la partie antéro-ventrale du cortex piriforme (piriform cortex en rouge) et au tubercule olfactif (olfactory tubercle en orange). Les cellules M (mitral cells en rose) envoient leurs projections de manière dispersée au niveau du cortex piriforme, du noyau olfactif antérieur, du tubercule olfactif, de l'amygdale corticale (cortical amygdala en vert) et du cortex entorhinal latéral (lateral entorhinal cortex en violet). Les projections différentes des cellules M et P suggèrent un traitement parallèle de l'information par les deux voies. A : antérieur ; P : postérieur ; D : dorsal ; V : ventral. D'après Imai (2014)

C - L'étage cortical de traitement supérieur

1 - Les différentes structures corticales olfactives secondaires

Contrairement au cortex sensoriel des autres modalités qui se définissent par une architecture en 6 couches, les cortex olfactifs supérieurs sont des paléo-cortex généralement tri-laminaire (couches I, II et III distinctes). Les axones des neurones principaux du BO (afférences bulbaires) forment des synapses excitatrices au niveau de la couche I avec les dendrites des cellules pyramidales présentes dans les couches II et III. Les cellules pyramidales sont les cellules principales, de projection, des structures corticales olfactives. Ces cellules pyramidales envoient des fibres d'association pour former des synapses excitatrices au sein même de la structure corticale considérée ou dans d'autres aires olfactives ou centres associatifs (Mori, 2014). Cette organisation corticale avec la présence de cellules pyramidales est typique des structures corticales olfactives et est retrouvée dans toutes les régions, exceptée pour le tubercule olfactif (Neville & Haberly, 2004).

1.1 - Le cortex piriforme

Il est la structure la plus importante du cortex olfactif en terme de taille (Price, 1987; Haberly, 1998) et reçoit le plus d'afférences du BO via le LOT (Nagayama *et al.*, 2010). De ce fait, le PirCx est apparu comme la structure olfactive corticale secondaire de référence et ses fonctions ont été généralisées au cortex olfactif.

Il est important de noter que contrairement à l'organisation topographique des projections des OSNs sur les glomérules bulbaires, les projections des cellules relais du BO sur le PirCx sont diffuses, de sorte que l'organisation spatiale présente dans le BO est dispersée lors du transfert de l'information au PirCx (Stettler & Axel, 2009; Chapuis & Wilson, 2011; Ghosh *et al.*, 2011; Miyamichi *et al.*, 2011; Sosulski *et al.*, 2011). En effet, une petite région du BO très localisée peut innerver de manière très diffuse l'ensemble du cortex olfactif (Buonviso *et al.*, 1991) et les afférences d'une zone très restreinte du PirCx peuvent provenir d'un ensemble diffus de cellules relais (Sosulski *et al.*, 2011).

En plus du BO, le PirCx reçoit des informations de régions plus avales, telles que le cortex orbitofrontal (OFC, ou orbitofrontal cortex) et l'amygdale basolatérale (Datiche *et al.*, 1996; Johnson *et al.*, 2000; Majak *et al.*, 2004; Illig, 2005) qu'il intègre et transmet à d'autres

structures olfactives dites « tertiaires », telles que le thalamus, l'hypothalamus, le cortex préfrontal ou encore l'amygdale.

Le PirCx montre une hétérogénéité antéro-postérieure à la fois sur les plans anatomique et fonctionnel (Haberly & Price, 1978; Datiche *et al.*, 1996; Litaudon *et al.*, 1997; Chabaud *et al.*, 1999; Illig & Haberly, 2003; Litaudon *et al.*, 2003).

Anatomiquement, l'artère piriforme divise le PirCx en région antérieure (PirCxa) et postérieure (PirCxp). Les afférences en provenance du BO ciblent principalement le PirCxa (Schwob & Price, 1978) qui reçoit également un nombre plus important de fibres associatives intrinsèques que le PirCxp. A contrario, le PirCxa reçoit peu de connexions en retour contrairement au PirCxp qui établit d'importantes connexions réciproques avec les structures cérébrales plus avales telles que l'amygdale et le cortex préfrontal notamment qui sont des aires associatives impliquées dans le traitement multimodal de l'information (Datiche *et al.*, 1996; Johnson *et al.*, 2000; Majak *et al.*, 2004; Illig, 2005). Il est à noter que sur la base de ses connexions, le PirCx apparaît moins fonctionner comme un cortex sensoriel primaire mais davantage comme un centre olfactif d'intégration, de convergence et d'association de l'information olfactive en provenance du BO avec celles issues d'autres systèmes sensoriels, des systèmes limbiques ou encore moteurs (Datiche *et al.*, 1996; Haberly, 2001).

Au niveau fonctionnel, les neurones du PirCxp possèdent un taux de décharge spontanée plus bas et sont plus sélectifs aux odorants non-familiers que ceux du PirCxa (Litaudon *et al.*, 2003). Le PirCxa est connu pour avoir une sensibilité accrue à l'activité afférente bulbaire par rapport au PirCxp et aurait ainsi un rôle à jouer dans la détection des odeurs et le codage de la qualité des odeurs (Lynch & Granger, 1989). Le PirCxp lui, reçoit des projections du PirCxa et serait préférentiellement impliqué dans la reconnaissance et la mémorisation des odeurs.

De manière générale, on reconnaît au PirCx un double rôle à la fois dans le traitement de l'information olfactive et aussi dans la mémoire olfactive (Nemitz & Goldberg, 1983). Le PirCx contribuerait à la reconnaissance de l'odeur (son identité), aux mécanismes d'habituation olfactive, à la mémoire olfactive et à l'apprentissage olfactif (Haberly & Price, 1977; Hasselmo *et al.*, 1990; Schoenbaum & Eichenbaum, 1995; Wilson, 1998; Barkai & Saar, 2001; Haberly, 2001; Mouly *et al.*, 2001; Illig & Haberly, 2003; Kadohisa & Wilson, 2006; Barnes *et al.*, 2008; Cohen *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; Chapuis *et al.*, 2009; Howard *et al.*, 2009).

De plus en plus, le PirCx se distingue comme une structure associative et mnésique, reliant les caractéristiques moléculaires de l'information olfactive à des représentations olfactives holistiques (Haberly & Bower, 1989; Wilson & Stevenson, 2003; Wilson & Sullivan, 2011).

Ainsi il aurait un rôle dans le codage de la valeur hédonique des odeurs lorsque celle-ci est conditionnée par un apprentissage (Choi *et al.*, 2011).

1.2 - Le noyau olfactif antérieur

Encore appelé cortex olfactif antérieur, il est la structure la plus rostrale du cortex olfactif primaire (Van Hartevelt & Kringelbach, 2012). Révélées par l'injection de colorants directement dans le BO, les afférences bulbaires à destination de l'AON suivent une topographie ordonnée visant à conserver l'organisation dorso-ventrale du BO à l'AON (Yan *et al.*, 2008). Situé dans le prolongement postérieur du BO et à l'avant du PirCx et du TO, l'AON aurait pour rôle d'assurer un transfert réciproque de l'information olfactive du BO au PirCx. En permettant une communication entre les deux BO et donc une comparaison des informations provenant des deux narines (Bennet, 1968), l'AON a été impliqué notamment dans la localisation spatiale des odeurs chez le rongeur (Kikuta *et al.*, 2010). L'AON jouerait aussi un rôle dans le traitement des odeurs sociales (Wacker *et al.*, 2011).

1.3 - L'amygdale

Elle regroupe plusieurs noyaux que l'on peut distinguer en 3 groupes (basolatéral, centro-médian et cortical) sur la base de critères structuraux et fonctionnels (Swanson & Petrovich, 1998; Sah *et al.*, 2003). Parmi eux, l'amygdale corticale reçoit, notamment au niveau de sa région postéro-latérale (plCoA, ou posterolateral cortical amygdala), de nombreuses projections issues directement du BO ; elle reçoit aussi l'information olfactive en provenance du PirCx (Price, 1973; Schwabe *et al.*, 2004). Des travaux utilisant des traceurs anatomiques mettent en évidence que les projections du BO sur l'amygdale corticale conservent une organisation topographique (contrairement au PirCx par exemple). En effet, les glomérules du BO projettent individuellement sur des points spatialement invariants de l'amygdale corticale (Sosulski *et al.*, 2011). D'autre part, les cellules relais du BO qui ciblent la plCoA proviendraient de glomérules localisés préférentiellement dans la partie dorsale du BO (Miyamichi *et al.*, 2011). La littérature actuelle suggère que ces projections stéréotypées du BO vers l'amygdale corticale formeraient le substrat neuronal pour la génération des comportements innés médiés par l'odeur (contrairement aux projections diffuses du BO au PirCx qui sous-tendraient davantage les comportements acquis par l'apprentissage) (Root *et al.*, 2014).

1.4 - Le cortex entorhinal

Les afférences bulbaires sur l'EntCx sont mineures (Wilson & Rennaker, 2010). Il reçoit également l'information olfactive en provenance du PirCx et rétro-projette l'information sur les deux aires olfactives (Haberly & Price, 1978; Cleland & Linster, 2003; Agster & Burwell, 2009; Sosulski *et al.*, 2011). L'information en provenance du BO est transmise grâce aux cellules M au niveau de la partie latérale du EntCx, alors qualifié d'EntCx olfactif (Zald & Pardo, 1997; Igarashi *et al.*, 2012). L'EntCx latéral transmet l'information à l'hippocampe via la voie perforante (van Groen *et al.*, 2003). Ainsi connecté, l'EntCx fait partie des structures parahippocampiques et du système limbique.

A ce jour, notre connaissance de l'EntCx olfactif est limitée et son rôle dans le traitement de l'information olfactive est encore très mal connu. Les neurones du EntCx latéral sont sensibles aux odeurs (Boeijinga & Lopes da Silva, 1989; Eeckman & Freeman, 1990; Young *et al.*, 1997; Kay & Freeman, 1998; Chabaud *et al.*, 2000; Petrusis *et al.*, 2005). Compte tenu de son lien direct avec l'hippocampe, une aire essentielle au codage mnésique et au rappel des informations (Steward & Scoville, 1976; Igarashi *et al.*, 2014), le EntCx latéral pourrait jouer un rôle dans la modulation du codage de l'odeur par l'expérience et l'état physiologique (Xu & Wilson, 2012).

1.5 - Le tubercule olfactif

Dans cette section nous allons décrire en détails le TO pour lequel nous avons un intérêt particulier. Initialement connu pour son rôle dans les comportements motivés, il s'avère que l'information arrivant en son sein est majoritairement olfactive. Ceci fait de lui une structure d'intérêt dans l'étude du codage du pouvoir attractif ou répulsif des odeurs.

Le tubercule olfactif : un cortex olfactif unique

Anatomie du TO

L'organisation anatomo-fonctionnelle du TO a fait l'objet de plusieurs revues (Wesson & Wilson, 2011; Giessel & Datta, 2014) dont une récente revue illustrée qui présente le TO en trois dimensions et a permis de visualiser en détails les particularités anatomiques de cette structure ainsi que ses connexions avec les autres aires cérébrales (Xiong & Wesson, 2016).

Le TO a été décrit pour la première fois en 1896 par Rudolf Albert von Kölliker (Kölliker, 1896). Bien que sa localisation ainsi que sa taille diffèrent selon l'espèce, le TO est une structure retrouvée chez tous les mammifères dont l'Homme. Chez la souris, le TO est localisé

postérieurement au BO, au niveau du prosencéphale basal. Formant une large protubérance ellipsoïdale visible à l'œil nu à la surface ventrale du cerveau, il porte bien son nom de tubercule. Il est bordé antérieurement par le LOT, postérieurement par le chiasma optique, par le PirCx et la ligne inter-hémisphérique latéralement et médialement respectivement, localisé ventralement au pallidum ventral et au noyau accumbens (Millhouse & Heimer, 1984; Wesson & Wilson, 2011; Xiong & Wesson, 2016).

Comme les cortex sensoriels, le TO possède une organisation tri-laminaire (Brodmann, 1909; Pigache, 1970). Toutefois cette organisation en couche présente un dynamisme unique (Fig.3). D'une part, les couches du TO forment une succession de « villosités » communément appelées « collines » et « vallées » (Gray, 1924), ce qui différencie le TO de l'organisation d'un cortex classique (cortex piriforme ou auditif par exemple) qui possède des couches lisses et non repliées. D'autre part, et de manière privilégiée, le TO possède des regroupements denses de cellules appelés « îlots de Calleja » (ICs) (Calleja, 1893; Fallon *et al.*, 1978; Meyer *et al.*, 1989) retrouvés dans aucune autre région cérébrale (Adjei & Wesson, 2015).

Déjà au niveau de son anatomie globale le TO apparaît comme une région cérébrale unique.

Parmi les 3 couches du TO (Wesson & Wilson, 2011; Xiong & Wesson, 2016), la couche 1 ou « moléculaire » est la plus superficielle (ventrale) et reçoit notamment les afférences olfactives. La couche 2 appelée « couche des cellules denses » est particulièrement sinueuse et contient la majorité des corps cellulaires des cellules du TO. La couche 3 dite « couche des cellules multiformes » est la plus dorsale, elle est entremêlée de manière lâche avec le pallidum ventral et contient des faisceaux d'axones provenant d'une grande variété de zones cérébrales et quelques corps cellulaires (Millhouse & Heimer, 1984).

Les différentes couches du TO ont une morphologie très variable sur les trois axes (antéro-postérieur, dorso-ventral et latéro-médian) ce qui contribue fortement à la formation de « collines » et « vallées ». Plusieurs types cellulaires composent le TO (tels que les cellules naines, crescentes, en fuseau, radiées, piales), toutefois, les medium spiny neurons (MSNs) encore appelés neurones de projection épineux représentent le type cellulaire le plus répandu et principal du TO (Millhouse & Heimer, 1984). Ils sont de type GABAergiques, expriment à leur membrane deux types de récepteurs à la dopamine, les récepteurs D1 et les récepteurs D2 (Le Moine & Bloch, 1995; Bertran-Gonzalez *et al.*, 2008), et se projettent sur diverses structures cérébrales (Millhouse & Heimer, 1984) dont nous parlerons dans une prochaine section.

Les ICs sont des regroupements très denses de petits neurones granulaires GABAergiques (Hsieh & Puche, 2013) formés au cours du développement et qui ont la particularité de continuer à être approvisionnés en nouveaux neurones en post-natal grâce au phénomène de

neurogenèse olfactive adulte qui réside entre la zone sous ventriculaire et le BO. Les ICs, généralement au nombre de 10-20 par animal, ont une forme et une localisation très variables d'un animal à l'autre (Adjei & Wesson, 2015). Leur rôle reste très mystérieux à ce jour, mais il semblerait que leurs projections ciblent l'aire tegmentale ventrale (VTA, ou ventral tegmental area) (Fallon, 1983) suggérant un rôle dans les comportements motivés.

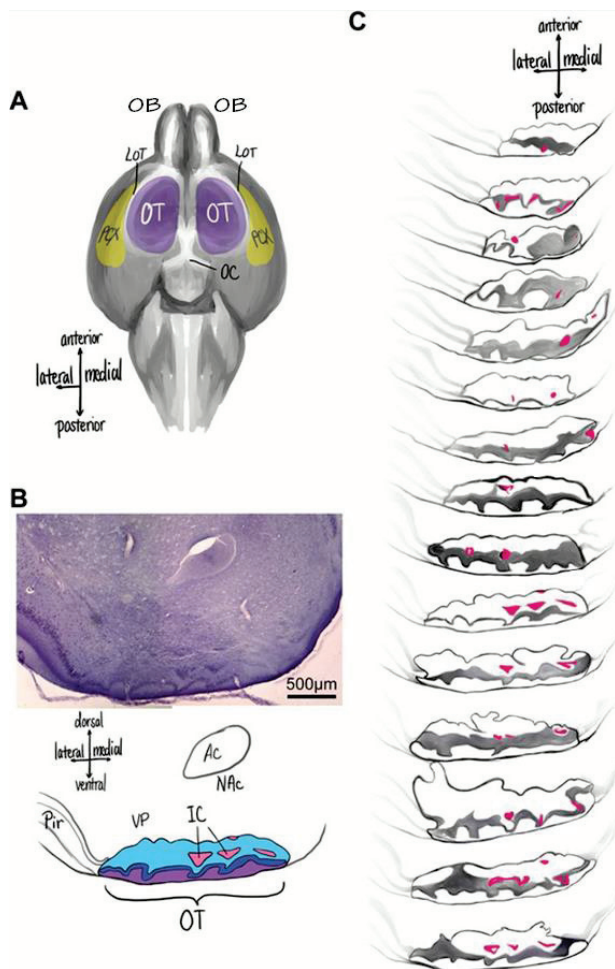


Figure 3. Anatomie générale du tubercule olfactif. A. Vue inférieure du cerveau qui montre la localisation du tubercule olfactif (OT en violet) par rapport au bulbe olfactif (OB), au cortex piriforme (PCX en jaune), au tractus olfactif latéral (LOT) et au chiasma optique (OC). B. (Haut) Image microscopique d'une coupe histologique coronale réalisée au niveau du tubercule olfactif et colorée au crésyl violet. (Bas) Représentation illustrée de cette même section indiquant les trois couches cellulaires du tubercule (couche 1 en violet, couche 2 en bleu foncé et couche 3 en bleu clair) et les îlots de Calleja (Ics en rose) localisés par rapport au cortex piriforme (Pir), au pallidum ventral (VP), au noyau accumbens (Nac) et à la commissure antérieure (AC). C. Représentation illustrée de coupes coronales successives couvrant le tubercule olfactif. Les couches cellulaires et les Ics (en rose) y sont figurés. D'après Xiong et Wesson (2016).

Innervation olfactive du TO (input olfactif)

Le TO est une structure intégrante du système olfactif, ce qui lui a valu son nom. Au stade embryonnaire, le neuro-développement du TO est étroitement corrélé à la mise en place de l'input olfactif (Schwob & Price, 1984a; b). Chez l'animal adulte, l'innervation olfactive est très dense et suggère que l'information olfactive entrante dans le TO ferait du stimulus olfactif le principal déclencheur de l'activité du TO.

De façon surprenante, le TO reçoit l'information olfactive de deux manières (Fig.4) : directement à partir du BO (afférences BO-TO) et indirectement en passant par le PirCx (afférences BO-PirCx-TO)(White, 1965; Haberly & Price, 1977; Luskin & Price, 1983; Schwob & Price, 1984a; Johnson *et al.*, 2000). Ainsi, la principale source d'information

olfactive qui arrive au TO provient des cellules relais glutamatergiques du BO. Bien qu'à la fois, les cellules M et P se projettent sur le TO (Haberly & Price, 1977; Scott *et al.*, 1980) l'innervation majoritaire provient des cellules P (Scott *et al.*, 1980; Imamura *et al.*, 2011). Il a également été reporté que les cellules P qui ciblaient le TO étaient notamment localisées dans la partie ventrale du BO (Scott *et al.*, 1980; Wesson & Wilson, 2011). Le TO reçoit également une forte innervation des fibres d'association du PirCx, résultant de ses cellules pyramidales (Luskin & Price, 1983; Johnson *et al.*, 2000).

L'existence de deux voies, directe et indirecte, d'innervation du TO à partir de deux types cellulaires bulbaires différents, cellules P et M respectivement, suggère que le TO posséderait des capacités de traitement des odeurs distinctes des autres cortex olfactifs.

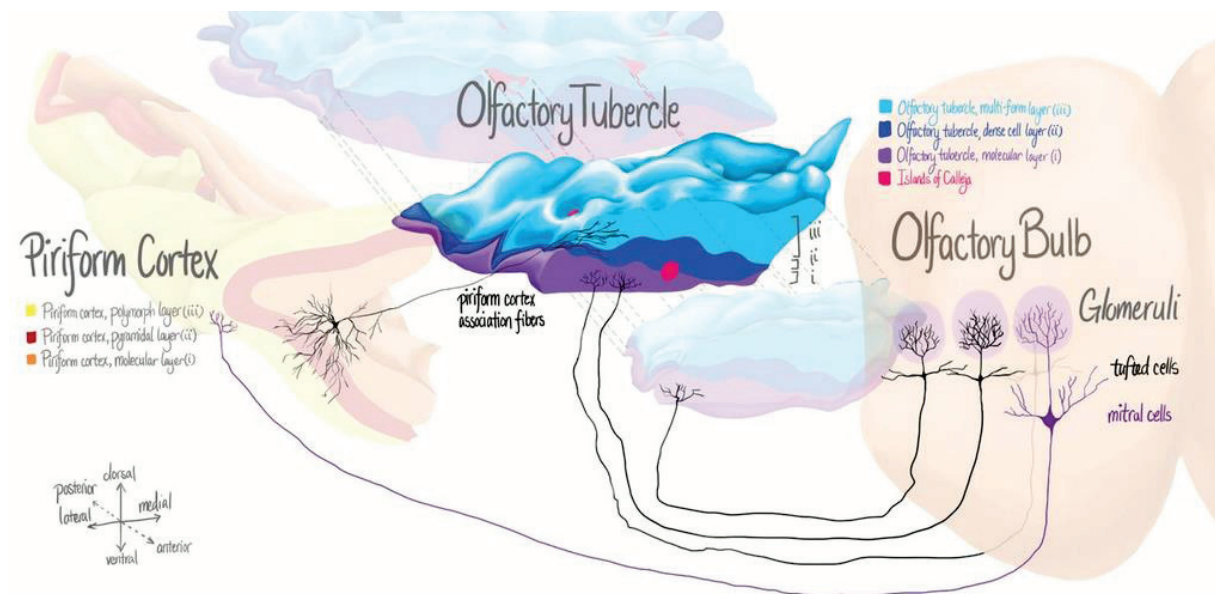


Figure 4. Représentation 3D illustrée des afférences olfactives du tubercule olfactif. Le tubercule olfactif (olfactory tubercle au centre en bleuté) reçoit l'information olfactive à partir de deux structures principales du système olfactif : directement à partir du bulbe olfactif (notamment cellules P) et indirectement à partir du cortex piriforme qui reçoit l'information du bulbe olfactif (notamment via les cellules M). D'après Xiong et Wesson (2016).

Connexions du TO avec les autres régions cérébrales

Sur le plan de l'anatomie fonctionnelle, le TO fait partie de trois réseaux neuronaux principaux. Compte tenu de sa localisation rostro-ventrale, le TO fait, tout d'abord, partie intégrante du prosencéphale basal. Deuxièmement, en tant que cible directe du BO, le TO rentre dans la définition des cortex olfactifs. Enfin, il est une composante du complexe striato-pallidal ventral qui intègre le pallidum ventral (VP, ou ventral pallidum) et le noyau accumbens (NAc, ou nucleus accumbens), formant tous ensembles ce qui est communément appelé le striatum ventral (VS, ou ventral striatum) (Millhouse, 1986; Ikemoto, 2007; Wesson & Wilson, 2011).

Le TO est connecté avec de nombreuses structures cérébrales appartenant vastement aux centres sensoriels, cognitifs, endocriniens et au système de la récompense (Wesson & Wilson, 2011). En plus de ses liens réciproques directs avec le BO et le PirCx (White, 1965; Scott *et al.*, 1980; Luskin & Price, 1983; Wesson & Wilson, 2011), le TO reçoit indirectement via l'amygdale, l'information olfactive de l'organe voméronasal, appartenant au système olfactif accessoire (Ubeda-Banon *et al.*, 2007).

Deuxièmement, en tant que composante du striatum ventral, le TO est très fortement interconnecté avec de nombreuses structures cérébrales impliquées dans la récompense, les émotions, la motivation, l'attention et les comportements locomoteurs (Heimer, 2003; Ikemoto, 2007). Particulièrement, le TO est d'une part fortement et bi-directionnellement connecté au NAc (Zahm & Heimer, 1993) et au VP (Fig.5). La majorité de l'information qui quitte le TO transite par le VP avant d'arriver au NAc. Il est à noter qu'il existe parallèlement une connectivité directe entre le TO et le NAc qui est permise au moyen de « ponts striataux » traversant le VP. Ainsi, il existe plusieurs voies possibles par lesquelles le complexe striato-pallidal ventral peut moduler le TO et vice versa. D'autre part, le TO est fortement et bi-directionnellement connecté à la VTA, centre dopaminergique et structure phare du système de récompense impliquée dans les comportements motivés (Del-Fava *et al.*, 2007; Ikemoto, 2007). Il semblerait que ce soient notamment les projections des ICs qui ciblent la VTA (Fallon, 1983). Les MSNs du TO projettent massivement sur le complexe striato-pallidal ventral, au niveau des régions latérales du VP et du NAc, et dans une moindre mesure sur le noyau caudé du putamen (Heimer & Wilson, 1975).

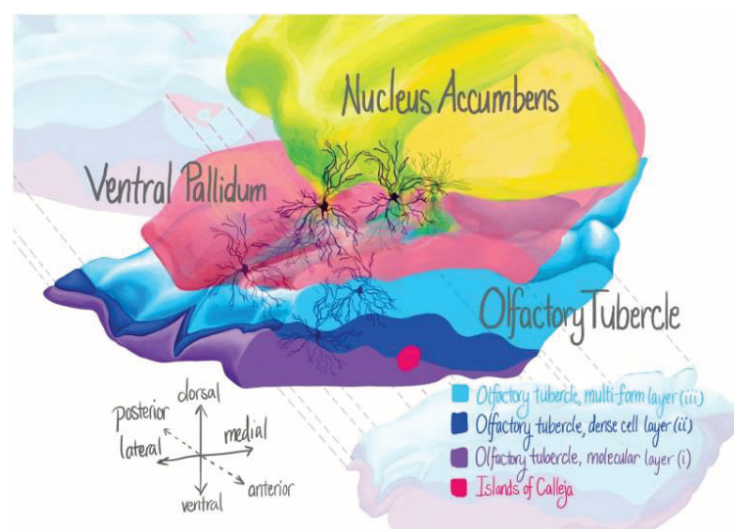


Figure 5. Illustration 3D de la connectivité du tubercule olfactif au sein du complexe striato-pallidal ventral. Les cellules y figurant représentent des neurones de projections épineux (MSNs) du tubercule innervant le pallidum ventral et également des MSNs à l'intérieur des ponts striataux qui connectent directement le tubercule au noyau accumbens. D'après Xiong et Wesson (2016).

Le TO innerve également deux autres régions importantes impliquées dans les comportements motivés : le cortex orbitofrontal (OFC (Barbas, 1993; Illig, 2005)) et l'habénula latérale (Fallon, 1983).

Ensuite, le TO reçoit des afférences supplémentaires des différents noyaux de l'amygdale (Fallon, 1983; Ubeda-Banon *et al.*, 2007; Usunoff *et al.*, 2009), de l'hippocampe (Kunzle, 2005), du thalamus et de l'hypothalamus (Fallon, 1983; Groenewegen & Berendse, 1990; Vertes & Hoover, 2008).

Enfin, le TO reçoit une innervation des systèmes neuro-modulateurs : noradrénergiques (à partir du locus coeruleus (Solano-Flores *et al.*, 1980; Guevara-Aguilar *et al.*, 1982)), cholinergiques (à partir de la branche diagonale de la bande de Broca (Price & Powell, 1970b)) et sérotoninergique (à partir des noyaux dorsaux et ventraux du raphé (Guevara-Aguilar *et al.*, 1982)).

Il est à noter que le TO est également le point de convergence des informations sensorielles visuelles et auditives (Mick *et al.*, 1993; Budinger *et al.*, 2006).

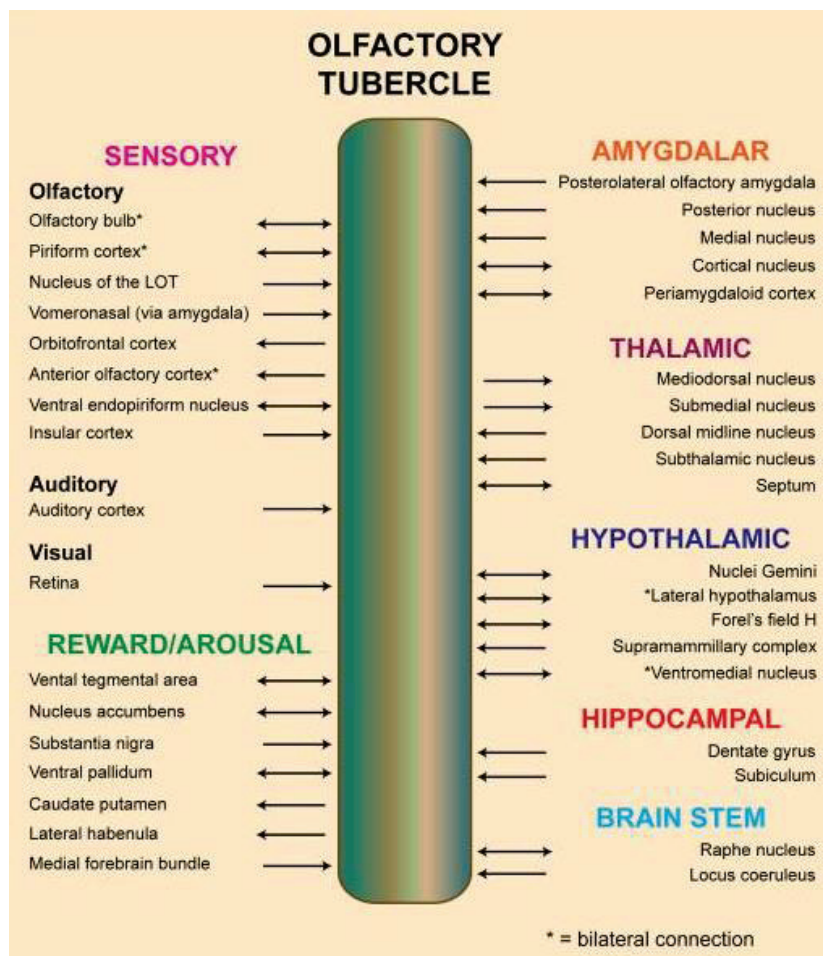


Figure 6. Représentation des connexions anatomiques actuellement connues du tubercule olfactif. Il est fortement interconnecté avec des structures sensorielles, cognitives, endocriniennes et du système de la récompense. Les flèches indiquent le sens des projections. D'après Wesson et Wilson (2011).

Pour conclure, l'organisation des projections afférentes et efférentes du TO le place comme un centre intégratif et une interface potentiellement critique entre le traitement sensoriel et la réponse comportementale.

Les différents rôles du tubercule olfactif

Traitement de l'information olfactive

Malgré la connaissance des projections massives du BO sur le TO depuis plus de 50 ans (White, 1965), l'étude du rôle du TO dans le traitement de l'information olfactive est juvénile et nous connaissons très peu de chose à ce sujet. Les recherches concernant le TO ont massivement porté sur son anatomie générale (Meyer & Wahle, 1986), sa neurochimie (Krieger *et al.*, 1983) et son implication dans le système de la récompense (Heimer, 2003; Ikemoto, 2007) mais ont largement ignoré son rôle sensoriel.

Des travaux d'imagerie fonctionnelle chez l'homme suggèrent que le TO serait crucial dans la détermination de la source olfactive ainsi que dans les processus d'attention olfactive (Zelano *et al.*, 2005; Zelano *et al.*, 2007). Contrairement au cortex piriforme à qui l'on attribuerait plutôt le codage de la valeur hédonique des odeurs (Zelano *et al.*, 2007).

A un niveau plus cellulaire, seulement quelques études réalisées chez le rongeur se sont intéressées au rôle olfactif du TO *in vivo*. En utilisant des approches électro-physiologiques d'enregistrements cellulaires chez l'animal anesthésié (Murakami *et al.*, 2005; Wesson & Wilson, 2010; Payton *et al.*, 2012; Rampin *et al.*, 2012), il a été montré que les neurones du TO avaient une activité spontanée d'environ 5 Hz (similaire à la fréquence de décharge spontanée des MSNs du striatum) qui était modulée par la respiration. Les neurones du TO voient leur taux de décharge modulé de quelques Hz (augmentation) suite à une stimulation odorante et cette réponse serait odeur-spécifique (Wesson & Wilson, 2010), conférant un rôle potentiel dans la discrimination des odeurs, similairement au BO (Zhou *et al.*, 2012) et au cortex piriforme (Kadohisa & Wilson, 2006; Rennaker *et al.*, 2007).

Véritable centre d'intégration multi-sensorielle

Le TO en plus de recevoir un input majoritairement olfactif est impliqué dans l'association des informations sensorielles (Mick *et al.*, 1993; Budinger *et al.*, 2006; Wesson & Wilson, 2010). En réalisant des enregistrements extracellulaires unitaires au niveau du TO de souris anesthésiées, les auteurs ont montré qu'une forte population neuronale (~65%) répondait sélectivement aux odeurs. Ils reportent également que 19% des neurones du TO répondaient lors de la présentation d'un son et 29% modulaient leur réponse de manière plus importante lors

de la présentation simultanée de l'odeur et du son. De façon intéressante les neurones du BO ne présentent aucune modulation lors de la présentation d'un son.

Ces données suggèrent que le codage olfactif opéré au niveau du TO est modulé par la stimulation auditive, et placent le TO comme un véritable centre d'intégration multi-sensorielle.

Comportements motivés

Le TO a été majoritairement étudié pour son rôle dans l'expression des comportements motivés (Ikemoto, 2003; 2007; Wesson & Wilson, 2011) dont nous parlerons plus longuement dans une prochaine section.

1.6 - Conclusion

En définitive, le réseau cérébral olfactif est très complexe et hautement plastique (influence du contexte, de l'apprentissage et de la mémoire), et a fait émerger la vision que les neurones des structures corticales olfactives ne coderaient pas simplement l'identité des odeurs, mais également des informations d'ordre supérieur telles que la valeur hédonique de l'odeur.

ORGANISATION DU SYSTEME DE LA RECOMPENSE

A – Qu'est-ce qu'une récompense ?

Certains stimuli ou événements dans l'environnement ont une signification motivationnelle particulière en raison de leurs effets sur la survie, la reproduction ou encore sur le bien-être. La valeur motivationnelle des stimuli environnementaux peut être gratifiante (c'est-à-dire récompensante ou appétitive) provoquant une approche ou alors aversive (c'est-à-dire punitive) induisant un évitement (Schultz, 1998).

Les récompenses (ou événements appétitifs) possèdent trois fonctions de base. En premier lieu, elles déclenchent une approche, une attraction, due à la valeur motivationnelle appétitive innée du stimulus considéré, aboutissant à une consommation. Deuxièmement, elles augmentent la fréquence et l'intensité du comportement menant à leur accès : c'est la phase d'apprentissage. Plus précisément, les récompenses maintiennent le comportement acquis en empêchant l'extinction : elles agissent comme des renforçateurs positifs du comportement. En effet, un comportement récompensé augmentera la probabilité de réaliser ce comportement lorsque des

conditions similaires se présenteront et conduira à une répétition accrue de ce comportement. Ce phénomène est communément appelé renforcement positif. La motivation de répéter un comportement spécifique peut être plus ou moins importante en fonction de la valeur incitative de la récompense. Dans leur troisième fonction, les récompenses induisent des sentiments subjectifs de plaisir (hédonie) et des états émotionnels positifs.

Les stimuli aversifs fonctionnent de manière opposée. Ils induisent des réponses de retrait et agissent comme des renforçateurs négatifs en augmentant et en maintenant le comportement d'évitement lors de présentations répétées, réduisant ainsi l'impact des événements néfastes. En outre, ils induisent des états émotionnels internes de colère, de peur et de panique.

B – Découverte d'un système spécifique de traitement des récompenses

Le système de la récompense, a été découvert pour la première fois en 1954 par James Olds et Peter Milner (Olds & Milner, 1954) grâce à un paradigme d'auto-stimulation. Dans cette étude, les auteurs ont implanté, dans le cerveau de rats et à diverses localités, des électrodes qui pouvaient délivrer de petits courants électriques lorsque les animaux pressaient un levier. De tels courants généraient des potentiels d'action au sein des neurones avoisinant l'électrode. Dans certaines de ces régions, les auteurs ont constaté un effet étonnant : au fil du temps, les animaux appuyaient de plus en plus sur le levier et s'auto-administraient les stimulations électriques avec une frénésie incroyable. Ils en oubliaient de s'alimenter et même une femelle ne pouvait pas distraire un mâle de son acharnement à presser le levier. Le levier exerçait une telle fascination chez les rats que plus rien d'autre ne semblait compter. La genèse des potentiels d'action dans les neurones des régions cérébrales ciblées a incité les animaux à appuyer encore et encore sur le levier, en d'autres termes, à répéter un comportement. Ce phénomène est une manifestation typique de la fonction de récompense dans l'apprentissage et le comportement d'approche. Olds et Milner avaient trouvé un corrélat neural de la récompense!

Depuis, des travaux sont venus compléter cette découverte et montrent que la majorité des régions capables de générer de tels comportements motivés/renforcés sont connectés au système dopaminergique (Corbett & Wise, 1980).

C – L'inextricable relation Dopamine-Récompense

L'acteur principal du système de la récompense, c'est la dopamine (DA).

L'obtention d'une récompense entrainera une augmentation de la libération de DA, qui est un neuro-modulateur. Des études pharmacologiques ont montré que la transmission dopaminergique joue un rôle décisif dans la réalisation des comportements motivés tels que l'auto-stimulation intracérébrale, l'auto-administration de drogues et dans d'autres renforcements positifs (Fibiger, 1978; Wise, 1978; Fibiger & Phillips, 1986; Wise & Bozarth, 1987; Ikemoto & Panksepp, 1999; Pierce & Kumaresan, 2006). Par exemple, il a été montré que l'auto-stimulation électrique était drastiquement réduite lors d'une altération de la transmission DAergique (Wise & Rompre, 1989), par une inhibition de la synthèse de DA (Edmonds & Gallistel, 1977) ou par un blocage de son action sur ses récepteurs au moyen d'un antagoniste (Fouriezos & Wise, 1976). D'autre part, l'auto-stimulation est facilitée par l'administration d'agonistes DAergiques (amphétamines) qui favorisent la libération de DA (Stein, 1964; Wauquier & Niemegeers, 1976; Colle & A., 1980).

Une modulation de la libération de DA peut modifier le traitement de l'information de récompense et les comportements motivés qui en découlent. Un autre cas est celui des drogues d'abus qui altèrent de façon drastique la libération de DA entraînant une recherche de drogue compulsive, témoin de l'addiction.

La DA impliquée dans le système de récompense est synthétisée par les neurones dopaminergiques (DAergiques) regroupés dans le mésencéphale, notamment au niveau de la VTA. Des études utilisant la technique d'optogénétique ont montré que les rongeurs apprennent facilement un comportement particulier (comme presser un levier) visant à obtenir une photostimulation qui excite les neurones DA de leur VTA, et que l'excitation de ces neurones induit une préférence de place conditionnée (test comportemental utilisé pour évaluer les propriétés renforçantes ou récompensante d'un stimulus) (Tsai *et al.*, 2009; Witten *et al.*, 2011). De manière plus naturelle, la présentation d'une récompense génèrera au sein des neurones DAergiques des potentiels d'action similaires à ceux obtenus lors des travaux d'auto-stimulation électrique (Olds & Milner, 1954; Schultz, 1986). D'autre part, plus la récompense est importante, plus la réponse des neurones DAergiques le sera également.

Si l'on s'intéresse de plus près à la fonctionnalité de ces neurones dans le processus de récompense, il s'avèrerait que les neurones DAergiques ne seraient pas seulement activés de manière grossière par l'arrivée d'une récompense mais répondraient également à un stimulus (un son, une lumière ou une odeur par exemple) qui pourrait prédire la venue d'une récompense, qui est alors dit conditionné. Au même titre que les récompenses primaires (comme le sucre par exemple), les récompenses conditionnées engendrent des comportements motivés d'approche

et sont traitées de la même manière par les neurones DAergiques, à savoir comme des informations pertinentes pour l'individu (Schultz, 2016).

Des travaux additionnels, menés initialement chez le singe puis confirmés chez l'homme et le rongeur (Schultz *et al.*, 1993; Schultz *et al.*, 1997; Pan *et al.*, 2005; Zaghoul *et al.*, 2009; Cohen *et al.*, 2012), ont encore précisé le rôle des neurones DAergiques. Ces travaux indiquent que les neurones DAergiques voient leur nombre de potentiels d'action augmenté lorsqu'une récompense est obtenue de manière inattendue. Toutefois, la réponse évoquée par la récompense (augmentation du nombre de potentiels d'action) disparaît lorsque la récompense délivrée était prédite. Cette réponse s'intensifie lorsque la récompense délivrée est plus grande que celle prédite et a contrario devient silencieuse lorsque la récompense est absente ou bien inférieure aux prédictions. En définitive, les neurones DAergiques coderaient ce que l'on nomme communément « l'erreur de prédiction » d'une récompense, qui représente la différence entre la récompense réellement obtenue et celle attendue. En d'autres termes, les neurones DAergiques émettent un message d'alerte renseignant sur la présence ou l'absence inattendue d'une récompense.

Ainsi, en signalant à la fois les récompenses et les stimuli qui les prédisent, les neurones DAergiques fournissent des informations sur les récompenses passées et à venir qui sont utiles pour l'apprentissage et la prise de décision (Schultz, 2016) visant à réitérer le comportement.

D – Le réseau dopaminergique méso-cortico-limbique

Bien que de nombreuses aires cérébrales soient en mesure d'induire un comportement d'auto-stimulation, les régions centrales du système de la récompense comprennent : le système dopaminergique de l'aire tegmentale ventrale, le complexe striato-pallidal ventral et le cortex orbitofrontal (Haber, 2011). Ensembles, ces régions forment le circuit méso-cortico-limbique que l'on nomme également circuit de la récompense ou système hédonique.

La voie DAergique qui prend principalement sa source au niveau de la VTA se projette sur le striatum ventral (VTA-VS, voie méso-limbique (Fallon & Moore, 1978; Swanson, 1982)) et sur le cortex préfrontal (VTA-PFC, voie méso-corticale (Fallon & Moore, 1978; Swanson, 1982; Bjorklund & Dunnett, 2007)).

1 – La voie méso-limbique

En utilisant des procédures diverses et variées (e.g. agents pharmacologiques, lésions, microdialyse), nombreuses sont les études qui se sont intéressées à cette voie méso-limbique, largement connue pour son rôle décisif dans de multiples comportements renforcés (Fibiger & Phillips, 1986; Wise & Bozarth, 1987; Ikemoto & Panksepp, 1999; Pierce & Kumaresan, 2006; Ikemoto, 2010).

Le striatum ventral (VS) est une structure des ganglions de la base et aurait pour rôle d'attribuer une valeur motivationnelle aux stimuli (Berridge & Robinson, 1998; Kapur & Mamo, 2003; Bromberg-Martin *et al.*, 2010). Généralement, le VS se définit par le groupement de deux structures anatomiquement très proches (Heimer, 1978) : le TO (détaillé précédemment) et le noyau accumbens (NAc). Le pallidum ventral (VP, ou ventral pallidum) sépare anatomiquement NAc (dorsal) du TO (ventral) (Fig.5) avec qui il est très enchevêtré (Millhouse, 1986; Ikemoto, 2007; Wesson & Wilson, 2011). D'autre part, ces trois structures (TO, VP et NAc) partagent de nombreuses similarités allant du développement embryologique aux critères neuro-chimico-anatomiques (Alheid & Heimer, 1988; de Olmos & Heimer, 1999; Voorn *et al.*, 2004; Ikemoto, 2007), faisant du VP une structure confondante au VS. Ainsi, il n'est pas rare dans la littérature que le VP soit intégré au VS. Pour plus de clarté nous réserverons le terme « VS » pour désigner le TO et le NAc, et parlerons de « complexe striato-pallidal ventral » lorsque le VP est inclus.

1.1 – Le striatum ventral

La motivation requière une interaction entre l'information sensorielle et les voies de la récompense ainsi que de la motricité. Idéalement situé au croisement de divers réseaux neuronaux impliqués dans ces processus, le VS est régulé par de nombreuses régions cérébrales (Pennartz *et al.*, 1992; Meredith *et al.*, 1993; Haber, 2011; Salgado & Kaplitt, 2015) et se définit comme la région striatale de choix dans l'orchestration des comportements motivés.

Nous l'avons abordé, le VS résulte de la formation collective du NAc et du TO.

Le noyau accumbens

Le NAc est une structure située dans le prosencéphale basal. De manière général le NAc a été impliqué dans de multiples fonctions cognitives liées au traitement des stimuli récompensants

de manière générale, dans la motivation, les émotions, dans les apprentissages renforcés, dans le processus d'aversion ainsi que dans l'addiction (Koob & Bloom, 1988; Willner *et al.*, 1992; Malenka *et al.*, 2009; Olsen, 2011; Wenzel *et al.*, 2015).

Tout comme pour le TO, et pour le VP, les représentants cellulaires majeurs du NAc sont les neurones de projection GABAergiques épineux, les MSNs (Medium Spiny Neurons, ~95%). L'activité des MSNs représente le message principal de sortie (GABA) du NAc (et du complexe striato-pallidal ventral de manière générale). L'information (GABA) est envoyée au VP qui constitue la voie efférente principale du NAc, ainsi qu'à la VTA et à la substance noire (Heimer & Wilson, 1975; Nauta *et al.*, 1978; Heimer *et al.*, 1982; Haber *et al.*, 1990; Haber, 2011).

Les MSNs reçoivent des afférences glutamatergiques en provenance du cortex préfrontal, de l'hippocampe et de l'amygdale ; sérotoninergiques depuis le raphé ; noradrénergiques depuis le locus coeruleus et dopaminergiques en provenance de la VTA (Pennartz *et al.*, 1992; Meredith *et al.*, 1993). Enfin, les MSNs peuvent être inhibés, localement par les interneurons GABAergiques et cholinergiques du NAc (Kawaguchi *et al.*, 1995), mais aussi par les collatérales des MSNs voisins (Chang & Kitai, 1985) et par ceux du TO (Wesson & Wilson, 2011).

Le Nac a été décrit comme un agrégat particulier de neurones formant un noyau interne appelé « Core » entouré par une coque externe nommée « Shell » (Malenka *et al.*, 2009). Les différences entre le Core et le Shell sont définies par divers critères histochimiques, électrophysiologiques, connectiques et cellulaires (Wright & Groenewegen, 1996) mais sont difficiles à discerner anatomiquement (Neto *et al.*, 2008; Mavridis *et al.*, 2011). Le Core, qui représente majoritairement la partie dorsale du NAc, et le Shell, qui s'étend plutôt ventro-médialement, sont connus pour avoir des fonctions différentes (Ikemoto, 2007). Par exemple, le NAcCore est associé au contrôle moteur des comportements motivés, tandis que le NAcShell a un rôle direct dans le traitement cognitif des processus de récompense/motivation/renforcement (Deutch & Cameron, 1992; Meredith *et al.*, 1993; Berlanga *et al.*, 2003; Malenka *et al.*, 2009; Baliki *et al.*, 2013; Berridge & Kringelbach, 2015; Saddoris *et al.*, 2015). En effet, il a été montré que des rats apprenaient à s'auto-administrer des drogues (amphétamine ou cocaïne) ou un agoniste DAergique dans le NAcShell mais pas dans le NAcCore (Carlezon *et al.*, 1995; Ikemoto *et al.*, 1997; Rodd-Henricks *et al.*, 2002; Ikemoto, 2003; Ikemoto *et al.*, 2005). D'autre part, le blocage pharmacologique des récepteurs DAergiques du NAcShell, mais pas ceux du NAcCore, altère la préférence de place conditionnée induite par une drogue, c'est à dire le pouvoir renforçant de la drogue (Fenu *et al.*, 2006; Spina *et al.*, 2006). Il a aussi été montré qu'une récompense naturelle comme une nourriture augmentait la concentration de DA spécifiquement dans la

partie Shell du NAc (Bassareo & Di Chiara, 1997). En conséquence, le NAcShell a été relié plus fortement au système de la récompense que le NAcCore.

Le tubercule olfactif

En tant que composante du striatum ventral, le TO fait partie intégrante du système de la récompense et a été massivement étudié pour son rôle dans les comportements motivés. Des études ont montré que la stimulation électrique du TO était renforçante (Prado-Alcala & Wise, 1984; Fitzgerald *et al.*, 2014). Dans ces travaux, les auteurs ont révélé que des animaux implantés avec des électrodes au niveau TO apprenaient d'eux-mêmes à presser un levier qui permettait d'y délivrer une stimulation électrique. En d'autres termes, les animaux s'auto-administraient activement la stimulation électrique au niveau du TO. De façon cohérente, Ikemoto a montré en 2003 qu'une infusion de cocaïne directement dans le TO de rats induisait une préférence de place conditionnée à l'endroit où la cocaïne était infusée et que les animaux s'auto-administraient la cocaïne dans le TO. Une autre étude a montré par une approche électrophysiologique que le TO répondait massivement (~78% des neurones) lors d'une injection veineuse de cocaïne (Striano *et al.*, 2014).

Le TO serait impliqué dans les comportements addictifs ainsi que dans le processus de récompense lié aux drogues d'abus (Ikemoto, 2003). Le rôle du TO dans des comportements motivés envers une récompense naturelle a également été démontré. Par exemple, des lésions du TO réduisent le comportement sexuel chez le rat mâle (Hitt *et al.*, 1973). Plus récemment, Gadziola et Wesson (2016) ont enregistré les neurones du TO chez des souris engagées dans une tâche comportementale visant à obtenir une récompense (accès limité à de l'eau après privation). Les auteurs ont montré que les neurones du TO modulaient leur activité avant et au moment de l'obtention de la récompense. De manière intéressante, les auteurs ont également révélé que les neurones du TO étaient capables de discriminer la valeur de la récompense. Ces données suggèrent que le TO possède un rôle important dans le traitement de l'information liée à la récompense ainsi que dans l'orchestration des comportements motivés (Gadziola & Wesson, 2016).

1.2 – Le pallidum ventral

Le VP est la voie principale de sortie du message limbique. Autrefois associé principalement aux fonctions motrices, le VP apparaît aujourd'hui comme une structure de la récompense à part entière. Comme le NAc, le VP est un point de convergence des signaux de récompense,

des processus cognitifs, affectifs et moteurs, et de nombreuses études ont prouvé la nécessité du VP dans le processus de récompense, de motivation et de plaisir hédonique (Smith *et al.*, 2009). Le VP aurait un rôle majeur dans la récompense alimentaire, le sexe, les interactions sociales et autres récompenses secondaires comme l'argent. L'effet renforçant des drogues d'abus serait également médié, au moins en partie, par le VP (Ikemoto, 2010).

Comme les autres structures du complexe striato-pallidal ventral (NAc et TO), les MSNs GABAergiques sont les représentants neuronaux majoritaires du VP. Ils reçoivent l'information principalement du NAc et du TO, mais aussi notamment de la VTA, du cortex frontal, de l'amygdale et de l'hypothalamus (Smith & Kieval, 2000; Pierce & Kumaresan, 2006; Smith *et al.*, 2009). En retour les MSNs du VP rétro-projettent sur la plupart de ces structures. Ils assurent le transfert de l'information sortante à la VTA (Mahler *et al.*, 2014) et à l'habénula latérale, une structure connue pour son rôle dans le traitement des signaux aversifs. Le VP cible également la substance noire, le thalamus et l'hypothalamus.

Similairement au NAc, il a été découvert au niveau du VP une zone exclusivement dédiée au codage du plaisir hédonique, un hedonic hotspot. Un fait étonnant est qu'il semblerait que cette zone du VP soit la seule aire cérébrale connue à ce jour où la lésion des neurones abolirait et inverserait la préférence et le plaisir hédonique, provoqué initialement par un stimulus sucré, en déplaisir ou dégoût (Cromwell & Berridge, 1993; Smith & Berridge, 2005; Ho & Berridge, 2014; Berridge & Kringelbach, 2015).

2 – La voie méso-corticale : importance du cortex orbitofrontal

Les études d'auto-administration intracérébrales ont également révélé que les rats apprenaient à s'auto-administrer des drogues dans une autre structure de projection de la VTA : la région médiale du cortex préfrontal médian (PFC, ou Prefrontal Cortex), c'est la voie méso-corticale (Goeders & Smith, 1983; Goeders *et al.*, 1986; Carlezon & Wise, 1996; Gardner & Ashby, 2000; Ikemoto, 2010).

Le PFC peut être divisé en 3 régions principales (Fuster, 1997) : le champ oculomoteur frontal (impliqué dans le contrôle visuo-moteur (Schall, 2004)), le PFC dorso-latéral (impliqué dans la mémoire spatiale (Fuster, 1997; Rolls & Treves, 1998)) et la région orbitale du PFC encore appelée « cortex orbitofrontal » (OFC).

Le OFC s'étend en médial et latéral à la surface ventrale du pôle rostral du cortex préfrontal (Hoover & Vertes, 2011). De manière générale, le OFC est impliqué dans la récompense, les émotions, la motivation et la prise de décision (Fuster, 2001; Schoenbaum *et al.*, 2006; Haber,

2011). Il est le point de convergence des informations sensorielles notamment visuelles, somato-sensorielles, gustatives et olfactives (Rolls, 2000), et est ainsi considéré comme une structure d'intégration multi-sensorielle. L'OFC a notamment été impliqué dans le traitement des odeurs (Zatorre *et al.*, 1992; Zald & Pardo, 1997; Sobel *et al.*, 1998; Zald *et al.*, 1998; O'Doherty *et al.*, 2000; Sobel *et al.*, 2000; Rolls, 2001; Savic, 2001; Schoenbaum *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2010) et est considéré comme une aire olfactive tertiaire. Il reçoit l'information olfactive à partir du PirCx directement ou indirectement à partir du thalamus (Ray & Price, 1992; Mori, 2014).

Des études chez l'animal montrent non seulement que les neurones de l'OFC répondent à des stimulations sensorielles variées (Rolls, 1997; Rolls *et al.*, 1999), mais aussi que les réponses sont souvent liées à la valeur affective des stimuli ainsi qu'à leurs propriétés sensorielles. Par exemple, l'enregistrement chez le rat des neurones de l'OFC au cours d'une tâche d'apprentissage associatif révèle que ces neurones codent davantage pour les propriétés de récompense d'une odeur que pour son identité (Schoenbaum & Eichenbaum, 1995). En effet, l'OFC fait partie intégrante du circuit de la récompense, au même titre que le complexe striato-pallidal ventral et la VTA avec qui il est très interconnecté (Ongur & Price, 2000; Schoenbaum *et al.*, 2006; Haber, 2011), mais semble unique parmi ces régions dans son codage de l'identité des stimuli sensoriels en plus de leurs propriétés renforçantes (Schultz, 1998).

En définitive, le OFC serait impliqué dans le traitement de la dimension affective des stimuli et relierait les signaux sensoriels à une conséquence comportementale (comme une récompense par exemple) (Dalley *et al.*, 2004; Schoenbaum & Roesch, 2005; Schoenbaum *et al.*, 2007; Schoenbaum & Esber, 2010).

De manière intéressante, des études de neuroimagerie ont révélé chez l'homme une zone au sein de l'OFC qui semble particulièrement liée au plaisir hédonique (Berridge & Kringelbach, 2015). Cette zone, localisée dans la sous-région antéro-médiale de l'OFC, pourrait être un analogue des hedonic hotspots identifiés chez les animaux. Il est important de noter que l'existence d'un PFC (dont l'OFC) a longtemps été controversée chez les rongeurs chez qui il serait moins développé par rapport aux primates humains et non-humains (Uylings & van Eden, 1990). Néanmoins, la littérature actuelle s'accorde sur l'existence de régions très homologues entre ces espèces (Ongur & Price, 2000; Uylings *et al.*, 2003) et valide l'hypothèse d'un PFC chez le rongeur.

Et effectivement, en support de ces allégations, il tout récemment été validé la présence d'un hedonic hotspot dans le OFC antérieur chez le rat (Castro & Berridge, 2017).

B – Système de la récompense et olfaction

Nous l'avons compris, le système de la récompense est le mentor des comportements motivés. Ce système a été largement étudié en parallèle de la fonction olfactive lors d'apprentissages conditionnés appétitifs ou aversifs. Dans ces paradigmes, l'odeur était associée par conditionnement à une récompense (ou une punition) et utilisée comme signal afin de prédire l'obtention de la récompense (ou de la punition). Dans ces tests, la fonction olfactive n'était que le subalterne du système de la récompense. L'odeur était utilisée comme un moyen, au même titre qu'un stimulus sonore ou lumineux, pour prédire la récompense afin d'étudier les divers aspects de son traitement (erreur de prédiction par exemple). Ainsi, ces paradigmes, utilisés dans la majorité des études, ne permettent pas d'évaluer le rôle du système de récompense dans le traitement du caractère sensoriel olfactif en tant que tel. Une étude très récente a montré chez des rats privés en eau que le système de récompense répondait (activité DAergique au niveau du VS) lors d'une stimulation olfactive préalablement conditionnée par, et donc annonciatrice d'une récompense liquide (Menegas *et al.*, 2017). D'autres travaux, toujours menés chez des rats privés en eau, ont montré qu'un son ou une lumière associés à une récompense liquide évoquaient également une réponse du système de récompense (activité du NAc appartenant au VS (Wilson & Bowman, 2005)). Ensembles, ces résultats sous-entendent que le système de récompense traiterait ces signaux sensoriels (olfactif, auditif et visuel) comme des prédicteurs d'une récompense, indépendamment de leur nature. De manière très intéressante, dans leur étude, Menegas et coll. (2017) montrent également que le système de récompense (activité DAergique au niveau du VS) n'était recruté par l'odeur que secondairement, après que celle-ci ait été couplée à une récompense. Cette importante découverte suggérerait que le système de récompense ne coderait pas l'information olfactive en tant que telle mais la traiterait lorsque celle-ci serait teintée des caractéristiques motivationnelles de la récompense qu'elle prédit. Néanmoins, une odeur pourrait-elle, purement à elle seule, représenter une récompense? Les odeurs guident les comportements d'approche et de retrait suivant leur dimension hédonique. Cette motivation comportementale pourrait être fonction des signaux olfactifs. Ainsi le traitement de l'information olfactive sans association particulière au préalable pourrait nécessiter la mise en jeu du circuit de la récompense pour guider les comportements fondamentaux d'approche et de retrait d'une source odorante.

Cette hypothèse est supportée par le fait que le TO, structure appartenant au cortex olfactif, fait partie intégrante du système de la récompense/motivation (Ikemoto, 2003; 2007; Wesson & Wilson, 2011) et pourrait constituer une porte d'entrée pour l'information olfactive à destination de ce système.

LE CODAGE CEREBRAL DE LA VALEUR HEDONIQUE DES ODEURS

A – Chez l'homme

L'hypothèse d'une signature cérébrale de la valeur hédonique des odeurs provient de données physiologiques et comportementales obtenues principalement chez l'homme qui suggèrent un traitement cérébral de l'information olfactive différent en fonction du caractère plaisant ou déplaisant de l'odeur présentée. Depuis, de nombreuses études ont été réalisées en priorité chez l'homme, en prenant avantage de la verbalisation possible des perceptions, et se sont employées à déterminer les circuits cérébraux à l'origine de la valeur hédonique des odeurs. Grâce à des approches telles que la tomographie à émission de positons (TEP) ou l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf), ces études ont montré que le traitement de la valeur hédonique des odeurs recrute de manière générale des structures appartenant aux cortex olfactifs secondaire et tertiaire : l'amygdale, le cortex piriforme, le cortex orbitofrontal et l'insula.

L'amygdale, qui est connue pour son rôle clé dans l'expression des émotions, s'active différemment selon la valeur hédonique de l'odeur présentée. Toutefois, l'engagement de l'amygdale dans la perception hédonique est encore sujet de controverse et de discorde. Tandis que certains mettent en évidence une activité accrue de cette région en réponse aux odeurs plaisantes ou encore déplaisantes (Zald & Pardo, 1997; Royet *et al.*, 2003; Patin & Pause, 2015), d'autres ne révèlent aucune influence de la valeur hédonique sur l'activité de l'amygdale (Gottfried *et al.*, 2002a; Anderson *et al.*, 2003), qui traiterait davantage la dimension d'intensité de l'odeur (Anderson *et al.*, 2003; Rolls *et al.*, 2003).

Plus récemment, une étude soutient que l'amygdale posséderait la capacité de coder la totalité de la dimension hédonique (graduellement de déplaisant à plaisant) indépendamment de l'intensité, grâce à des variations spatio-temporelles de l'activité (Jin *et al.*, 2015). Les auteurs montrent notamment que la sensibilité précoce de l'amygdale est donnée prioritairement aux

odorants déplaisants. Ils montrent également que les patrons spatiaux d'activité de l'amygdale en réponse aux odeurs de vanille et de citron, deux odeurs jugées plaisantes, sont très chevauchants/similaires et très divergents de celui obtenu en réponse à l'odeur déplaisante d'œuf pourri.

Le cortex piriforme s'est révélé particulièrement impliqué dans le traitement de l'information olfactive hédonique.

L'activité du PirCx serait accrue lors de la présentation d'odeurs plaisantes ou déplaisantes par rapport à la présentation d'odeurs évaluées comme neutres (Gottfried *et al.*, 2002a). De plus, le PirCx s'active de manière plus importante en réponse aux odeurs déplaisantes que plaisantes (Royet *et al.*, 2003; Zelano *et al.*, 2007), et de manière intéressante, ce résultat est également retrouvé en absence de stimulation olfactive, en condition d'imagerie mentale (c'est-à-dire lorsque les sujets ont pour consigne de s'imaginer sentir les odeurs) (Bensafi *et al.*, 2007). D'autre part il a été suggéré que les parties antérieure et postérieure du PirCx n'interviendraient pas de la même manière dans le traitement cérébral de la valeur hédonique des odeurs. Gottfried et collab. (2002) ont montré que le PirCxp s'activait en réponse à toutes les odeurs présentées, de manière indifférenciée, tandis que l'activation du PirCxa serait dépendante de la valeur hédonique de l'odeur. Les auteurs suggèrent que la partie antérieure du PirCx représenterait davantage la valeur hédonique des odeurs et que la partie postérieure serait préférentiellement vouée au traitement perceptif élémentaire comme la détection des odeurs (Gottfried *et al.*, 2002a). De façon surprenante, d'autres travaux proposent que le rôle du PirCxp serait plastique et pourrait intervenir dans la représentation hédonique apprise des odeurs (Gottfried *et al.*, 2002b; Li *et al.*, 2008). Par exemple, l'activité du PirCxp est modulée après un apprentissage associatif, où une odeur, couplée à un choc électrique acquière alors une valeur émotionnelle négative.

Le cortex orbitofrontal est une structure encore très mal définie du fait de ses multiples fonctions. Elle est un point de convergence des informations sensorielles issues des différentes modalités (goût, olfaction, vision et somato-sensorielle), et jouerait un rôle notamment dans l'intégration sensorielle, l'apprentissage associatif, la détermination et l'évaluation de la valeur d'une récompense, la prise de décision et les comportements émotionnels. Une étude d'IRMf a révélé que la région antéro-latérale de l'OFC permettrait l'évaluation d'une différence d'hédonicité entre les odeurs tandis que la partie médiale représenterait la valeur hédonique absolue de l'odeur (Grabenhorst & Rolls, 2009).

D'autres auteurs montrent que le OFC serait préférentiellement activé au niveau médial en réponse aux odeurs plaisantes et en latéral en réponse aux odeurs déplaisantes (Gottfried *et al.*, 2002a; Anderson *et al.*, 2003; Rolls *et al.*, 2003).

L'*Insula* contribue à la gustation, à la mémoire ainsi qu'à la motricité (Mauss & Robinson, 2009), mais elle est surtout connue pour son rôle dans les émotions de dégoût. Royet et ses collaborateurs (Royet *et al.*, 2003) ont montré que l'insula ventrale était plus activée en réponses aux odeurs déplaisantes. En 2009, une autre étude précise la localisation de l'activation de l'insula par les odeurs déplaisantes au niveau antérieur (Grabenhorst & Rolls, 2009). Tout comme pour le piriforme, les odeurs déplaisantes suscitent une activation de l'insula aussi lorsque l'odeur est absente, en condition d'imagerie mentale, quand les sujets se représentent l'odeur (Bensafi *et al.*, 2007). Enfin, l'étude de Wicker et coll. (2003) confirme le rôle de l'insula antérieure dans la représentation des odeurs de dégoût et montre également une activation de l'insula postérieure par les odeurs plaisante (Wicker *et al.*, 2003).

En définitive et de manière prédictible, la perception hédonique des odeurs semble nécessiter des régions intégrantes au système olfactif. Nous l'avons vu, **le tubercule olfactif** est une structure olfactive corticale secondaire qui a été proposée comme une aire potentiellement importante dans le codage neural de la valeur hédonique des odeurs (Wesson & Wilson, 2011). Chez l'homme, la documentation bibliographique renseignant le rôle de cette structure dans la perception olfactive est quasi absente. A notre connaissance une seule étude en IRMf suggère une potentielle implication du TO dans la représentation hédonique des odeurs (de Araujo *et al.*, 2005). Dans cette étude, dont l'objectif était d'évaluer les effets de l'information sémantique sur la réponse neurale aux odeurs, une odeur test (l'acide isovalérique qui rappelle une odeur de fromage) étiquetée soit avec le descripteur verbal « fromage » soit avec celui « odeur corporelle » était présentée aux sujets. Les auteurs montrent d'une part que les descripteurs sémantiques influencent l'évaluation subjective hédonique des odeurs : l'odeur test étiquetée « fromage » était évaluée plutôt neutre tandis qu'elle était évaluée déplaisante lorsqu'elle portait la mention « odeur corporelle ». D'autre part, les auteurs montrent une corrélation positive entre le signal BOLD (témoin de l'activité cérébrale) mis en évidence en IRMf au niveau de certaines structures cérébrales et l'évaluation hédonique de l'odeur test. Ainsi, les régions cérébrales dont l'activité a été corrélée à l'évaluation hédonique comprenaient le cortex cingulaire antérieur, une région proche du OFC médial, l'amygdale et une région définie comme étant à l'intérieur ou proche du TO. Ces données nécessitent un raffinement spatial

(activité décelée au sein du TO ou dans une région adjacente) mais soulèvent la question de l'engagement du TO dans le codage de la valeur hédonique des odeurs.

Si les allégations envers le rôle du TO dans le codage hédonique des odeurs s'avèrent vraies, et compte tenu de sa localisation charnière entre le système olfactif et système de la récompense/motivation, ce dernier système pourrait être mobilisé à son tour. En 2012 Bensafi et coll. ont évalué, par IRMf, l'activité cérébrale en réponse à des mixtures d'odorants plaisants (Rose et Orange) et déplaisants (CO₂). De manière intéressante, ils ont montré que la VTA est davantage activé par les mixtures jugées plaisantes en comparaison aux mixtures jugées déplaisantes (Bensafi *et al.*, 2012). Nous l'avons vu, la VTA est une structure clé du processus de la récompense et suggère ainsi qu'une odeur plaisante activerait le système de la récompense/motivation qui pourrait potentiellement permettre l'attraction envers cette odeur.

Ces études fonctionnelles chez l'homme ont permis de montrer que les odeurs plaisantes et déplaisantes recrutent des réseaux cérébraux différents. Nous l'avons abordé dans la première partie, la valeur hédonique des odeurs est une dimension sensorielle hautement plastique dépendante de multiples facteurs, et notamment de l'expérience. Chaque individu évolue depuis l'enfance dans un contexte qui lui est spécifique et qui façonne ses préférences olfactives. Ce contexte autobiographique est difficilement contrôlable lors d'expériences de recherche en neurosciences fondamentales (notamment chez l'homme) et les études portant sur la valeur hédonique des odeurs sont loin d'être consensuelles, ce qui complique l'interprétation des résultats et ralentit l'identification précise des circuits cérébraux impliqués dans le traitement de l'aspect hédonique des odeurs.

B – La valeur hédonique des odeurs : théorie de l'acquis vs théorie de l'inné

Pendant longtemps la dimension olfactive hédonique a été considérée comme acquise, inhérente à l'apprentissage et indépendante de l'odorant lui-même (Engen, 1973). Elle serait le résultat d'une association préalable (ou conditionnement) entre un stimulus sensoriel (une odeur) et une conséquence physiologique. Par exemple chez l'homme, les odeurs ont un fort pouvoir évocateur du contexte dans lequel elles ont été senties, tout comme le montre l'exemple souvent évoqué de la madeleine de Proust. Ainsi, une odeur associée à un contexte ou à une expérience

agréable sera assignée d'une valeur hédonique positive. A l'inverse une odeur associée à une mauvaise expérience acquerra un caractère désagréable. Ainsi la valeur hédonique des odeurs serait le fruit d'un apprentissage associatif (Engen, 1991; Herz & von Clef, 2001).

Si l'on en croit cette théorie, les innombrables molécules odorantes qui composent notre environnement seraient toutes initialement et similairement neutres, et ne provoqueraient ni attraction, ni répulsion. Les préférences olfactives apparaîtraient plus tard, après assignation d'une valeur hédonique positive ou négative à une odeur en fonction de l'expérience notamment, et seraient façonnées tout au long de la vie. Si l'on en croit cette théorie, il n'y aurait pas de signature neurale propre (ou intrinsèque) de la valeur hédonique des odeurs, et les activations cérébrales hédoniques mentionnées précédemment lors des études d'imagerie reflèteraient en réalité l'association d'une odeur avec une expérience, un contexte, un souvenir plus ou moins agréable. Cette théorie explique les divergences observées dans les résultats recensés dans la littérature. En effet, l'expérience autobiographique étant propre à chacun, il est difficile de reproduire entre les sujets des conditions expérimentales semblables.

Le postulat selon lequel la valeur hédonique des odeurs dépendrait de l'expérience et du contexte a été validé à de nombreuses occasions et est largement admis aujourd'hui (chez l'homme (Mennella & Beauchamp, 1997; Zald & Pardo, 1997; Robin *et al.*, 1999; Gottfried *et al.*, 2002b; Doty, 2003; Royet *et al.*, 2003; Wicker *et al.*, 2003; Herz, 2004; Mennella *et al.*, 2004; Winston *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2006; Yeomans *et al.*, 2006; Bensafi *et al.*, 2007; Grabenhorst *et al.*, 2007; Zelano *et al.*, 2007; Barkat *et al.*, 2008; Mennella & Forestell, 2008; Rinck *et al.*, 2011; Bensafi *et al.*, 2012; Caous, 2015)).

Cependant, la littérature en faveur de l'existence d'une valeur hédonique innée, intrinsèque à l'odeur, se multiplie. Chez l'homme, l'exemple le plus probant est que la valeur hédonique a été reliée à la structure des odorants et à la réponse neurale des récepteurs olfactif humains (Khan *et al.*, 2007; Mandairon *et al.*, 2009; Saito *et al.*, 2009; Haddad *et al.*, 2010). Une autre étude importante vient étayer ces énonciations en montrant que l'organisation de l'épithélium olfactif humain reflète, au moins en partie, la perception hédonique des odeurs (Lapid *et al.*, 2011). En effet dans cette étude, les auteurs montrent qu'une zone de l'épithélium qui s'active de manière très importante en réponse à un odorant évalué comme plaisant (ou à l'inverse déplaisant) est susceptible de répondre très intensément aux autres odorants évalués comme plaisants (ou à l'inverse déplaisants). De plus, une élégante étude a rapporté que la perception hédonique des odeurs pouvait être modulée en fonction du polymorphisme génétique des ORs (Keller *et al.*, 2007). Ainsi, la perception hédonique d'un odorant, qui active un récepteur donné,

sera évaluée différemment, en fonction du variant génétique de l'OR exprimé dans l'épithélium des individus concernés.

Chez l'animal, les réponses comportementales d'attraction et d'aversion sont également conditionnées par l'apprentissage (Fillion & Blass, 1986; Sullivan *et al.*, 1990; Sullivan & Wilson, 1991; 1993; Schoenbaum *et al.*, 1999; Moriceau & Sullivan, 2004b; Moriceau *et al.*, 2006; Sevelinges *et al.*, 2007; Wilson & Sullivan, 2011; Sadrian & Wilson, 2015; Xia *et al.*, 2015; Perry *et al.*, 2016). Par exemple chez les très jeunes rongeurs, la présentation simultanée d'une odeur non familière d'orange normalement évitée avec une stimulation ayant une signification biologique rappelant la présence maternelle (odeur de salive issue la mère ou stimulation tactile) augmente l'attraction envers l'odeur d'orange (Sullivan *et al.*, 1986). Chez le rongeur adulte, un comportement d'approche ou d'évitement d'une odeur peut être provoqué en associant au préalable cette odeur à une récompense (eau sucrée) ou à un stimulus aversif (eau amère) respectivement (Kay & Laurent, 1999).

Néanmoins, comme mentionné dans une section précédente, il existe chez l'animal des comportements stéréotypés en réponse à certaines odeurs qui supportent la théorie que la valeur hédonique des odeurs est au moins en partie innée/prédéterminée. En effet, les comportements olfactifs innés résultent très probablement de l'activation préétablie de circuits neuronaux déterminés génétiquement. A titre d'exemple, les indices olfactifs signalant la présence de prédateurs provoquent généralement des comportements stéréotypés de fuite chez leurs proies, comportements essentiels à la survie et la perpétuation de l'espèce. De manière intéressante, les rongeurs de laboratoire, qui n'ont aucun contact avec le milieu extérieur et élevés dans des animaleries depuis des générations, présentent des réactions aversives très marquées (diminution du comportement exploratoire, "freezing", évitement de la source odorante ou tentatives de dissimulation) lorsqu'ils sont exposés pour la première fois à une odeur de prédateur, en l'absence de ce dernier (Dielenberg & McGregor, 2001; Apfelbach *et al.*, 2005; Ferrero *et al.*, 2011). Evidemment, dans ce cas, la mise en évidence de ce type de comportements stéréotypés fait suite à l'exposition à une odeur de prédateur, qui est une odeur très particulière ayant une signification biologique extrêmement forte.

Malgré tout, l'existence de préférences spontanées ou prédéterminées peut être mise en évidence lorsqu'un panel important d'odorants non-expérimentés et sans signification biologique particulière est testé (Mandairon *et al.*, 2009). Dans cette étude, Mandairon et coll. ont exposé des souris à une large gamme d'odorants inconnus des animaux (le background olfactif avait été contrôlé et restreint à l'animalerie). Premièrement, ils montrent que les souris

n'explorent pas au même niveau tous les odorants, certains sont très peu explorés tandis que d'autres le sont fortement. Deuxièmement, ils mettent en évidence une corrélation positive entre les propriétés physico-chimiques des odorants et le temps d'exploration des animaux.

D'autre part cette étude a révélé d'autres résultats très intéressants. Après évaluation des préférences olfactives chez l'homme pour cette même gamme d'odorants, les auteurs ont montré que les odeurs les plus explorées par les souris correspondaient à celle jugées comme étant plaisantes chez l'homme, et les moins explorées concorderaient avec une évaluation déplaisante. Ils montrent également que les propriétés physico-chimiques des odorants, en plus de corrélent avec le temps d'exploration des souris, corrèlerait similairement avec le jugement hédonique humain.

Ainsi, les préférences olfactives reflétées par le comportement d'approche ou d'évitement de l'odeur semblent conditionnées, au moins en partie, par la structure de la molécule et seraient conservées au sein de l'évolution.

Sans pour autant démentir l'importance de l'expérience dans l'acquisition de la valeur hédonique des odeurs, la mise en évidence d'un lien entre la structure de l'odorant et la valeur hédonique ainsi que l'existence de comportements spontanés en réponses aux odeurs, viennent corroborer la théorie de l'inné et soutiennent donc qu'une signature neurale propre à la valeur hédonique des odeurs serait identifiable. De ce concept émerge alors une interrogation : parmi les circuits cérébraux identifiés comme codant la valeur hédonique des odeurs lors des études fonctionnelles menées chez l'homme, quelle part code effectivement pour la valeur hédonique propre, et non pour les autres facteurs qui la modulent, tels que la mémoire de l'odeur ou l'association contextuelle ?

Cette composante innée, difficilement mesurable chez l'homme, a principalement été explorée chez l'animal. L'utilisation de modèles animaux permettent d'une part de s'affranchir de la modulation de la valeur hédonique par la culture, les connaissances sémantiques et les consignes de la tâche expérimentale (Zatorre *et al.*, 2000; Rouby *et al.*, 2009). Cela permet de contrôler plus strictement les antécédents olfactifs en élevant les animaux dans un milieu olfactif restreint et similaire (laboratoire). L'utilisation du modèle animal permet, d'autre part, de disséquer plus précisément, à l'échelle cellulaire, ces circuits cérébraux et de les manipuler afin d'établir une relation causale entre perception hédonique et circuits neuronaux, ce qui est impossible chez l'homme.

C – Chez l’animal

1 - Codage de la valeur hédonique innée et étage périphérique

Nous l’avons vu précédemment chez l’homme, la perception hédonique a été reliée à la structure des molécules odorantes et à l’organisation spatiale des ORs dans l’EO (Khan *et al.*, 2007; Saito *et al.*, 2009; Haddad *et al.*, 2010; Lapid *et al.*, 2011).

Chez le rongeur, l’existence de comportements innés en réponse à l’odeur fournit un outil d’étude important pour la détermination des bases neurales de la valeur hédonique des odeurs. 10 ans après la découverte des ORs, une seconde famille de récepteurs olfactifs a été identifiée chez les rongeurs : les Trace Amine-Associated Receptors (TAARs) (Borowsky *et al.*, 2001; Bunzow *et al.*, 2001). Bien que très inférieurs en nombre aux ORs (14 TAARs vs ~1100 ORs), les TAARs sont connus pour détecter des molécules odorantes spécifiques, biologiques, et induire des réponses comportementales particulières, sans exposition préalable nécessaire (innées). Ainsi ces récepteurs constitueraient chez le rongeur une voie d’entrée spécifique des odeurs biologiques (Liberles & Buck, 2006). Les TAARs détectent les odorants naturels, tels que les dérivés aminés d’urine, du métabolisme microbien ou encore d’autres sources écologiques (Liberles, 2015). A titre d’exemple chez la souris, TAAR4 détecte l’odeur aversive de prédateur (carnivor odor 2-phenylethylamine (Ferrero *et al.*, 2011)) et son ablation génétique supprime l’évitement des odeurs de prédateurs (Dewan *et al.*, 2013). A l’inverse, TAAR5 reconnaît la triméthylamine, une molécule attractive présente dans l’urine de souris mâles et utilisée pour les interactions sociales, dont l’ablation génétique abolit l’attraction normalement provoquée par l’odeur de congénères (Li *et al.*, 2013). Il est important de noter que des TAARs ont été retrouvés dans l’EO de nombreuses espèces de vertébrés, y compris chez l’Homme (Liberles, 2015).

Ainsi, cette famille de récepteurs vouée à la reconnaissance d’odorants biologiques représente un substrat moléculaire et cellulaire (les TAARs sont exprimés par des OSNs) de la valeur hédonique innée des odeurs.

2 - Codage de la valeur hédonique innée et étage bulbaire

Une fois détectée au niveau de l’EO, l’information olfactive est envoyée au BO.

Au niveau bulbaire, une étude très élégante menée chez la souris a mis en évidence une régionalisation de l’activation en réponse à la valeur hédonique innée des odeurs (Kobayakawa

et al., 2007). Les auteurs ont utilisé des souris génétiquement modifiées pour ne pas posséder de glomérules dans la région dorsale du BO. En comparaison avec les souris non-modifiées qui évitent spontanément les odorants dérivés de nourriture avariée (l'acide 2-méthylbutyrique ou 2-MB) et de prédateurs (TMT), ces réactions d'aversion comportementales innées sont absentes chez les souris mutantes dépourvues de glomérules dorsaux. Il est intéressant de noter que les OSNs qui expriment les TAARs projettent leurs axones sur le BO au niveau de glomérules localisés dorsalement (Johnson *et al.*, 2012; Pacifico *et al.*, 2012). Les souris mutantes sont malgré tout capables de détecter les odorants présentés et, de façon surprenante, d'apprendre à ne pas les aimer. En effet, il est possible d'engendrer une aversion conditionnée à l'odeur chez ces mutants, en associant la 2-MB ou la TMT à une injection de chlorure de lithium (LiCl) connu pour induire un malaise gastrique. Cette étude, très importante, apporte la preuve d'une signature neurale de la valeur hédonique des odeurs au sein du BO et suggère l'existence d'au moins deux modules fonctionnels différents dans le traitement de la valeur hédonique selon sa composante innée ou acquise.

Toujours chez la souris, les odeurs sociales, connues pour être attractives, activent davantage la région ventrale du BO (Xu *et al.*, 2005; Kang *et al.*, 2009). Via la technique d'IRMf, Xu et ses collaborateurs ont imagé chez des souris femelles de deux lignées différentes l'activité glomérulaire en réponse à l'odeur d'urine de souris mâles de lignée correspondante. Ils révèlent que les patrons d'activation glomérulaires évoqués par l'odeur attractive d'urine sont distincts d'une souche de souris à l'autre (probablement représentatif de l'identité de l'odeur) mais localisés ventralement dans les deux cas.

Ces résultats combinés aux précédents (Xu *et al.*, 2005; Kobayakawa *et al.*, 2007) soulèvent l'hypothèse d'une représentation glomérulaire ventrale pour les odeurs biologiquement attractives et dorsale pour les odeurs biologiquement aversives. Cependant, aucune donnée n'est actuellement disponible sur la transmission de cette régionalisation plus profondément dans le BO, ni sur une éventuelle régionalisation de la réponse à des odorants d'attractivité variable mais non biologiques (comme ceux identifiés lors de l'étude de Mandairon *et al.* (2009)).

3 - Codage de la valeur hédonique innée et étage central

Nous l'avons vu, du BO, l'information olfactive est transmise plus ou moins directement à de nombreuses structures cérébrales, qui pourraient avoir un rôle potentiel dans le codage de la valeur hédonique des odeurs. Similairement à l'Homme, la majorité des études chez le rongeur

visant à déterminer le rôle des structures centrales dans le codage de la valeur hédonique des odeurs a été réalisé en contexte d'apprentissage (Schoenbaum *et al.*, 1999; Moriceau *et al.*, 2006; Calu *et al.*, 2007; Sevelinges *et al.*, 2008; Barnes *et al.*, 2011; Choi *et al.*, 2011; Fitzgerald *et al.*, 2014; Root *et al.*, 2014; Gadziola *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015; Iurilli & Datta, 2017). De manière générale, ces études montrent une implication de l'OFC, de l'amygdale, du PirCx. Et récemment, quelques études se sont intéressées au rôle du TO dans le codage de la valeur hédonique des odeurs.

En 2014, Fitzgerald *et al.* montrent que la stimulation électrique du TO altère la valeur hédonique d'odeurs biologiques (odeur de nourriture et odeur de prédateur) suggérant ainsi que le TO aurait un rôle à jouer dans le codage de la valeur hédonique des odeurs à signification biologique forte soit directement soit en interagissant avec des structures cérébrales du système de la récompense/motivation (Fitzgerald *et al.*, 2014). Le même groupe a publié dans la foulée une étude qui démontre le rôle du TO dans le codage de la valeur hédonique des odeurs dans un contexte d'apprentissage. Dans cette étude, les animaux ont appris à associer certaines odeurs à une récompense (accès limité à de l'eau après privation), leur assignant ainsi une valeur hédonique positive prédictive de la récompense. L'enregistrement des neurones du TO chez des souris engagées dans cet apprentissage, montrent une augmentation de leur taux de décharge quand la stimulation olfactive prédit la récompense (donc potentiellement plaisante) par rapport à une odeur non renforcée (non associée à la récompense). Ils ont également montré que cette modulation d'activité apparaissait lors de la stimulation olfactive, avant la décision comportementale et qu'elle codait la réponse comportementale qui s'en suivait. Ainsi les auteurs prédisent que le TO est une structure cérébrale clé du codage de la valeur hédonique des odeurs qui permet l'orientation des comportements motivés (Gadziola *et al.*, 2015). Dans cette étude, les animaux ont la tête fixée, ce qui limite la pleine expression des comportements d'approche et de retrait. Le TO apparaît-il toujours comme une structure clé du codage de la valeur hédonique et dans le guidage des comportements lorsque l'animal se comporte librement et peut choisir d'orienter son approche mais aussi son retrait ? C'est ce que le groupe de Murata a étudié en 2015. Dans cette étude, les mêmes odeurs ont été associées, soit une récompense alimentaire (valeur positive) qui induisait un comportement attractif, soit un choc électrique aux pattes (valeur négative) qui induisait un comportement de retrait. Les auteurs ont montré que l'activité du TO, révélée par imagerie de l'expression de gènes précoces (c-Fos), était modulée en fonction du comportement d'approche et de retrait médié par les odeurs apprises, suggérant un rôle important du TO dans l'attraction et l'évitement (Murata *et al.*, 2015). De manière intéressante, les auteurs ont également reporté que des domaines spatialement distincts

seraient impliqués dans des réponses hédoniques différentes. Ainsi il a été proposé que, le TO latéral coderait l'association odeur-punition et guiderait l'aversion, tandis que le TO médial coderait l'association odeur-récompense et orienterait l'attraction.

Jusque-là, les études qui se sont intéressées au rôle du TO dans le codage de la valeur hédonique des odeurs et dans le guidage des comportements motivés ont utilisé des odeurs préalablement associées à un stimulus positif ou négatif requérant un entraînement ainsi qu'une mémorisation (Gadziola *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015). Comment déterminer si le changement d'activité mis en évidence au sein du TO n'encode pas davantage une composante mnésique par exemple ? Comment décidons-nous au premier abord qu'un stimulus est attractif ou aversif ? Nous l'avons vu précédemment, certains stimuli olfactifs induisent de façon innée une approche ou un retrait. Quelle est l'implication du TO dans ces comportements innés ? Au moyen de lésions ou de techniques d'inhibition de l'activité du TO (DREADD), des travaux ont démontré le rôle essentiel du TO dans l'attraction de l'odeur d'individus de sexe-opposé (Agustin-Pavon *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2014; 2015). De manière intéressante et conformément aux travaux cités précédemment, l'implication du TO dans l'attraction envers les odeurs d'individus de sexe opposé requerrait notamment le domaine médial. Néanmoins, le traitement des odeurs sociales dépend d'un circuit neuronal particulier, le système olfactif accessoire, qui diffère anatomiquement et fonctionnellement du système olfactif principal décrit dans ce manuscrit. Ainsi, le potentiel rôle du TO dans l'encodage de la valeur hédonique innée des odeurs sans signification biologique particulière reste aujourd'hui à définir.

En définitive, le TO pourrait faire le lien entre perception olfactive et action grâce à ses connexions avec le système attentionnel/motivationnel/de la récompense, et ainsi, jouer un rôle important dans l'orchestration des comportements d'approche et de retrait. Le TO pourrait secondairement participer à la régulation de l'activité dans d'autres aires cérébrales (olfactives par exemple, au moyen de rétro-projections). En conséquence, l'activité évoquée par l'odeur au sein du TO serait fonction de la motivation et des émotions qu'elle suscite.

De par sa double appartenance, le TO relie de manière privilégiée le système olfactif à celui de la récompense. Ce dernier aurait-il un rôle à jouer dans le traitement de la valeur hédonique innée des odeurs ?

4 – Conclusion

De manière quasi-exclusive, l'étude des comportements innés a utilisé des odeurs à forte connotation biologique. Les odeurs de prédateurs ont été massivement employées pour évaluer la composante aversive et les odeurs sociales de congénères ont été utilisées pour la composante attractive. Cependant, ces odorants biologiques constituent un sous-groupe particulier d'odorants et activeraient des circuits cérébraux particuliers. En effet, les odeurs sociales attractives seraient davantage traitées par le système olfactif accessoire et donc par un réseau neuronal parallèle (Moncho-Bogani *et al.*, 2002; Luo & Katz, 2004; Martel & Baum, 2007; Martinez-Ricos *et al.*, 2007; 2008; Martel & Baum, 2009; DiBenedictis *et al.*, 2015). Le traitement des signaux de prédateurs impliquerait le système olfactif accessoire et aussi principal mais serait associé à un contexte de peur impliquant ainsi des circuits neuronaux similaires à ceux qui répondent à un stimulus effrayant (comme un choc électrique) (Davis, 1992; Canteras *et al.*, 1997; Canteras, 2002; Li *et al.*, 2004; Takahashi *et al.*, 2005; Bueno *et al.*, 2007; Freitas *et al.*, 2009; Motta *et al.*, 2009; Ben-Shaul *et al.*, 2010; Papes *et al.*, 2010; Dias *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2013; Perez-Gomez *et al.*, 2015). L'étude de Kobayakawa *et al.* (2007) supporte ces déclarations, en montrant que bien que la TMT (odeur de prédateur) et le 2-MB (odeur de nourriture avariée) soient toutes deux spontanément aversives, seulement la TMT active un circuit neuronal spécifique à la réponse de peur et augmente la sécrétion d'hormone de stress (Kobayakawa *et al.*, 2007). Ainsi la réponse aversive de peur évoquée par la TMT et la réponse aversive induite par le 2-MB seraient traitées séparément dans le cerveau par des circuits neuronaux différents.

Enfin, la question de la détermination de la valeur hédonique innée d'odeurs sans caractère biologique reste à définir et cette thèse s'inscrit dans cet objectif. Comment le caractère plus ou moins plaisant d'une odeur est encodé par le cerveau et qu'est ce qui détermine l'attraction ou la répulsion qui en résulte ? Au fil de ce manuscrit nous tenterons d'apporter des éléments de réponses à ces interrogations, de préciser et compléter la littérature actuelle.

Objectifs de la thèse

La valeur hédonique d'une odeur, c'est-à-dire son caractère plus ou moins plaisant, représente la dimension principale du percept olfactif chez l'Homme comme chez l'animal. En orientant la prise de décision et en motivant à agir (approcher ou fuir), elle guide les comportements essentiels. Même si de nombreuses études montrent que la valeur hédonique est façonnée par la culture, le contexte et l'expérience, d'autres montrent qu'il existe une attraction ou une répulsion spontanée envers des odeurs non-familiales et donc que le caractère plus ou moins agréable serait, du moins en partie, inné et dicté par les propriétés physico-chimiques des molécules odorantes. Ces résultats suggèrent un encodage cérébral spécifique de la valeur hédonique propre aux odeurs. Dans ce manuscrit, nous parlerons de valeur hédonique innée pour décrire le caractère plus ou moins plaisant d'odorants non-expérimentés qui génèrent une attraction ou une aversion spontanée. Mais comment le cerveau dicte-t-il qu'une odeur est plaisante ou déplaisante et comment incite-t-il à approcher la source odorante ou au contraire à la fuir ? En d'autres termes, existe-t-il une signature neurale de la valeur hédonique des odeurs à l'origine de l'attraction/répulsion médiée par elles ? L'objectif général de cette thèse est de rechercher les bases neurales de la valeur hédonique innée des odeurs. Mes travaux ont été menés chez la souris qui, en plus d'avoir un système olfactif organisé de façon similaire au nôtre sur les plans anatomique et fonctionnel, présente l'avantage d'avoir des préférences olfactives similaires aux nôtres (Mandairon *et al.*, 2009). De plus, elle permet d'avoir accès très précisément aux réseaux neuronaux impliqués, de les manipuler afin de déterminer rigoureusement leur rôle et de contrôler de manière stricte les modulateurs hédoniques (tels que les antécédents olfactifs, le statut hormonal etc...).

Si le caractère plus ou moins agréable de l'odeur est du moins en partie dicté par les propriétés physico-chimiques des molécules odorantes, alors une signature neurale de la valeur hédonique des odeurs pourrait se retrouver dans le premier relai de l'information olfactive qu'est le BO. Chez l'Homme, il n'existe aucune donnée disponible sur cette structure difficilement accessible. Chez l'animal, l'étude des cartes d'activation glomérulaires du BO ont montré une représentation différentielle sur l'axe dorso-ventral des odeurs à forte connotation biologique selon leur valeur hédonique (Xu *et al.*, 2005; Kobayakawa *et al.*, 2007). Les odeurs biologiques spontanément attractives impliqueraient les glomérules ventraux tandis que les aversives engageraient les glomérules situés dorsalement. Cependant, ces odeurs à forte connotation biologique forment un sous-groupe particulier au sein de la vaste population de molécules odorantes qui composent notre environnement, et actuellement aucune donnée n'est disponible

concernant la représentation glomérulaire de la valeur hédonique innée des odorants non biologiques (Mandairon *et al.*, 2009), ni sur la transmission de l'information hédonique dans les autres couches du BO. **Le premier objectif** de cette thèse était de rechercher la signature neurale de la valeur hédonique innée d'odorants non-biologiques dans le BO.

Si une trace neurale de la valeur hédonique existe dans le BO, comment l'information est-elle ensuite transmise aux centres olfactifs de plus haut niveau et aux aires associatives supérieures ? Et quelles sont les structures qui supportent l'attraction spontanée induites par les odeurs ? Pour répondre à ces questions, il a fallu être novateur. En effet, les régions cérébrales susceptibles de coder la valeur hédonique des odeurs sont potentiellement nombreuses, étendues et pas toujours faciles à délimiter sur le plan anatomique. **Le second objectif** de cette thèse a été de développer une technique d'imagerie cérébrale qui assurerait une cartographie précise et reproductible de l'activité neuronale (neurones activés par une odeur plaisante ou déplaisante par exemple) en l'intégrant dans un atlas de référence. L'idée globale était d'obtenir des résultats similaires à ceux obtenus en IRMf mais avec une résolution spatiale très supérieure (échelle de la cellule). L'utilisation de cette méthode permet d'interroger de manière rapide et précise toutes les structures cérébrales d'intérêt listées dans l'atlas quant à la représentation hédonique des odeurs. De nombreux travaux ont révélé le rôle de diverses structures cérébrales (cortex piriforme, tubercule olfactif et amygdale par exemple) dans le codage de la valeur hédonique acquise des odeurs, c'est à dire en contexte d'apprentissage (Datiche *et al.*, 2001; Calu *et al.*, 2007; Li, 2014; Gadziola *et al.*, 2015). D'autres travaux, moins nombreux, se sont intéressés à la valeur hédonique innée (Root *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2015) où, une fois encore, les odorants utilisés avaient une forte connotation biologique. Ce sous-groupe d'odorants est traité par des réseaux cérébraux bien particuliers (Martinez-Ricos *et al.*, 2008; Takahashi *et al.*, 2008; Martel & Baum, 2009; Perez-Gomez *et al.*, 2015) et les bases neurales de la valeur hédonique des odeurs demeurent très peu connues. Ainsi **le troisième et dernier objectif** de ces travaux de thèse était de déterminer, au-delà du BO, les réseaux cérébraux impliqués dans le codage de la valeur hédonique innée des odeurs à l'origine des comportements spontanés d'approche et de retrait.

Résultats

ETUDE 1 : Etude de la signature neurale de la valeur hédonique innée des odeurs dans le bulbe olfactif (publiée)

Kermen F, Midroit M. Topographical representation of odor hedonics in the olfactory bulb. *Nat Neurosci.* (2016)

Topographical representation of odor hedonics in the olfactory bulb

Florence Kermen^{1,3,4}, Maëllie Midroit^{1,4}, Nicola Kuczewski¹, Jérémy Forest¹, Marc Thévenet¹, Joëlle Sacquet¹, Claire Benetollo², Marion Richard¹, Anne Didier^{1,5} & Nathalie Mandairon^{1,5}

Hedonic value is a dominant aspect of olfactory perception. Using optogenetic manipulation in freely behaving mice paired with immediate early gene mapping, we demonstrate that hedonic information is represented along the antero-posterior axis of the ventral olfactory bulb. Using this representation, we show that the degree of attractiveness of odors can be bidirectionally modulated by local manipulation of the olfactory bulb's neural networks in freely behaving mice.

In all species, including humans, odors strongly impact behavior. Besides odor identity, the hedonic value or pleasantness of an odor is an important variable for smell-triggered behaviors, for example, approaching or avoiding an odor source. The hedonic value or attractiveness of an odorant is thus recognized as the dominant aspect of olfactory perception^{1,2}. While experience and culture shape odor hedonics^{3,4}, spontaneous attraction or avoidance is also observed for unfamiliar odorants⁵, suggesting an innate component. This raises the issue of the representation of naive hedonic tone in the brain.

Odor signals are received by odorant receptors expressed by sensory neurons in the olfactory epithelium and can be represented as an odor map in the glomerular layer of the olfactory bulb⁶. Although glomerular maps in the dorsal olfactory bulb have been shown to represent the aversive properties of some odorants^{7–9}, it remains unclear whether bulbar maps represent innate positive versus negative hedonic tones. In this study, we combine immediate early gene mapping⁷ and optogenetics to show that the degree of behavioral attraction to an odorant is represented along the antero-posterior axis of the ventral olfactory bulb, suggesting a functional organization for innate hedonic value.

To determine which odorants trigger innate positive or negative hedonic tone in mice, we tested the olfactory preferences of 50 mice for a set of 16 odorants with a wide range of molecular properties (Supplementary Table 1 and Supplementary Fig. 1), chosen to be unfamiliar to the mice, with no particular biological significance. Odorant investigation time, assessed as an index of attractiveness^{7,10}, differed significantly across the odorants (permutation test $P = 0.034$; Fig. 1).

We selected the five most investigated (camphor, limonene, β -ionone, citronellol and cineole) and the five least investigated

(pyridine, thioglycolic acid, 3-hexanol, guaiacol and *p*-cresol) odorants and compare their investigation times to those for 2,3,5-trimethyl-3-thiazoline (TMT) and mouse urine, which are recognized as being, respectively, aversive and attractive to mice (Supplementary Fig. 2a). Time spent investigating the five least explored odorants was different from that spent investigating urine, and time spent investigating the five most explored was different from that for TMT, suggesting that the mice found these odorants respectively aversive and attractive. The speed of approach to the odorized hole was closely correlated to investigation time, further strengthening investigation time as a measure of attractiveness (Supplementary Fig. 2b,c).

In the olfactory bulb, spatially organized incoming information⁶ is transferred to mitral/tufted (M/T) cells, which are the olfactory bulb's relay cells. M/T cell activity is shaped by complex interactions with superficial and deep interneurons, the periglomerular and granule cells, respectively¹¹. *Zif268* expression in olfactory bulb interneurons allows mapping of odor-evoked activation in response to odor stimulation^{7,12–15}. To reveal the activation patterns that reflect the attractiveness of the odors independently of their identity, we averaged the activation evoked by each of the five most and the five least attractive odorants (Fig. 2). The overall densities of *Zif268*-expressing cells were similar between both groups and layers (Mann-Whitney $P = 0.89$ for glomerular and $P = 0.53$ for granule cell layers; Fig. 2a,b). However, differences in the spatial distribution of the odor-responding cells accounted for the innate attraction mice had to the odors. We constructed *Zif268*⁺ cell maps by extracting labeled-cell density from 36 sectors in the glomerular and granule cell layers along the antero-posterior axis of the olfactory bulb. These density values were then reported in 2D maps in which each column corresponded to one olfactory bulb section and each bin corresponded to the labeled-cell density in one sector^{14,15} (Fig. 2c). Compared to pleasant odorants, unpleasant odorants led to a higher density of activated cells in the ventro-posterior glomerular and granule cell layers of the olfactory bulb. In the dorsal olfactory bulb, the response to unpleasant odorants was mostly posterior in the glomerular layer (Fig. 2d,e, Supplementary Figs. 3 and 4, and Supplementary Tables 2 and 3). In contrast, pleasant odorants evoked higher activity in the antero-ventral area of both the glomerular and granule cell layers (Fig. 2d,e, Supplementary Figs. 3 and 4, and Supplementary Tables 2 and 3).

Analysis of overlaps between the odorant-specific maps within each hedonic group yield maps resembling the across-odorant averaged maps, supporting the idea that the latter reflect activation features common to pleasant or unpleasant odorants rather than activation features of individual odorants (Supplementary Figs. 3d,e and 5).

In summary, while the responsiveness of the dorsal glomerular layer to unpleasant odorant has been documented⁷, the substantial modulations of *Zif268* expression between pleasant and unpleasant

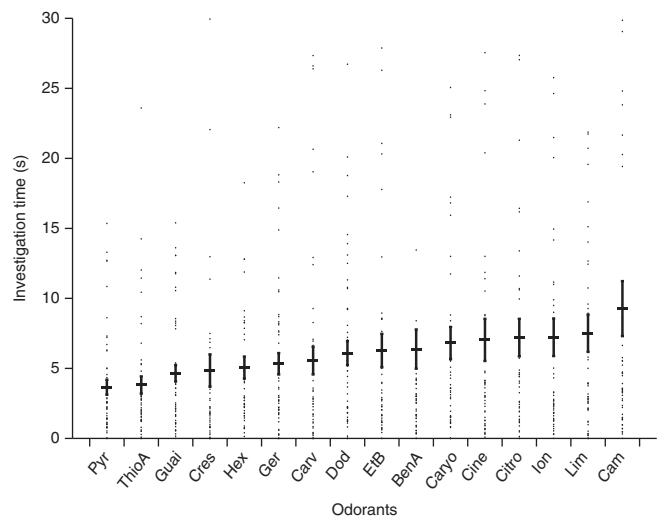
¹INSERM, U1028, CNRS, UMR5292, Lyon Neuroscience Research Centre, Neuroplasticity and Neuropathology of Olfactory Perception Team, University Lyon 1, University of Lyon, Lyon, France. ²INSERM, U1028, CNRS, UMR5292, Lyon Neuroscience Research Center, Neurogenetic and Optogenetic Platform, University Lyon 1, University of Lyon, Lyon, France. ³Current address: Kavli Institute for Systems Neuroscience, Centre for Neural Computation, The Faculty of Medicine, NTNU, Trondheim, Norway. ⁴These authors contributed equally to this work. ⁵These authors jointly supervised this work. Correspondence should be addressed to N.M. (nathalie.mandairon@cnrs.fr).

Received 4 March; accepted 29 April; published online 6 June 2016; doi:10.1038/nn.4317



BRIEF COMMUNICATIONS

Figure 1 Mice displayed various levels of innate attraction for odorants. Investigation times, automatically measured on a one-hole-board apparatus during 2-min tests, vary for the 16 odorants: pyridine (Pyr), thioglycolic acid (ThioA), guaiacol (Guai), *p*-cresol (Cres), 3-hexanol (Hex), geraniol (Ger), *D*-carvone (Carv), dodecanal (Dod), ethyl butyrate (EtB), benzyl acetate (BenA), β -caryophyllene (Caryo), cineole (Cine), citronellol (Citro), β -ionone (Ion), limonene (Lim) and camphor (Cam). Odor effect, $F_{(15,735)} = 1.76$, permutation test $P = 0.034$, $n = 50$ mice. Data are represented as mean \pm s.e.m. and individual data points. For clearer representation, 20 data points (out of 800) above 30 s are not shown and are distributed as follows: Cres 2; Hex 1; EtB 1; BenA 5; Caryo 2; Cine 1; Citro 1; Ion 2; Lim 2; Cam 3.



odorants were found mostly along the antero-posterior axis of the ventral olfactory bulb.

Because granule cells shape M/T cell activity and therefore the output message read by higher olfactory structures, we hypothesized that changing the output message of the M/T cells by manipulating inhibition should directly affect behavior. We used optogenetic inhibition of localized populations of granule cells with the aim of disinhibiting M/T cells. We achieved this by infusing a lentivirus allowing halorhodopsin-EYFP (enhanced yellow fluorescent protein) expression in neurons (Lenti-hSyn-NpHR-EYFP, NpHR (*Natronomonas* halorhodopsin)) into the postero-ventral or antero-ventral granule cell layer (Supplementary Fig. 6). Control animals were infused with an empty lentivirus (Lenti-hSyn-EYFP, control-EYFP). We confirmed that EYFP⁺ cell density was always higher in the areas targeted by virus infusions compared to non-targeted regions (Supplementary Fig. 6a,b). In addition, viral diffusion was limited to the granule cell layer as only 0.38% of EYFP⁺ cells were M/T cells identified by the expression of their specific marker Tbx21 (7,537 M/T cells counted). Light stimulation was effective since it induced a decrease in the number of cells coexpressing EYFP and Zif268 (Supplementary Figs. 6c and 7) and in total Zif268⁺ cell density (Supplementary Fig. 6d). Such differences were not observed in mice infused with the empty virus. Furthermore, light stimulation in olfactory bulb slices inhibited firing in granule cells expressing NpHR but not in those expressing EYFP in the control animals (Supplementary Fig. 8a). In addition, using cell-attached recording of M/T cells in olfactory bulb slices, we showed

that light-stimulation of granule cells disinhibits M/T cell activity in NpHR infused mice compared to controls ($32.88 \pm 10.05\%$ of difference between the controls and NpHR, one-sample *t*-test $P = 0.022$). Similarly, postmortem quantification of Zif268 expression in M/T cells showed disinhibition in light-targeted compared to non-light-targeted regions (Supplementary Fig. 8b,c).

Optogenetic inactivation of transduced neurons was achieved in freely behaving mice during preference testing by automatically triggering a light stimulation each time the animal approached the odorized hole. In the groups with postero-ventral viral infusion, the investigation time for the five unpleasant odorants was increased under posterior light stimulation in the NpHR group compared to the control-EYFP group, showing a shift toward an increased attractiveness of these odorants (Fig. 3a and Supplementary Fig. 9a). The investigation time of pleasant odorants was unchanged (Fig. 3c and Supplementary Fig. 9c). Following viral infusion in the antero-ventral olfactory bulb, light-triggered inactivation of this region decreased the investigation time for the five attractive odorants in the NpHR group compared to that of the control-EYFP group, suggesting a shift toward

© 2016 Nature America, Inc. All rights reserved.

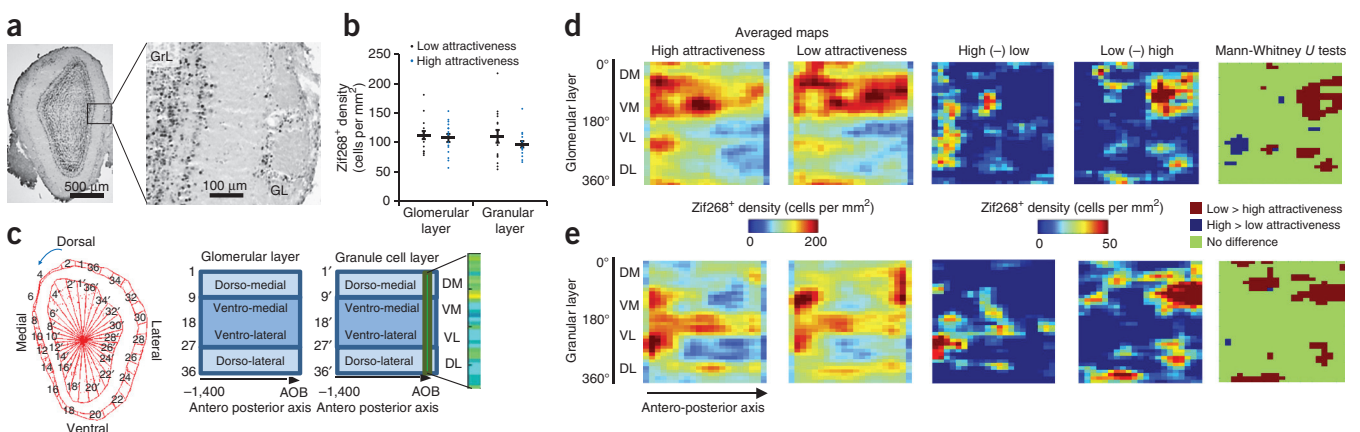


Figure 2 Pleasant and unpleasant odorants evoke different patterns of olfactory bulb activation. (a) Coronal sections of the olfactory bulb showing Zif268 labeling (representative of 32 animals) in granular layer (GrL) and glomerular layer (GL). (b) Zif268⁺ cell density is similar in response to unattractive and highly attractive odorants (Mann-Whitney, $P = 0.89$ for glomerular and $P = 0.53$ for granule cell layers; $n = 16$ mice per group) (mean \pm s.e.m. and individual data points). (c) Cell mapping method. Every Zif268⁺ cell was counted on each sampled section. Density of labeled profiles was extracted from 36 sectors of 10° of the granule or periglomerular cell layer. For each layer, the cell densities were reported into a matrix in which one column represented all the sectors of one section. (d) Left, Zif268⁺ cell density maps in the glomerular layer in response to high- or low-attractiveness odorants. Middle, subtraction maps. Right, false discovery rate-corrected Mann-Whitney point-to-point comparisons. Significance cutoff was set at $P < 0.05$. (e) Same as d for the granule cell layer. AOB, accessory olfactory bulb; DM, dorso-medial; VM, ventro-medial; VL, ventro-lateral; DL, dorsolateral.

Figure 3 Behavioral effect of optogenetic stimulation. The investigation time of the odorants after postero-ventral (left diagram, **a** and **c**) or antero-ventral (right diagram, **b** and **d**) light stimulation in NpHR-infused (NpHR, blue) and control virus-infused (Cont, black) mice. 5 unpleasant odorants ($n = 5$ mice per odorant), 5 pleasant odorants ($n = 5$ mice per odorant) and one no- (zero-) odorant condition tested. Mann-Whitney group effect; **a**, $P = 0.00008$; **b**, $P = 0.000001$; **c**, $P = 0.75$; **d**, $P = 0.0014$ (mean \pm s.e.m. and individual data points); n.s., non-significant.

a reduced attractiveness of the odorants (**Fig. 3b** and **Supplementary Fig. 9b**). Anterior light stimulation further reduced the attractiveness of the unpleasant odorants (**Fig. 3d** and **Supplementary Fig. 9d**). In this optogenetic experiment, the overall increase in investigation time compared to **Figure 1** can be explained by the smaller number of odors experienced by the animals. The effects of light were dependent on sensory stimulation since light stimulation in the absence of the odorant had no behavioral effect.

Inhibition of the anterior olfactory bulb thus produces a reduction in investigation time regardless of odorant attractiveness. This may be due to an increased relative salience of the activity in the posterior olfactory bulb highlighting the role of posterior olfactory bulb activity in encoding odorant unpleasantness. Inhibition of the posterior olfactory bulb failed to further increase the attractiveness of pleasant odorants. This is consistent with the lower level of activity observed in the posterior olfactory bulb in response to pleasant odorants.

In summary, we have demonstrated the presence of a neural trace for positive and negative hedonic tones of odors along the antero-posterior axis of the olfactory bulb. Local optogenetic manipulation of this neural hedonic signature changed the behavioral response to odorants, suggesting that bulbar representations give a reliable indication of the level of odor attractiveness. Even though the degree of attraction to an odor was innate in our mice (i.e., not trained), we were able to modify this by modulating neural activity. Adding to previous experiments showing that aversion to an odor can be abolished by removing specific glomeruli⁷, we show here that innate attractiveness is represented along an anatomical axis of the olfactory bulb and that this could be subject to plasticity as it can be modulated by changes in inhibitory activity. Whether this representation of hedonics along the olfactory bulb results from organized projections of olfactory sensory neurons recognizing specific molecular features of pleasant or unpleasant odorants remains unknown but is supported by evidence for a spatial representation of hedonics in the main olfactory epithelium¹⁶. Finally, it remains to be determined how hedonic-dependent activity in the olfactory bulb is interpreted by higher olfactory structures. M/T cells project to different targets according to their position along the antero-posterior axis, determined by their ontogenetic birth date¹⁷. Several candidate structures respond to odorant hedonics^{18,19}, and it would thus be interesting to look for differential projections from anterior and posterior regions of the olfactory bulb to these olfactory brain regions.

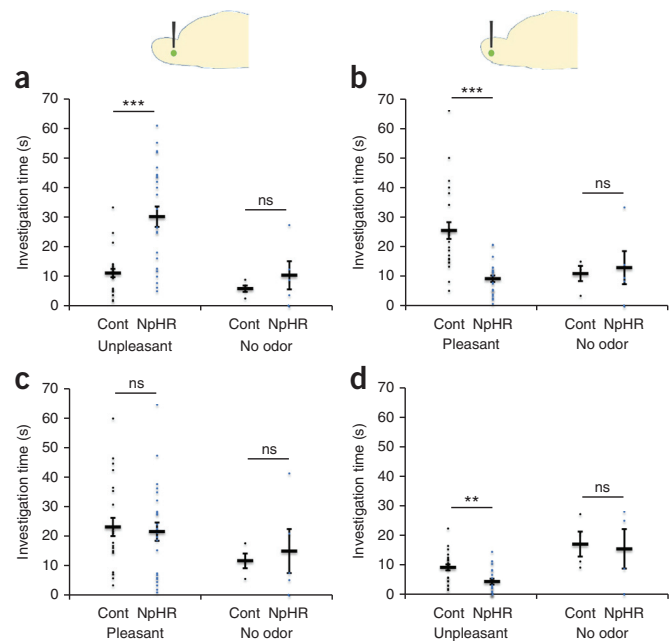
METHODS

Methods and any associated references are available in the [online version of the paper](#).

Note: Any Supplementary Information and Source Data files are available in the [online version of the paper](#).

ACKNOWLEDGMENTS

We thank G. Froment, D. Nègre and C. Costa from the lentivector production facility at SFR BioSciences de Lyon (UMS3444/US8); A. Fleischmann and I. Vieira



for their help with the optogenetic set up; P. Fonlupt for his help with the statistical analysis; Y. Yoshihara (Riken Brain Science Institute, Saitama, Japan) for the gift of the Tbx21 antibody and C. Linster, M. Bensafi and A. Fournel for their helpful comments on the manuscript. This work was supported by the CNRS, INSERM, Lyon 1 University, the Roudnitska Foundation (fellowship to M.M.) and the French Ministry for Research and Ecole Normale Supérieure de Lyon (fellowship to F.K.).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

F.K., A.D. and N.M. conceived the experiments; F.K., M.M., N.K., J.F., J.S. and N.M. performed the experiments; C.B. and M.R. engineered the lentiviruses; F.K., M.M., M.T., A.D., M.T., N.K. and N.M. analyzed the data and F.K., M.M., M.R., A.D. and N.M. wrote the article.

COMPETING FINANCIAL INTERESTS

The authors declare no competing financial interests.

Reprints and permissions information is available online at <http://www.nature.com/reprints/index.html>.

- Richardson, J.T. & Zucco, G.M. *Psychol. Bull.* **105**, 352–360 (1989).
- Yeshurun, Y. & Sobel, N. *Annu. Rev. Psychol.* **61**, 219–241 (2010).
- Barkat, S., Poncelet, J., Landis, B.N., Rouby, C. & Bensafi, M. *Neurosci. Lett.* **434**, 108–112 (2008).
- Yeomans, M.R., Mobini, S., Elliman, T.D., Walker, H.C. & Stevenson, R.J. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* **32**, 215–228 (2006).
- Mandairon, N., Poncelet, J., Bensafi, M. & Didier, A. *PLoS One* **4**, e4209 (2009).
- Mori, K. & Sakano, H. *Annu. Rev. Neurosci.* **34**, 467–499 (2011).
- Kobayakawa, K. *et al. Nature* **450**, 503–508 (2007).
- Takahashi, Y.K., Nagayama, S. & Mori, K. *J. Neurosci.* **24**, 8690–8694 (2004).
- Johnson, M.A. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 13410–13415 (2012).
- Mandairon, N. *et al. J. Neurosci. Methods* **180**, 296–303 (2009).
- Nagayama, S., Homma, R. & Imamura, F. *Front. Neural Circuits* **8**, 98 (2014).
- Inaki, K., Takahashi, Y.K., Nagayama, S. & Mori, K. *Eur. J. Neurosci.* **15**, 1563–1574 (2002).
- Mandairon, N., Didier, A. & Linster, C. *Neurobiol. Learn. Mem.* **90**, 178–184 (2008).
- Moreno, M.M. *et al. J. Neurosci.* **32**, 3748–3758 (2012).
- Mandairon, N. *et al. Eur. J. Neurosci.* **24**, 3578–3588 (2006).
- Lapid, H. *et al. Nat. Neurosci.* **14**, 1455–1461 (2011).
- Imamura, F., Ayoub, A.E., Rakic, P. & Greer, C.A. *Nat. Neurosci.* **14**, 331–337 (2011).
- Gadziola, M.A., Tylicki, K.A., Christian, D.L. & Wesson, D.W. *J. Neurosci.* **35**, 4515–4527 (2015).
- Li, Q. & Liberles, S.D. *Curr. Biol.* **25**, R120–R129 (2015).

ONLINE METHODS

Animals. 125 adult male C57Bl6/J mice (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) aged 2 months at the beginning of the experiments were used. Experiments were done following procedures in accordance with the European Community Council Directive of 22nd September 2010 (2010/63/UE) and the National Ethics Committee (Agreement DR2013-48 (vM)). Mice were housed in groups of five in standard laboratory cages and were kept on a 12 h light/dark cycle (at a constant temperature of 22 °C) with food and water ad libitum. Behavioral experiments started not earlier than a week after the arrival of the animals and were conducted in the afternoon (2–6 p.m., light phase).

Odorants. 16 monomolecular odorants were selected based on molecular diversity (Supplementary Fig. 1). To avoid differences in the concentration of these odorants in the inhaled air due to differences in their volatility, they were diluted in mineral oil so as to achieve an approximate gas-phase partial pressure of 1 Pa (ref. 20; Supplementary Table 1). Vapor pressure values were collected from <http://www.thegoodscentscompany.com>. 2,3,5-Trimethyl-3-thiazoline (TMT, Contech, Canada) and urine from female mice were also used.

Olfactory preference testing. Odor attractiveness was measured using odor investigation time ($n = 50$ mice). We used a computer-assisted one-hole-board apparatus fitted with sensors to automatically monitor the duration of nose-poking into the central hole^{5,10}. A polypropylene swab impregnated with 60 μ l of the odorant (1 Pa) was placed at the bottom of the hole, under a grid covered with clean bedding. Every animal was allowed to explore each of the 16 odorants for 2 min. The bedding was replaced after each trial. Total duration of nose-poking into the hole (odor investigation time) was used as a measure of odor preference. Each animal tested one odorant per d. Odorants were randomly presented and animals performed no more than 3 consecutive d of testing. The effect of the odorants on investigation time was analyzed by random permutation test (10 series of 10,000 permutations). This experiment was repeated using 30 additional mice using the 5 most and 5 least explored odorants and investigation times were compared to those for TMT (0.004% in propylene glycol, 60 μ l) and urine (20 μ l). In this second experiment, we also noted the time elapsed for the mouse's nose to cross the distance of 2 cm around the hole (from which we calculated the speed of approach to the hole) using custom-made video tracking software ($n = 15$ mice; Volcan) as well as the investigation time of the odorant.

Odorant stimulation, immunohistochemistry and labeled cell mapping.

Odorant selection. The 5 most attractive odorants, i.e., the most explored (camphor, limonene, β -ionone, citronellol and cineole) and the 5 least attractive, i.e., the least explored (pyridine, thioglycolic acid, 3-hexanol, guaiacol and *p*-cresol), were used for odorant stimulation. The mice were randomly assigned to each odorant.

Odor stimulation and euthanasia. The mice were first placed in individual clean cages for 1 h, with an empty tea ball hanging from the top of the cage. A polypropylene swab impregnated with the odorant (60 μ l, 1Pa) was then placed in the tea ball for a further hour. One hour after the end of stimulation, the mice were deeply anaesthetized (pentobarbital, 0.2 ml/30 g) and killed by intracardiac perfusion of 50 ml of fixative (PFA 4%, pH = 7.4). This 1-h delay has previously been shown to enable the expression of Zif268 in response to odorant stimulation²¹. The brains were removed, post-fixed overnight, cryoprotected in sucrose (20%), frozen rapidly and then stored at -20 °C before sectioning at 14 μ m with a cryostat.

Immunohistochemistry. The Zif268 immunohistochemistry protocol has been described elsewhere²². Briefly, rabbit anti-Zif268 primary antibody (1:1,000; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA, ref: Sc-189) was combined with biotinylated goat anti-rabbit antibody (1:200; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Olfactory bulb sections were then processed through an avidin-biotin-peroxidase complex (ABC Elite Kit, Vector Laboratories). Following dehydration in graded ethanols, sections were defatted in xylene and cover-slipped in DPX (Fluka, Sigma).

Zif268⁺ cell mapping. For each animal ($n = 16$ mice for unpleasant odorants (Guai, $n = 4$; ThioA, $n = 3$; Pyr, $n = 3$; Hex, $n = 2$; Cres, $n = 4$) and $n = 16$ for pleasant odorants (Lim, $n = 2$; Cam, $n = 3$; Cine, $n = 5$; Citro, $n = 3$; Ion, $n = 3$), Zif268 immunohistochemistry was performed on adjacent olfactory bulb sections. Immuno-positive cells were counted on 21 sections (14 μ m thick,

70 μ m intervals) of the right olfactory bulb. All cell counts were conducted blind with regard to the experimental group. Within each section analyzed, Zif268 immuno-positive cells were automatically detected in the granule cell layer and the glomerular layers using mapping software (Mercator, Explora Nova, La Rochelle, France) coupled to a Zeiss microscope.

Two-dimensional olfactory bulb map building. Building an immuno-positive-cell density map has already been described¹⁵. Briefly, the granule and glomerular cell layers were divided into 36 sectors of 10° each, with a reference axis drawn parallel to the most ventral aspect of the subependymal layer of the olfactory bulb. For each layer, this segmentation yielded 756 bins (36 sectors \times 21 sections) for which cell density (number of immuno-positive cells/mm²) was calculated as shown in Figure 2c. Density values for each layer were then merged into a 2D map in which each column represents one section and each bin one sector. The columns were then aligned across animals using the most rostral aspect of the accessory olfactory bulb as an anatomical landmark.

Aligned individual maps were averaged within each group (low- or high-attractiveness odorants). A colored image plot of the data was constructed using Matlab 2015.

To provide an activity map more representative of the olfactory bulb, the bins were rearranged in a profile view scaled to the size of the sections. To do so, homologous sectors of the lateral and medial sides were averaged and the density value thus obtained was reported on a map in which the bins were positioned up for dorsal and down for ventral on a lateral view of the olfactory bulb (Supplementary Fig. 3).

Analysis of olfactory bulb maps. Point-by-point map comparisons. Comparisons of the distribution of immuno-positive cell density between the groups exposed to low- and high-attractiveness odorants were performed in each layer (granule and glomerular cell layers) using a Mann-Whitney *U* test; each group contained 5 odors \times 2–5 animals per odor). More precisely, a sliding area successively centered on each bin and covering 4 adjacent bins (2 \times 2 bins around the central bin) was used and statistical significance was set at $P < 0.05$. After FDR correction, bins still showing significant differences between groups were color-coded and an image plot was constructed using Matlab. FDR-corrected Mann-Whitney comparisons were also done in artificial groups composed of 50% of animals exposed to high-attractiveness odorants and to 50% of low-attractiveness odorants. 300 different artificial-group pairs were tested. For eight regions of the olfactory bulb (4 (ventral glomerular, ventral granular, dorsal glomerular, dorsal granular) \times 2 (anterior and posterior olfactory bulb)), the surface represented by significant bins was calculated as well as the proportion of total surface it represents. *t*-tests for comparison of proportions were applied to compare anterior and posterior regions (Supplementary Tables 2 and 3).

Contrasting the hotspots for high- and low-attractiveness odorants. Here, we searched for bins of activation common to the five odorants of one group but not shared with the five odorants of other group, in other words, bins specifically activated by one group of odorants. To do this we first averaged the maps obtained for each odorant across animals ($n = 2$ to 5 animals per odor). These maps were then binarized to keep only the 20% of bins with the highest Zif268 density (activation hotspots, value = 1, everywhere else value = 0). An overlap map reflecting the activation hotspots for high-attractiveness odors was then calculated by summing these threshold-based odor maps. In this overlap map, a bin with a value of 0 indicated no strong activation in any of the five high-attractiveness odor maps. Conversely, a bin with a value of 5 indicates that this bin was highly activated in all five odor maps. The same protocol was applied to build the low-attractiveness overlap map.

Finally, subtracting the high-attractiveness overlap map from the low-attractiveness overlap map enabled us to highlight hedonic hotspots.

Code availability. Sliding Mann-Whitney tests, overlaps and artificial group simulation in Figure 2 and Supplementary Figure 3 required custom Matlab codes that are provided in Supplementary Software.

Optogenetic experiment. Virus infusion and optical fiber implantation in the olfactory bulb. Prior to surgery, 55 mice were anaesthetized with an intraperitoneal cocktail injection of 50 mg/kg ketamine and 7.5 mg/kg xylazine and secured in a stereotaxic instrument (Narishige Scientific Instruments, Tokyo,

Japan). 150 nl of pLenti-hSyn-eNpHR3.0-EYFP lentivirus (9.22×10^6 IU/ml, expressing halorhodopsin and the yellow fluorescent protein) and 300 nl of control pLenti-hSyn-EYFP lentivirus (1.1×10^6 IU/ml, expressing only YFP) were injected bilaterally into the posterior olfactory bulb (with respect to the bregma: AP, +4.3 mm; ML, ± 0.75 ; DV, -2 mm) or anterior olfactory bulb (with respect to the bregma: AP, +5 mm; ML, ± 0.75 ; DV, -2 mm) at a rate of 150 nl/min. Following virus infusions, a dual optical fiber (200-nm core diameter, 0.22 N.A.; Doric Lenses) was implanted into the olfactory bulb at the same coordinates as the virus infusion.

The pLenti-hSyn-eNpHR 3.0-EYFP was a gift from Karl Deisseroth²³ and obtained through Addgene (plasmid #26775). The control pLenti-hSyn-EYFP lentivirus (empty virus containing only the EYFP insert) was obtained from the pLenti-hSyn-eNpHR 3.0-EYFP plasmid by PCR amplification of the EYFP sequence and insertion into the pLenti-hSyn-eNpHR 3.0-EYFP backbone by recombination (In-fusion cloning kit, Clontech).

Optical stimulation in freely moving animals. Animals injected with the lentivirus into the posterior granule cell layer and implanted with optical fibers 8–10 weeks beforehand performed the 2-min olfactory preference test for the 5 unpleasant odorants (60 μ l of pyridine, thioglycolic acid, 3-hexanol, guaiacol and *p*-cresol at 1 Pa; $n = 20$ mice) and the 5 pleasant odorants (60 μ l of camphor, limonene, β -ionone, citronellol and cineole at 1 Pa, $n = 20$ mice). One odorant was tested per d. All mice were also tested in a no-odor condition. Bilateral continuous light stimulation (crystal laser, 561 nm, 10–15 mW) was automatically triggered when the mouse's nose came within 1 cm of the hole (VideoTrack, Viewpoint) and stopped automatically when the nose exited the zone. Total duration of nose-poking into the hole (odor investigation time) was used as a measure of odor preference. Animals injected with lentivirus into the anterior granule cell layer were subjected to the same behavioral test. Investigation time between the control and NpHR mice was compared using Mann-Whitney tests. Behavioral experiments were conducted blind with regard to the experimental group (control versus NpHR). Nine trials out of 240 were discarded because unwanted events during testing disturbed the animals.

Control of light-triggered inhibition. A few days after the olfactory preference testing, all mice were light stimulated (5 s of light stimulation every 15 s for 2 min at 10–15 mW, mimicking the light stimulation received during the preference test) one hour before euthanasia. Each mouse olfactory bulb was coronally sectioned (14 μ m). EYFP (inhibitory channel expressing cells) and Zif268 double staining was performed on olfactory bulb sections as described previously (incubation with rabbit Zif268 antibody (1:1,000, Santa Cruz, ref: Sc-189), chicken GFP antibody (1:1,000, Anaspec TEBU, ref: 55423) and guinea pig Tbx21 (1:5,000, gift from Y. Yoshihara). The density of EYFP, Zif268⁺ and the percentage of double-stained cells were counted in the ventral olfactory bulb on 2–4 sections (inter section interval = 70 μ m) covering 140–280 μ m under the injection site and at a distance from it (about 500 μ m anterior or posterior depending on the injection site). As a control, YFP⁺ cells were also assessed in the dorsal olfactory bulb. Positive cell densities or percentages of double stained cells were calculated for each animal, averaged within groups and compared using Wilcoxon tests. Assessment of cell density experiments were conducted blind with regard to the experimental group. In some cases, histology was not sufficiently well preserved to efficiently perform cell counts ($n = 5$ mice discarded).

In addition, we did slice recording on granule cells: animals infused in the olfactory bulb with NpHR ($n = 5$) or the control virus ($n = 3$) (with respect to the bregma: AP, +4.3 mm; ML, ± 0.75 ; DV, -2 mm; $n = 5$) 8 weeks earlier were anaesthetized with an intra-peritoneal injection of ketamine (50 mg/ml) and decapitated. The head was quickly immersed in ice-cold (2–4 °C) carbonated

artificial cerebrospinal fluid (cACSF; composition: 125 mM NaCl, 4 mM KCl, 25 mM NaHCO₃, 0.5 mM CaCl₂, 1.25 mM NaH₂PO₄, 7 mM MgCl₂ and 5.5 mM glucose; pH = 7.4) oxygenated with 95% O₂/5% CO₂. The osmolarity was adjusted to 320 mOsm with sucrose. Olfactory bulbs were removed and cut in horizontal slices (400 μ m thick) using a Leica VT1000s vibratome (Leica Biosystems, France). Slices were incubated in a Gibb's chamber at 30 ± 1 °C using an ACSF solution with a composition similar to the cACSF, except that the CaCl₂ and MgCl₂ concentrations were 2 mM and 1 mM, respectively.

Slices were transferred to a recording chamber mounted on an upright microscope (Axioskop FS, Zeiss) and were continuously perfused with oxygenated ACSF (4 ml/min) at 30 ± 1 °C. Granule cells expressing the EYFP were visualized using an epifluorescence microscope (Zeiss Axio Scope) with a 40 \times objective (Zeiss Plan-Apochromat) and the bandpass filters set 38HE (Zeiss, excitation 470/40 nm, emission 525/50 nm). The illumination was produced by a white LED (Dual Port OptoLED, Cairn Research, UK). Measurements were performed with an RK 400 amplifier (BioLogic, France). The data were acquired with a sampling frequency of 20 kHz on a PC-Pentium D computer using a 12-bit A/D-D/A converter (Digidata 1440A, Axon Instruments) and PClamp10 software (Axon Instruments). Patch-clamp configurations were achieved with borosilicate pipettes (o.d.: 1.5 mm; i.d.: 1.17 mm; Clark Electromedical Instruments). The recording pipette was filled with the following intracellular solution (131 mM K-gluconate, 10 mM HEPES, 1 mM EGTA, 1 mM MgCl₂, 2 mM ATP-Na₂, 0.3 mM GTP-Na₃ and 10 mM phosphocreatine; pH = 7.3, 290 mOsm). Halorhodopsin was excited at 470–570 nm.

Activated mitral cells were assessed using labeling with Zif268 (1:1,000, Santa Cruz, ref: Sc-189) and Tbx21 (1:5,000, a gift from Y. Yoshihara), a specific marker of mitral cells. Double-labeled cells were counted in the dorsal and the ventral parts of the OB.

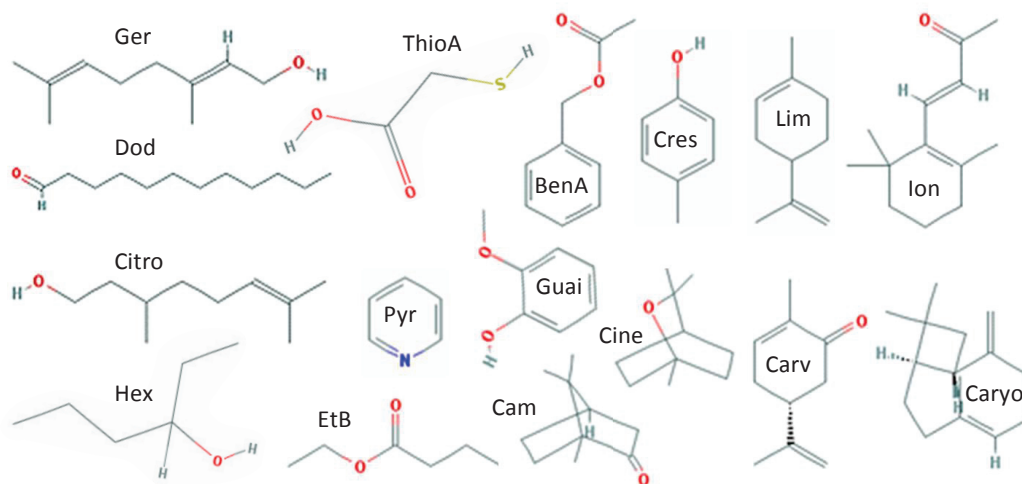
In the olfactory bulb slices prepared from the mice as described above (control $n = 3$ mice and $n = 6$ cells, NpHR, $n = 4$ mice and $n = 6$ cells), the spontaneous firing activity of the mitral cells was recorded in a cell-attached configuration. 5-s recordings in the control condition were alternated with 5 s in the presence of LED illumination (between 6 and 10 recording sessions for each condition). The effect of light stimulation was compared between NpHR and the control mice.

Statistics. A Kolmogorov-Smirnov test was used to assess normality of the data. Due to differences in normality across the different data sets, we chose to use Mann-Whitney tests, permutation tests or Wilcoxon tests for paired data (Statistica) in this study. No statistical methods were used to predetermine sample sizes, but our sample sizes were similar to those reported in previous publications^{14,21,24,25}. Data collection and animal assignment to the various experimental groups were randomized.

A **Supplementary Methods Checklist** is available.

Data availability. The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

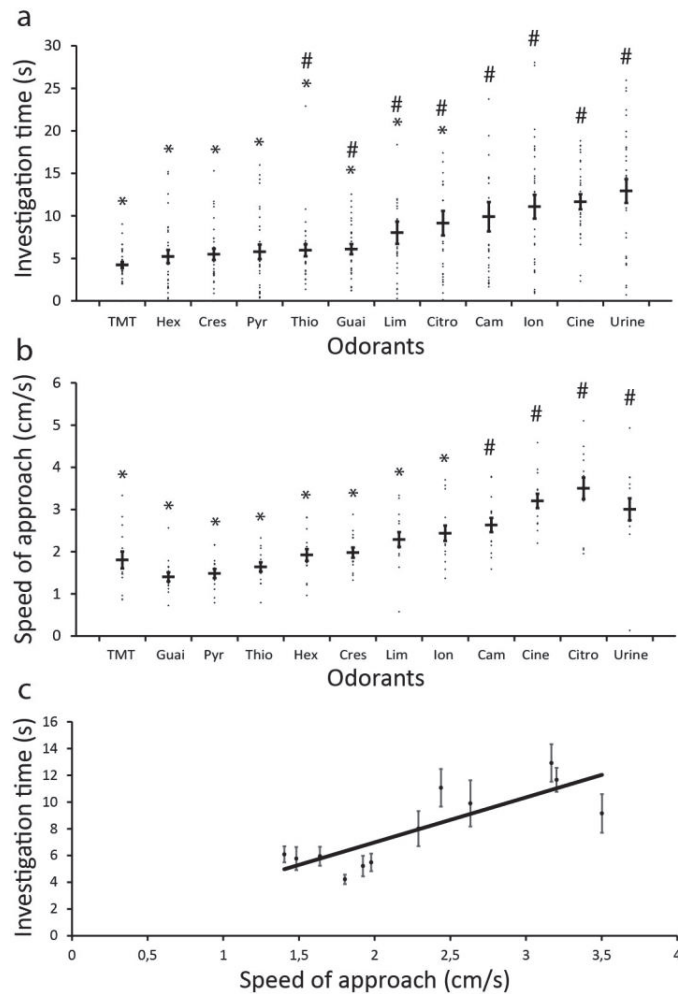
20. Cleland, T.A., Morse, A., Yue, E.L. & Linster, C. *Behav. Neurosci.* **116**, 222–231 (2002).
21. Mandairon, N., Sultan, S., Nouvian, M., Sacquet, J. & Didier, A. *J. Neurosci.* **31**, 12455–12460 (2011).
22. Busto, G.U. *et al. Eur. J. Neurosci.* **29**, 1431–1439 (2009).
23. Gradinaru, V. *et al. Cell* **141**, 154–165 (2010).
24. Moreno, M.M. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 17980–17985 (2009).
25. Sultan, S., Rey, N., Sacquet, J., Mandairon, N. & Didier, A. *J. Neurosci.* **31**, 14893–14898 (2011).



Supplementary Figure 1

Molecular structures of the 16 odorants used in the behavioral study.

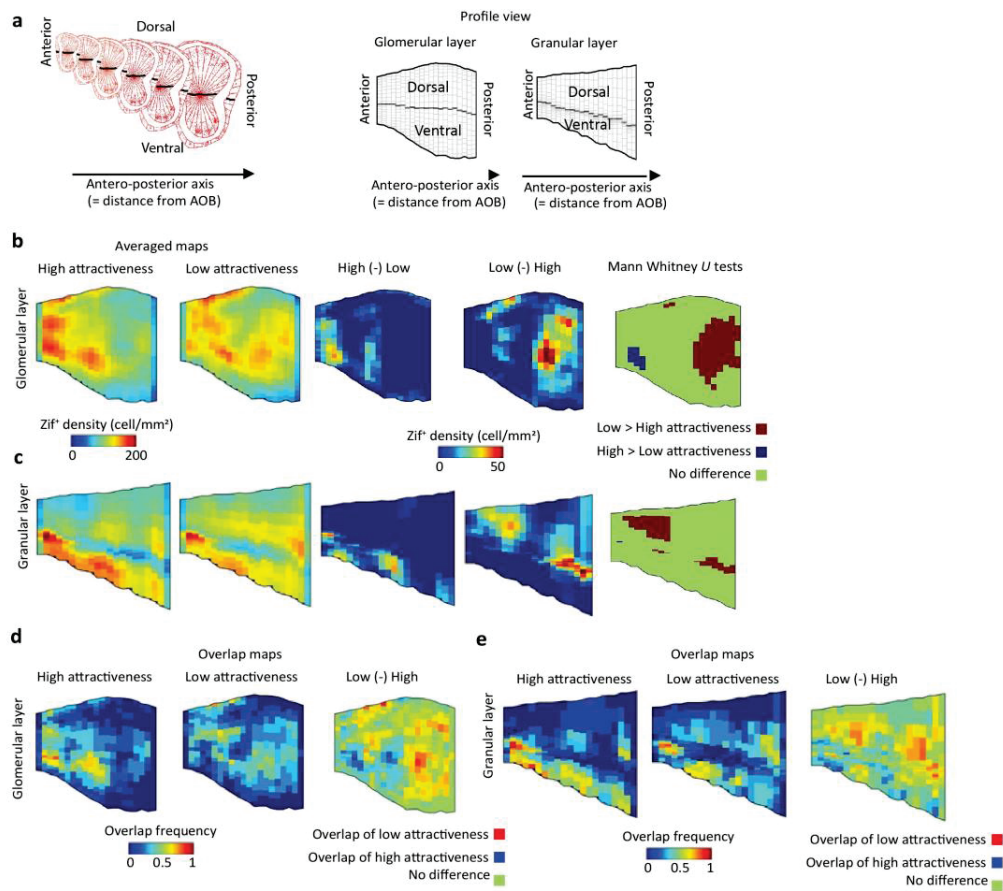
Geraniol (Ger); Dodecanal (Dod); Citronellol (Citro); 3-Hexanol (Hex); Thioglycolic acid (ThioA); Pyridine (Pyr); Ethyl butyrate (EtB); Benzyl acetate (BenA); Guaiacol (Guai); Camphor (Cam); p-Cresol (Cres); Cineole (Cine); D-Limonene (Lim); D-Carvone (Carv); β -Ionone (Ion); β -Caryophyllene (Caryo). Two-dimensional drawings were obtained from Pubchem: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.



Supplementary Figure 2

Attractiveness of odorants: comparison with urine and TMT.

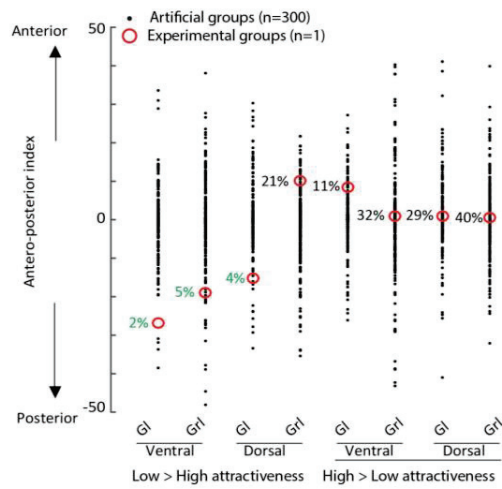
(a) Mice investigation time varies for the different odorants (odor effect $F(11,319)=7.29$, permutation test $p<0.0001$ and Wilcoxon tests, #: differences from TMT: urine 0.00001; Cine 0.0001; Ion 0.0001; Cam 0.003; Citro 0.001; Lim 0.005; Guai 0.02; Thio 0.016 and *: differences from urine: TMT 0.0001; Hex 0.0002; Cres 0.0001; Pyr 0.001; Thio 0.0004; Guai 0.0009; Lim 0.009; Citro 0.04; $n=30$). Five experimental points above 30 s are not shown (Lim 1; Citro 2; Cam 2). (b) Mice speed of approach to the odor source varies depending on the odorant (odor effect $F(11,154)=10.43$, permutation test $p<0.0001$ and Wilcoxon test. #: differences from TMT: urine 0.0009; Cine 0.0009; Cam 0.015; Citro 0.002. *: differences from urine: TMT 0.0009; Guai 0.0006; Pyr 0.0009; Thio 0.0009; Hex 0.0006; Cres 0.0009; Lim 0.007; Ion 0.006) ($n=15$; mean \pm sem). (c) Pearson correlation $R=0.82$, $p=0.00$. Citronellol (Citro); 3-Hexanol (Hex); Thioglycolic acid (Thio); Pyridine (Pyr); Guaiacol (Guai); Camphor (Cam); p-Cresol (Cres); Cineole (Cine); D-Limonene (Lim); β -Ionone (Ion).



Supplementary Figure 3

Profile view of patterns evoked by pleasant and unpleasant odorants.

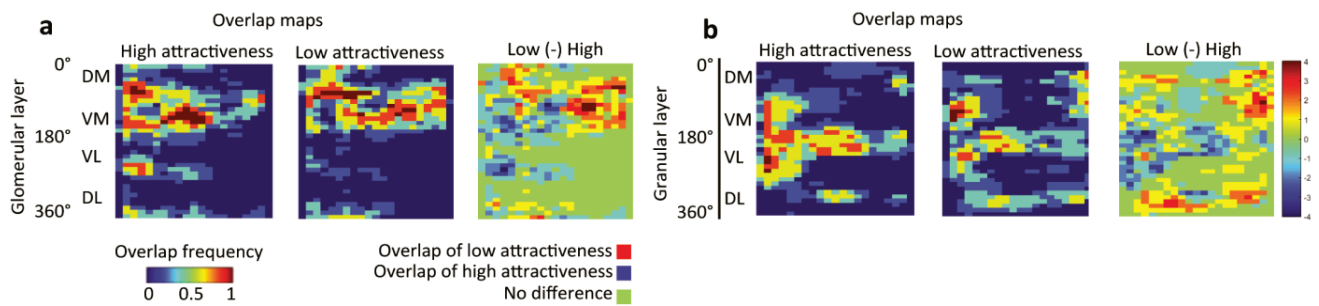
(a) Profile views of both granule and glomerular cell layers were obtained by averaging the values of the medial and lateral sectors projected into a lateral view of the OB. In addition, the representation reflects the size of the sections. (b) Left, maps depicting the distribution of Zif268-positive cell density in the glomerular layer in response to high or low attractiveness odorants. Middle, point-to-point subtraction maps. Right, point-to-point map comparisons by Mann-Whitney U tests to which FDR correction was applied. Significance was set at $p < 0.05$. (c) Same as b for the granule cell layer. (d) Overlap maps of the glomerular layer reflecting the activation hotspots for high and low attractive odorants. Overlap maps were obtained by summing averaged odor maps ($n=2$ to 5 animals per odor) that were thresholded to keep the 20% bins with the highest Zif268 density and binarized so that bins within the 20% highest density were given a value=1 and all the other bins were given a value of 0. This was done for high (left) and low (middle) attractiveness odorants. To reveal hotspots specific to low and high attractiveness odorants, the overlap map for high attractive odorant was subtracted from the overlap map for low attractive odorant (right). In this map, negative values (blue) indicate bins selectively activated by highly attractive odorants and positive values (red) indicate bins selectively activated by low attractive odorants. (e) Same as d for the granule cell layer.



Supplementary Figure 4

Distribution of Zif⁺ labeling: comparison between artificial and experimental groups.

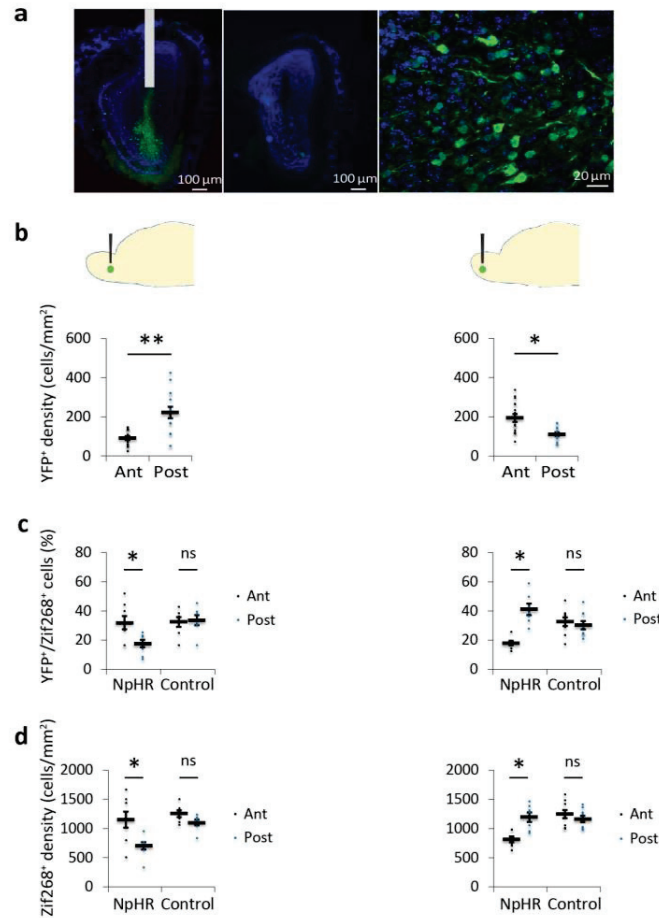
An antero-posterior index was calculated from the Mann-Whitney *U* tests maps (FDR corrected) as the % of bins with p value < 0.05 in anterior region (-) % of bins with p value < 0.05 in posterior region, for each layer in artificial and experimental groups. Artificial groups are composed of 5% high and 50% low attractiveness odorants randomly selected.



Supplementary Figure 5

Overlaps maps.

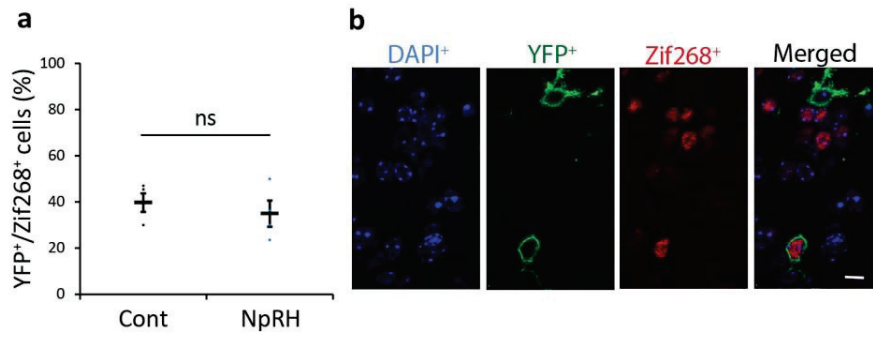
(a) Overlap maps of the glomerular layer obtained by summing averaged odor maps threshold and binarized so that bins within the 20% highest density were given a value=1 and all the other bins were given a value of 0. This was done for high (left) and low (middle) attractiveness odorants. Overlap map for low attractiveness odorants was subtracted from the overlap map for highly attractive odorants (right). Negative values (blue) indicate bins selectively activated by highly attractiveness odorants and positive values (red) indicate bins selectively activated by low attractiveness odorants. (b) Same as a for the granule cell layer. AOB: accessory olfactory bulb.



Supplementary Figure 6

Optogenetic experiments: cellular assessment of virus transfection and of effect of light stimulation.

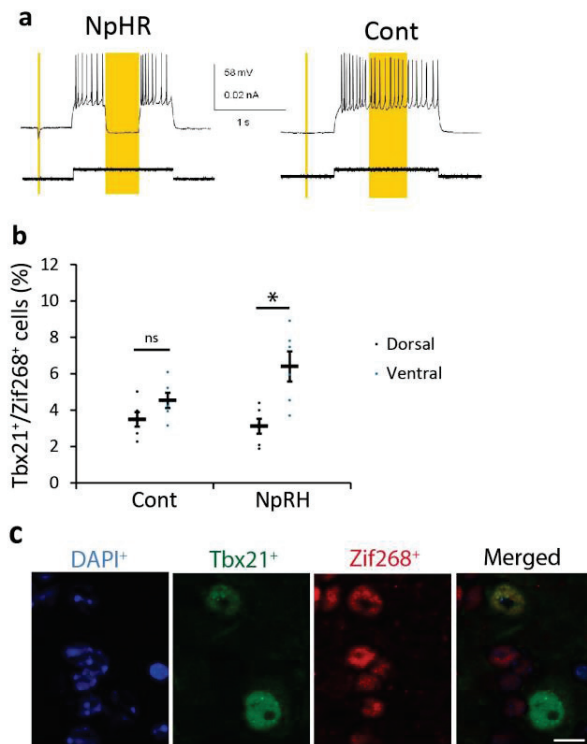
(a) EYFP⁺ area at the viral injection site in NpHR mice; placement of the optical fiber tip above the ventral OB is shown (left); same OB at distance of the injection site (middle). High magnification of EYFP-positive neurons in the vicinity of the virus injection site (right). Representative of 31 animals (b) Density of EYFP⁺ neurons is higher in the areas targeted by the viral infusion than in non-targeted ones (left, ventro-posterior infusion n=15 p=0.0014 and right, ventro-anterior infusion n=16 p=0.0007). Control empty virus and NpHR virus injected mice were pooled. (c). Light stimulation decreased the percentage of EYFP⁺ cells expressing Zif268 in light-targeted areas of NpHR mice, ventro-posterior OB (left, n=15, *:p=0.011) or anterior OB (right, n=16, *:p=0.017) compared to the light non-targeted regions. This difference was not observed in mice infused with the control virus. (d) This difference was retrieved when considering the density of total Zif268⁺ cells (left, n=15, *:p=0.01 for ventro-posterior and right, n=16, *:p=0.017 for anterior injections) (mean±sem).



Supplementary Figure 7

Assessment of viral transfection in the dorsal OB.

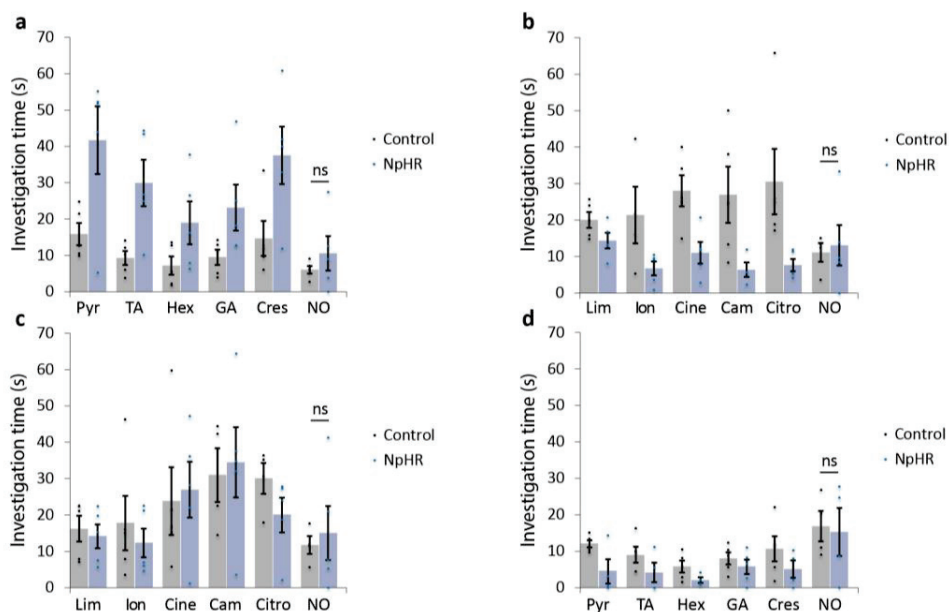
(a) The percentage of YFP/Zif268⁺ cells in the dorsal granule cell layer was not modulated in NpRH mice (n=4) compared to controls (n=4) (Mann-Whitney p=0.66; (mean±sem). (b). Representative image of YFP/Zif268-positive cell labeling. Representative of 8 animals. Arrow indicates double labeled cells. Scale bar, 5 μm.



Supplementary Figure 8

Optogenetic inhibition of granule cells impact mitral cell firing.

(a) Light stimulation (yellow bars) on OB slices prevented firing of a granule cell expressing NpHR by producing a membrane potential hyperpolarization and blocked the firing generated by a step of current injection. The same stimulation was ineffective on granule cells expressing the control virus. (b) The percentage of mitral cells (Tbx21) expressing Zif268 is higher in ventral compared to dorsal OB of NpRH mice (Wilcoxon, $p=0.027$; $n=6$) (mean \pm sem). This is not retrieved in control mice (Wilcoxon, $p=0.24$; $n=6$). (c) Representative image of Tbx21/Zif268 labeling (representative of 12 animals). Scale bar, 10 μ m.



Supplementary Figure 9

The investigation time for unpleasant and pleasant odorants upon light stimulation in NpHR and control mice.

(a) Postero-ventral light-triggered inhibition increased investigation time in NpHR (blue) vs control (grey) mice (Mann-Whitney on groups, $p < 0.0001$) for unpleasant odorants but (c) not for pleasant odorants ($p = 0.75$). (b) Antero-ventral light-triggered inhibition decreased investigation time in NpHR versus control mice for pleasant ($p < 0.0001$) and (d) unpleasant ($p = 0.001$) odorants. In all experiments, the light stimulation had no effect in the no odor condition ($p > 0.05$). $n = 5$ for controls and $n = 5$ for NpHR (mean \pm sem). Citronellol (Citro); 3-Hexanol (Hex); Thioglycolic acid (TA); Pyridine (Pyr); Guaiacol (GA); Camphor (Cam); p-Cresol (Cres); Cineole (Cine); D-Limonene (Lim); β -Ionone (Ion); no odorant (NO).

CAS number	Odorant name	% (vol/vol) dilution
110-88-1	Pyridine	0.01
108-44-5	p-Cresol	1.82
6989-27-5	D limonene	0.21
14901-07-6	β Ionone	30.60
823-37-0	3-Hexanol	0.08
90-05-1	Guaiacol	2.09
108-24-1	Geraniol	21.28
105-54-4	Ethyl Butyrate	0.01
112-54-9	Dodecanal	27.74
106-22-9	Citronellol	17.60
470-82-6	Cineole	0.17
87-44-5	β Caryophyllene	14.00
99-49-0	D Carvone	2.37
76-22-2	Camphor	0.45
140-11-4	Benzyl Acetate	1.47
88-11-1	Thioglycolic acid	0.32

Supp Table 1. Odorants and dilutions used in the study.

		Experimental Groups					
		unpleasant > pleasant % of surface			pleasant > unpleasant % of surface		
		Anterior	Posterior	t-test	Anterior	Posterior	t-test
Ventral	Glomerular	3.79	31.13	p<0.0001 ***	9.94	0.69	p<0.0001 ***
	Granular	0	5.18	p<0.0001 ***	0.62	0	ns
Dorsal	Glomerular	1.72	24.03	p<0.0001 ***	1.18	0	P=0.03*
	Granular	27.74	7.35	p<0.0001 ***	0.08	0	ns

		Artificial Groups					
		unpleasant > pleasant % of surface			pleasant > unpleasant % of surface		
		Anterior	Posterior	t-test	Anterior	Posterior	t-test
Ventral	Glomerular	7.53	8.5	ns	7.01	6.58	ns
	Granular	8.25	8.1	ns	8.08	8.5	ns
Dorsal	Glomerular	8.95	9.38	ns	6.16	5.49	ns
	Granular	9.47	9.72	ns	5.84	7.02	ns

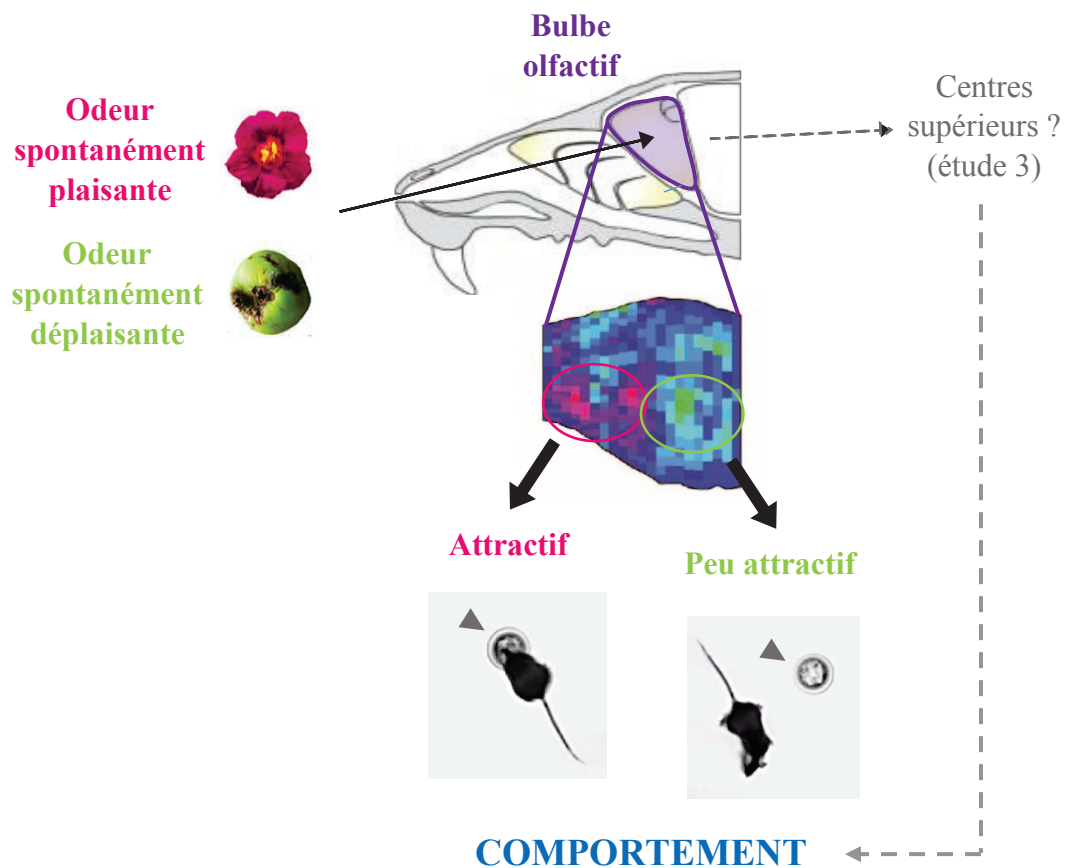
Supp Table 2: Spatial differences in activation in response to pleasant and unpleasant odorants across the antero-posterior and dorso-ventral axis of the OB. **Up:** based on the Mann Whitney maps shown Fig. 2 the surface exhibiting a p value <0.05 with higher density of activated cells in response to unpleasant odorants compared to pleasant odorants (left) or the opposite (right) was calculated over the total number of bins for each region of the OB. **Down:** The same analysis performed for artificial groups mixing animals stimulated with pleasant and unpleasant odorants. Percentage is averaged over 300 artificial groups. For each layer the anterior, posterior, dorsal and ventral regions were defined as follow: Antero-ventral = angular sectors 10 to 27, sections 1 to 11, total= 198 bins, Antero-dorsal= angular sectors 1 to 9 and 28 to 36, sections 1 to 11, total=198 bins, Postero-ventral= angular sectors 10 to 27, sections 12 to 21, total=180 bins, Postero-dorsal= angular sectors 1 to 9 and 28 to 36, sections 12 to 21, total=180 bins. T-tests for comparison of proportions, * p<0.05; *** p<0.001.

		Experimental Groups					
		unpleasant > pleasant % of surface			pleasant > unpleasant % of surface		
		Anterior	Posterior	t-test	Anterior	Posterior	t-test
Ventral	Glomerular	0	32.75	p<0.0001 ***	12.76	0	p<0.0003**
	Granular	0.32	8.5	p=0.0035 *	0	0	ns
Dorsal	Glomerular	1.74	38.43	p<0.0001 ***	0	0	ns
	Granular	33.35	3.27	p<0.0001***	0.32	0	ns

		Artificial Groups					
		unpleasant > pleasant % of surface			pleasant > unpleasant % of surface		
		Anterior	Posterior	t-test	Anterior	Posterior	t-test
Ventral	Glomerular	11.47	13.61	ns	13.48	11.63	ns
	Granular	16.59	14.78	ns	13.99	15.12	ns
Dorsal	Glomerular	12.76	14.09	ns	12.13	11.8	ns
	Granular	14.75	14.84	ns	10.9	12.74	ns

Supp Table 3: Spatial differences in activation in response to pleasant and unpleasant odorants across the antero-posterior and dorso-ventral axis of the OB. **Up:** based on the Mann Whitney maps shown Supplementary Fig. 3 the surface exhibiting a p value <0.05 with higher density of activated cells in response to unpleasant odorants compared to pleasant odorants (left) or the opposite (right) was calculated over the total surface for each region of the OB. **Down:** The same analysis performed for artificial groups mixing animals stimulated with pleasant and unpleasant odorants. Percentage is averaged over 300 artificial groups. For each layer the anterior, posterior, dorsal and ventral regions were defined as follow: Antero-ventral = angular sectors 10 to 18, sections 1 to 11, total= 99, Antero-dorsal= angular sectors 1 to 9, sections 1 to 11, total=99, Postero-ventral= angular sectors 10 to 18, sections 12 to 21, total=90, Postero-dorsal= angular sectors 1 to 9, sections 12 to 21, total=90. T-tests for comparison of proportions, * p<0.05, ** p<0.001; *** p<0.0001.

Résumé étude 1



Résumé étude 1. Le bulbe olfactif est un lieu de codage de la valeur hédonique innée des odeurs. Le domaine ventral du bulbe olfactif est impliqué dans le traitement des odeurs spontanément plaisantes pour sa région antérieure et déplaisantes pour sa région postérieure. Cette étude soulève les questions suivantes : comment cette information hédonique est-elle interprétée par les centres supérieurs ? Quelles structures induisent le comportement d'attraction lié aux odeurs ? (cf. Etude 3).

Le patron hédonique est représenté au niveau de la couche granulaire du bulbe olfactif. Les têtes de flèches grises indiquent la présence de la source odorante.

ETUDE 2 : Développement d'une méthode de cartographie cérébrale à haute-résolution permettant de recalibrer l'activité neuronale dans un atlas de référence

Thévenet M, Midroit M. Non-imaged based method for matching brains in a common anatomical space for cellular imagery (en préparation)

Non-imaged based method for matching brains in a common anatomical space for cellular imagery

Marc Thevenet^{1,#}, Maëllie Midroit^{1,#}, Joelle Sacquet¹, Arnaud Fournel¹, Moustafa Bensafi¹, Anne Didier¹ and Nathalie Mandaïron^{1,*}

¹CNRS, UMR 5292; INSERM, U1028; Lyon Neuroscience Research Center, Neuroplasticity and neuropathology of olfactory perception Team, Lyon, F-69000, France; University Lyon, F-69000, France; University Lyon1, Villeurbanne, F-69000, France;

[#]Equal contribution

Corresponding author:

Nathalie Mandaïron

INSERM, U1028, CNRS, UMR5292, Lyon Neuroscience Research Center

50 Avenue Tony Garnier

F-69007 LYON, FRANCE

Tel: 00 33 437 287 499

Fax: 00 33 437 287 602

e-mail: nathalie.mandaïron@cnrs.fr

ABSTRACT

Cellular imagery using histology sections is one of the most common techniques used in Neuroscience. However, this inescapable technique has severe limitations due to the need to delineate regions of interest on each brain, which is time consuming and variable across experimenters. We developed algorithms based on an innovative vectors field elastic registration allowing fast, automatic realignment of experimental brain sections and associated labeling in a brain atlas with very high accuracy and in a streamlined way. Thereby, brain areas of interest can be finely identified without outlining them and different experimental groups can be easily analyzed in an unbiased manner using conventional tools. This 3D method directly readjusts labeling in the brain atlas without any intermediate manipulation of images. This technological breakthrough is applicable to any species for which an atlas is available, is independent of the type of labeling used and requires only equipment routinely used in laboratories.

Keywords: cellular brain mapping, elastic registration, vectors field, brain atlas

1. Introduction

Being able to precisely assign neural labeling to brain structures of interest is required for identifying the networks involved in processing neural information and more broadly for the understanding of the neural basis of physiological functions and how these are altered by aging or pathology.

The study of labeled histology slices is a powerful, widely-used technique with a high level of spatial resolution (cellular level) (Lesburgueres et al., 2011, Kermen et al., 2016) used to analyze brain function. This technique usually consists in delineating regions of interest (ROIs), then analyzing the labeling inside the ROIs to extract a labeling density. These densities can then be compared between ROIs and experimental conditions.

However, this inescapable technique has several limitations. The major issue relates to the necessity of visually delimiting the ROIs on each histological section for each subject in a reproducible and reliable manner. This can be difficult or impossible to implement due to the lack of anatomical landmarks, the inter-individual anatomical variability of the brain and possible deformations caused by the histological preparation of the slides (fixation, sectioning...). The lack of accuracy and consensus in identifying the ROIs can lead to contradictory scientific results (Radulovic et al., 1998, Franklin and Druhan, 2000, Miller and Marshall, 2004, 2005). A way to circumvent these issues is to use other techniques such as fMRI or TEP but these cannot attain similar cellular resolution (Kornblum et al., 2000, Houston et al., 2001, Herschman, 2003, Tsurugizawa et al., 2011, Lu et al., 2012, Jang, 2013, Zimmer et al., 2014). All the methods developed so far to match brain sections with an atlas are based on image collection and registration (Kopeck et al., 2011, Vandenberghe et al., 2016). The limitations of such image-based methods are dependent on the way the images are acquired, the cost (two-photon tomography mapping or imaging with iDISCO) (Ragan et al., 2012, Renier et al., 2016) or the accuracy of the matching method. In addition, after a block matching procedure, these methods use elastic deformation (Free Form Deformation model or similar) based on mutual information contained in the images, which is limiting for the analysis of low-level labeling (Kim et al., 1997, Rueckert et al., 1999, Ourselin et al., 2001).

To address these issues, we have developed a new method that enables automated unbiased matching of histological sections from experimental brains using a digitized brain reference atlas. The proposed method allows high sensitivity matching using innovative vectors field elastic registration. More precisely, we have developed algorithms to allow (1) fast, automatic realignment of labeling in brain structures or sub-regions of interest identified in the atlas without having to delineate them and that (2) limit variability due to inter-individual anatomical differences or tissue processing distortions. The transformed brain of each animal becomes spatially comparable across all structures and sub-regions listed in the atlas and all brains can be easily and quickly analyzed using conventional mathematical or statistical tools. Using our method, high-resolution labeling density images are

automatically generated in a 3D format. In addition to being more accurate, the method is simpler and faster than previous image-based methods since it requires only the positions of labeled cells detected under the microscope acquired using mapping software, and the external contour of the sections. It thus minimizes the number of processing stages and reduces the risk of bias at each stage.

We have highlighted the efficiency of the method using neural activity assessment in response to olfactory stimuli. More precisely, we mapped the expression of an immediate early gene, cFos, which is commonly used to map neuronal activation (Maviel et al., 2004, Cruz et al., 2013, Redondo et al., 2014, Okuyama et al., 2016, Renier et al., 2016) in the mouse brain (C57Bl/6J) after olfactory stimulation or a non-stimulated control condition. Analysis of ROIs indicated an increased density of c-fos positive cells in the primary olfactory cortex but not in non-olfactory areas of the odor-stimulated animals compared to the controls which is consistent with previous studies in both animals and humans (Cattarelli et al., 1988, Savic et al., 2002, Illig and Haberly, 2003, Bensafi et al., 2007, Rennaker et al., 2007, Stettler and Axel, 2009, Bensafi et al., 2012, Wu et al., 2012).

2. Materials and methods

2.1. Histology and cellular mapping on experimental brain sections

Our original method consists in a high-accuracy matching of experimental brain sections with a reference brain atlas. It allows precise, automatic assignment of the labeled cells to a structure and permits between-group comparisons.

To validate the different steps of the matching method, we used the mouse brain and analyzed the expression of the immediate early gene *cfos* as an index of neural activity evoked by odor stimulation. More precisely, eight C57Bl6J mice aged 3-4 months were sacrificed after odor stimulation or not (Kermen et al., 2016). Frozen serial coronal sections (thickness: 14 μm ; interval: 210 μm ; 48 sections per animal) of the brain were processed for cFos immunohistochemistry (Figure 1a). Briefly, a rabbit anti-cFos primary antibody (1: 5000; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) followed by a biotinylated goat anti-rabbit (1:200; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) were used. The external contour of each section was then outlined (in our example, we outlined the right hemisphere) and positive cells were automatically counted using mapping software (Mercator, Exploranova, La Rochelle, France) coupled to a Zeiss microscope. We also drew the inter-hemispheric fissure in order to later align the brains along the dorso-ventral axis (Figure 1b). It is worth noting that any mapping software is suitable as long as the coordinates of each labeled cell and contour point can be exported.

2.2. Paxinos Atlas as a common anatomical space

Brain sections from the mice were matched with the widely used Paxinos Atlas (« The mouse brain », Paxinos and Franklin's, 4th edition) which presents a large number of identified brain structures. We first digitalized the external contour and internal brain structures of this reference Atlas in the form

of polylines from 9.84 mm to -0.36 mm along the antero-posterior axis (0 at inter aural lines) with an interval of 120 μm (86 sections) (Figure 2). Since the Atlas does not completely cover the anterior part of the olfactory bulb, we extrapolated this missing part based on our olfactory bulb sections.

In addition, we positioned several landmarks on specific anatomical features of the digitized Atlas. If these landmarks can be identified and positioned in the experimental sections, they can then be matched with their corresponding landmarks in the Atlas during the registration process (see below). These landmarks are not mandatory, but they improve the quality of the registration by introducing additional points of reference for local deformations (see below). In our case some landmarks were positioned on the rhinal fissure, the center of the anterior commissure and the genu of the corpus callosum.

2.3. Matching experimental sections with Atlas sections

The first step requires the realignment and reorientation of the histological sections and to do this we first grossly stacked all the sections on the XY plan. The sections were then rotated so that they were parallel and translated to be realigned (X axis) using for both steps the interhemispheric axis as the reference line (Figure 1b)

The second step consists in the realignment of all sections along the Z axis. At least two histological sections (one in the anterior part and the other in the posterior part of the brain) need to be associated with the two closest corresponding sections of the Atlas by visual inspection. The other sections are then automatically associated with the Atlas sections using a linear transformation (interpolation for the sections inside and extrapolation for the sections outside the interval depicted by the 2 reference sections) (Figure 3). Matching along the Z axis can be improved if additional experimental sections are associated with the Atlas because linear transformation is performed for each interval.

The third step consists in the readjustment of the section size in the XY plan. For each histological section to which a section of the Atlas has been associated, a homothetic transformation is applied along first the X and then the Y axis by the use of bounding boxes.

This next step consists in precisely matching the external contours and landmarks of the histological sections with the corresponding external contours and landmarks of the digitized Atlas using a method of nonlinear elastic registration. This registration is based on a computed vectors field that is applied to the labeling of the experimental section. To do this and obtain optimal registration, four steps were required.

First, we associated the landmarks eventually present on the histological sections (Ah) with the corresponding landmarks of the Atlas (Aa) sections. Using the formulae below, a local elastic transformation allows the alignment of Ah on Aa . All the neighboring points to Ah (contours and labeling, called point i) are also aligned, depending on their distance from Ah (Figure 4a)

$$d_{x0} = X_{Ah} - X_{Aa} \quad \text{and} \quad d_{y0} = Y_{Ah} - Y_{Aa}$$

$$d_i = \sqrt{(X_{Ah} - X_i)^2 + (Y_{Ah} - Y_i)^2}$$

$$V_{xi} = -d_{x0} \exp(-\gamma d_i) \quad \text{and} \quad V_{yi} = -d_{y0} \exp(-\gamma d_i)$$

The new point i is

$$X'_i = X_i + V_{xi} \quad \text{et} \quad Y'_i = Y_i + V_{yi}$$

The coefficient γ is used to expand the effect of the transformation to the neighboring points. The size of the expansion is empirically defined ($\gamma=0.00075$) to be efficient in all cases.

The second step required is to compute a vectors field of deformations that will be applied to the labeling (Figure 4b). Prior to this the inter-point distances of the external contours of both the Atlas and the experimental sections need to be equalized. A second order polynomial filter (window size: 4; between 3 and 5 are the optimal values for this kind of contour discretization) is further applied to the histological contours to eliminate irregularities and smooth the contour. This step is essential so that the tangents that are calculated on the contours are representative of the local curvature. Finally, we computed a vectors field thus:

- for each point of the section, we computed a tangent to the point and then computed the intersection between the tangent and the contour of the Atlas, generating a vector (u, v) which connects the two points. The set of these vectors forms the vectors field (Figure 4b).
- we added to this field the vectors that connect the Atlas landmarks to the experimental ones.
- we applied the vectors field (u_n, v_n) to the labeling of the histological section using the formulae given below (with $n=1$ to N the total number of vectors). The coordinates of the points of the contours and landmarks were noted (X_n, Y_n) as were the labeling points (X'_m, Y'_m) (with $m=1$ to M the total number of labeling points in the section).

$$S_m = \sum_{n=1}^N \exp(-\sigma d_{nm})$$

$$d_{nm} = \sqrt{(X_n - X'_m)^2 + (Y_n - Y'_m)^2}$$

The new coordinates of m become: (X''_m, Y''_m) and are given by:

$$X''_m = X'_m + \frac{1}{S_m} \sum_{n=1}^N u_n \exp(-\sigma d_{nm})$$

$$Y''_m = Y'_m + \frac{1}{S_m} \sum_{n=1}^N v_n \exp(-\sigma d_{nm})$$

The coefficient σ has been empirically established to be adapted to all cases. This coefficient is $\sigma=0.01$ for the vectors resulting from the contours and $\sigma=0.03$ for the vectors resulting from the landmarks to emphasize the influence of the contour rather than any of the landmarks.

A pretreatment step can be introduced to restore the negentropy in the vectors field. When brain fissures are very deep or the tissue displays imperfections such as rips, the correspondence to the Atlas becomes aberrant and the transformation vectors false. The objective here is to modify the contour of the histological section before computing the vectors field. Indeed, points inducing a strong curvature can be iteratively eliminated and this process is stopped when the curvature is lower than a threshold (angle $<60^\circ$). This procedure leads to locally ‘filled’ imperfections, something that cannot be done using the polynomial filter. Again, inter points distances are equalized and the vectors field computed (Figure 4c).

The last step consists in suppressing any vectors considered to be aberrant because of a gap between the histological contour and the Atlas contour (when scissures are deep and large). In this context, estimation of some vectors can be incorrect since the intersection points are too far apart. When the norm of the vector exceeds a given threshold (400 μm in our case), the vector is suppressed from the field in order to maintain the quality of the registration (Figure 4d). The aim of these two final parts of the process is to increase the robustness of the method even if the histological sections have imperfections.

The entire matching process (alignment and elastic registration) for one animal takes about 45 seconds on a 2.3 GHz, Intel Core i7, 4 Go computer. At the end of this computation, each labeled cell is correctly localized in the common Atlas and is thus spatially assigned to one region or sub-region. Different factors (cell density, number, mean...) can be automatically, easily and almost instantaneously extracted after registration from raw data and saved in a Table (Supp Figure 1). Since the experimental sections have been matched to the Atlas, selecting any ROIs present in the Atlas yields the number or density of labeled cells in this particular ROI.

2.3. Generation of images of density

Once all sections have been registered in the Atlas, we obtain a stack of those sections that include labeling along the Z axis. The 3D space in which the stack is placed can be discretized in isotropic voxels (60 μm). We thus get a matrix of labeling density that can be visualized as images similar to those obtained from MRI but in our case each voxel contains the exact number of counted labeled cells. The size of the voxel (60 μm) was chosen in mice to allow the fine discretization of small regions of interest within the section (XY plan) without excessive interpolation along the Z axis (knowing that the inter-interval between sections in the Atlas is 120 μm and that experimental sections may be missing). It should be noted that the size of the voxel can be adapted to the need of the experimental question or the species used for the study. Interpolation is generally achieved using conventional methods (values of missing voxels are directly estimated by linear interpolation of neighbors) (Gao and Yin, 1999). These methods are not efficient when the anatomy between two neighboring sections is too dissimilar or if several sections are missing. To resolve this issue and obtain

precise interpolation, we applied an object-based method (Grevera and Udupa, 1996) whose use is facilitated here thanks the external contours of the Atlas serving as a bounding box. The object-based method allows estimation of both the value and position of missing voxels thus avoiding ghost and blurred images and preserving the coherency of the anatomical structures (Supp Figure 2).

Based on this, we generated images of labeling density (150x150x204 voxels) for each brain. The quality of the density images generated by the method we propose is equivalent to that obtained using classic anatomic MRI (aMRI) and largely superior to that obtained from functional MRI (fMRI) (Supp Figure 3).

3. Results

To validate the method and demonstrate its high efficiency, we used our algorithms on the experimental data obtained from 8 mice.

First, we performed only the first steps of the transformation: sections of each mouse brain were aligned in the Z axis and then the XY axes (alignment and rotation). These procedures were applied to the 8 brains generating 8 volumes of images of density that were then averaged. The resulting averaged volume shows blurry images with a large mismatch of spatial localizations (Figure 5ai). We then added the classical linear transformation. Again, the volumes of density were calculated for each mouse and averaged across the group of 8. The resulting images show an improvement of quality although some clear mismatches can still be observed on the contours and small internal structures (Figure 5bi).

Finally, we added to all previous steps the elastic registration on each animal. As previously, we then computed the volumes of density for each mouse and averaged them across the entire group. Results show very a high level of accuracy of the matches between average brains with low levels of value dispersion (higher sharpness of external contours and structure edges) (Figure 5ci). The superposition of the Atlas images on the averaged images of experimental brains indicates high sensitivity matching (Figure 5cii).

To quantify the improvement in matching brought about by our method, we calculated the distances between landmarks positioned in both the Atlas and the experimental brain sections after linear transformation or elastic registration. Indeed, the landmarks distributed throughout the brain are good predictors of the quality of the matching since the vectors field influences their position similarly to that of the labeling. The assessment of the distance between the Atlas and experimental landmarks after transformation and registration was done on all sections of all the mouse brains, leading to a total of 1102 control points. Regarding the elastic registration, the distances between the Atlas and experimental brain landmarks were very short since 75% of the experimental points were at less than 50 μm from the Atlas points (58% at less than 25 μm). The mean distance of all the points was 37 μm (± 55 μm). Regarding the linear transformation, the distances were longer since only 6.6% of the experimental

points were at less than 50 μm from the Atlas points (1.8% at less than 25 μm). The mean distance of all the points is 214 μm (± 147 μm) (Supp Figure 4).

A second way to validate the precision of the registration is to compare our automatic method to the manual procedure (performed by 2 different experimenters using standard manual extraction). More precisely, we analyzed the density of labeled cells present in the dorsal dentate gyrus after either manually outlining the structure on each section or using our automatic matching procedure. Results indicate that manual procedures introduce variability since experimenters 1 and 2 found different levels of cell density while the automated procedure versus experimenter 1 or experimenter 2 was not statistically different (Supp Figure 5).

To illustrate the efficiency of the method, we analyzed the effect of odor stimulation on the activity of the primary olfactory cortex (piriform cortex). More specifically, we compared a first group of mice stimulated with an odorant (cis-3-Hexen-1-ol, 60 μl at 1Pa one hour before sacrifice; $n=4$) to a second, non-stimulated control group. cFos labeling was counted as an index of neural activity, elastic registration was applied to the individual brains and labeling was then averaged per group. We found higher cell density in the odor-stimulated group compared to the control group in the piriform cortex (uncorrected Mann-Whitney test, $p<0.02$) (Figure 6a). The analysis of the auditory cortex, which is of course not directly related to olfactory processing, showed no modulation of activity after odor stimulation (Figure 6b). Statistical tests can also be performed at the level of a single section, structure or substructures and presented in tables (Figure 7). Similar investigations can be performed using threshold difference analysis leading to the same results (Supp Figure 6). It should be noted that while the piriform cortex is a narrow, winding structure located on the border of the section, its anatomical factors increasing the difficulty of matching, we obtained very precise results in terms of spatial localization.

All data (raw data, mean, statistical results...) can be visualized in 3D after the ROIs of the Atlas brain have been meshed (Activis software) (Thevenet and Cheylus, 2003, Martin et al., 2007) (Figure 8).

4. Discussion

Imagery of cell labeling is a valuable tool to explore brain function but low-accuracy, slowness or cost of the available techniques are major hurdles.

Here, we present a method allowing high-accuracy matching of experimental brain sections in a common anatomical space for cellular analysis and inter group comparisons in a streamlined way developed under Matlab with open format files. Using this method will enable optimization of data analysis and lead to reliable reproducibility of the findings in cellular imaging.

Compared to the classical methods of histology analysis, in which the experimenter has to outline the ROIs (a step that is time consuming, often imprecise due to the lack of anatomical landmarks

and subject to large heterogeneity from one experimenter to another) and assess the labeling in the ROIs on each histological section, this method is more reliable and increases productivity. No outlining of ROIs is required here, reducing errors and imprecisions and the regions are identified automatically and quasi instantaneously thanks to the matching to the Atlas. The analysis of labeling present in those regions is automatically and rapidly calculated. Our method is highly flexible since data from any ROI can be analyzed at a later stage without the necessity of going back to the sections and mapping the new structures since supplementary brain regions can be easily and quickly added or refined into the Atlas. This method could be used with species other than mice, for any cellular labeling and with open source mapping software coupled to a microscope.

Several techniques have been developed to match experimental brain sections to an Atlas. The major difference between the other techniques and ours is that they are based on image analysis and not directly on section analysis requiring more processing steps and/or more expensive equipment. For instance, two-photon tomography mapping or imaging with iDISCO (Vousden et al., 2015, Renier et al., 2016) are expensive and thus cannot be used routinely. In other studies, experimental sections were first digitized which transforms labeling into levels of gray, leading to a loss of spatial resolution and the absolute value of labeled cells (Lebenberg et al., 2010). In some other cases, an intermediate step of a blockface method is required to allow registration of histological sections into an Atlas (Dauguet et al., 2007, Lebenberg et al., 2010, Lebenberg et al., 2011, Vandenberghe et al., 2016). The registration of histological sections on the blockface photographs in this method is rigid since it assumes that sectioning does not induce spatial distortions, irregularities (rips, folds, holes...).

Our technique is the first allowing the matching of experimental brain sections and labeling in an Atlas in a streamlined way (i.e. without using different software or toolboxes for each step such as Anatomist, BrainVisa, BrainRat, Clearmap, SPMmouse, Elastix ...). Indeed, after recovery of histological data (contour and labeling of each section), the software we propose allows all the consecutive steps from the registration stages to data analysis (density, number, mean, statistical comparisons...) and visualization (density maps, 3D views...) to be processed automatically and quickly. It is based on the original vectors field algorithm we developed that ensures unprecedented accuracy and reproducibility.

We have shown that the method delivers reliable results with the olfactory system since we observed an increase of labeling (cfos) in the olfactory cortex after olfactory stimulation. The magnitude of this increase was higher after registration compared to classical transformation. In summary, the method we describe here permits the matching of experimental brain sections to an Atlas in a fast, robust and precise manner. We believe that it should be applicable to many questions in Neuroscience.

Acknowledgments

This work was supported by CNRS, Inserm, Lyon 1 University and Fondation Roudnitska.

References

- Bensafi M, Iannilli E, Poncelet J, Seo HS, Gerber J, Rouby C, Hummel T (2012) Dissociated representations of pleasant and unpleasant olfacto-trigeminal mixtures: an fMRI study. *PLoS one* 7:e38358.
- Bensafi M, Sobel N, Khan RM (2007) Hedonic-specific activity in piriform cortex during odor imagery mimics that during odor perception. *Journal of neurophysiology* 98:3254-3262.
- Cattarelli M, Astic L, Kauer JS (1988) Metabolic mapping of 2-deoxyglucose uptake in the rat piriform cortex using computerized image processing. *Brain research* 442:180-184.
- Cruz FC, Koya E, Guez-Barber DH, Bossert JM, Lupica CR, Shaham Y, Hope BT (2013) New technologies for examining the role of neuronal ensembles in drug addiction and fear. *Nature reviews Neuroscience* 14:743-754.
- Dauguet J, Delzescaux T, Conde F, Mangin JF, Ayache N, Hantraye P, Frouin V (2007) Three-dimensional reconstruction of stained histological slices and 3D non-linear registration with in-vivo MRI for whole baboon brain. *Journal of neuroscience methods* 164:191-204.
- Franklin TR, Druhan JP (2000) Expression of Fos-related antigens in the nucleus accumbens and associated regions following exposure to a cocaine-paired environment. *The European journal of neuroscience* 12:2097-2106.
- Gao QH, Yin FF (1999) Two-dimensional direction-based interpolation with local centered moments. *Graph Model Im Proc* 61:323-339.
- Grevera GJ, Udupa JK (1996) Shape-based interpolation of multidimensional grey-level images. *IEEE transactions on medical imaging* 15:881-892.
- Herschman HR (2003) Micro-PET imaging and small animal models of disease. *Current opinion in immunology* 15:378-384.
- Houston GC, Papadakis NG, Carpenter TA, Hall LD, Mukherjee B, James MF, Huang CL (2001) Mapping of brain activation in response to pharmacological agents using fMRI in the rat. *Magnetic resonance imaging* 19:905-919.
- Illig KR, Haberly LB (2003) Odor-evoked activity is spatially distributed in piriform cortex. *The Journal of comparative neurology* 457:361-373.
- Jang BS (2013) MicroSPECT and MicroPET Imaging of Small Animals for Drug Development. *Toxicological research* 29:1-6.
- Kermen F, Midroit M, Kuczewski N, Forest J, Thevenet M, Sacquet J, Benetollo C, Richard M, Didier A, Mandairon N (2016) Topographical representation of odor hedonics in the olfactory bulb. *Nature neuroscience* 19:876-878.
- Kim B, Boes JL, Frey KA, Meyer CR (1997) Mutual information for automated unwarping of rat brain autoradiographs. *NeuroImage* 5:31-40.
- Kopec CD, Bowers AC, Pai S, Brody CD (2011) Semi-automated atlas-based analysis of brain histological sections. *Journal of neuroscience methods* 196:12-19.
- Kornblum HI, Araujo DM, Annala AJ, Tatsukawa KJ, Phelps ME, Cherry SR (2000) In vivo imaging of neuronal activation and plasticity in the rat brain by high resolution positron emission tomography (microPET). *Nature biotechnology* 18:655-660.
- Lebenberg J, Herard AS, Dubois A, Dauguet J, Frouin V, Dhenain M, Hantraye P, Delzescaux T (2010) Validation of MRI-based 3D digital atlas registration with histological and autoradiographic volumes: an anatomofunctional transgenic mouse brain imaging study. *NeuroImage* 51:1037-1046.
- Lebenberg J, Herard AS, Dubois A, Dhenain M, Hantraye P, Delzescaux T (2011) A combination of atlas-based and voxel-wise approaches to analyze metabolic changes in autoradiographic data from Alzheimer's mice. *NeuroImage* 57:1447-1457.
- Lesburgueres E, Gobbo OL, Alaux-Cantin S, Hambucken A, Trifilieff P, Bontempi B (2011) Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory. *Science* 331:924-928.

- Lu H, Chefer S, Kurup PK, Guillem K, Vaupel DB, Ross TJ, Moore A, Yang Y, Peoples LL, Stein EA (2012) fMRI response in the medial prefrontal cortex predicts cocaine but not sucrose self-administration history. *NeuroImage* 62:1857-1866.
- Martin C, Grenier D, Thevenet M, Vigouroux M, Bertrand B, Janier M, Ravel N, Litaudon P (2007) fMRI visualization of transient activations in the rat olfactory bulb using short odor stimulations. *NeuroImage* 36:1288-1293.
- Maviel T, Durkin TP, Menzaghi F, Bontempi B (2004) Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science* 305:96-99.
- Miller CA, Marshall JF (2004) Altered prelimbic cortex output during cue-elicited drug seeking. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 24:6889-6897.
- Miller CA, Marshall JF (2005) Altered Fos expression in neural pathways underlying cue-elicited drug seeking in the rat. *The European journal of neuroscience* 21:1385-1393.
- Okuyama T, Kitamura T, Roy DS, Itohara S, Tonegawa S (2016) Ventral CA1 neurons store social memory. *Science* 353:1536-1541.
- Ourselin S, Roche A, Subsol G, Pennec X, Ayache N (2001) Reconstructing a 3D structure from serial histological sections. *Image Vision Comput* 19:25-31.
- Radulovic J, Kammermeier J, Spiess J (1998) Relationship between fos production and classical fear conditioning: effects of novelty, latent inhibition, and unconditioned stimulus preexposure. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 18:7452-7461.
- Ragan T, Kadiri LR, Venkataraju KU, Bahlmann K, Sutin J, Taranda J, Arganda-Carreras I, Kim Y, Seung HS, Osten P (2012) Serial two-photon tomography for automated ex vivo mouse brain imaging. *Nature methods* 9:255-258.
- Redondo RL, Kim J, Arons AL, Ramirez S, Liu X, Tonegawa S (2014) Bidirectional switch of the valence associated with a hippocampal contextual memory engram. *Nature* 513:426-430.
- Renier N, Adams EL, Kirst C, Wu Z, Azevedo R, Kohl J, Autry AE, Kadiri L, Umadevi Venkataraju K, Zhou Y, Wang VX, Tang CY, Olsen O, Dulac C, Osten P, Tessier-Lavigne M (2016) Mapping of Brain Activity by Automated Volume Analysis of Immediate Early Genes. *Cell* 165:1789-1802.
- Rennaker RL, Chen CF, Ruyle AM, Sloan AM, Wilson DA (2007) Spatial and temporal distribution of odorant-evoked activity in the piriform cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 27:1534-1542.
- Rueckert D, Sonoda LI, Hayes C, Hill DL, Leach MO, Hawkes DJ (1999) Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. *IEEE transactions on medical imaging* 18:712-721.
- Savic I, Gulyas B, Berglund H (2002) Odorant differentiated pattern of cerebral activation: comparison of acetone and vanillin. *Human brain mapping* 17:17-27.
- Stettler DD, Axel R (2009) Representations of odor in the piriform cortex. *Neuron* 63:854-864.
- Thevenet M, Cheylus A (2003) Le logiciel ACTIVIS. *Traitement et analyse d'images médicales 3D. Santé et Systémique* 191-199.
- Tsurugizawa T, Uematsu A, Uneyama H, Torii K (2011) Different BOLD responses to intragastric load of L-glutamate and inosine monophosphate in conscious rats. *Chemical senses* 36:169-176.
- Vandenberghe ME, Herard AS, Souedet N, Sadouni E, Santin MD, Briet D, Carre D, Schulz J, Hantraye P, Chabrier PE, Rooney T, Debeir T, Blanchard V, Pradier L, Dhenain M, Delzescaux T (2016) High-throughput 3D whole-brain quantitative histopathology in rodents. *Scientific reports* 6:20958.
- Vousden DA, Epp J, Okuno H, Nieman BJ, van Eede M, Dazai J, Ragan T, Bito H, Frankland PW, Lerch JP, Henkelman RM (2015) Whole-brain mapping of behaviourally induced neural activation in mice. *Brain structure & function* 220:2043-2057.
- Wu KN, Tan BK, Howard JD, Conley DB, Gottfried JA (2012) Olfactory input is critical for sustaining odor quality codes in human orbitofrontal cortex. *Nature neuroscience* 15:1313-1319.
- Zimmer ER, Parent MJ, Cuello AC, Gauthier S, Rosa-Neto P (2014) MicroPET imaging and transgenic models: a blueprint for Alzheimer's disease clinical research. *Trends in neurosciences* 37:629-641.

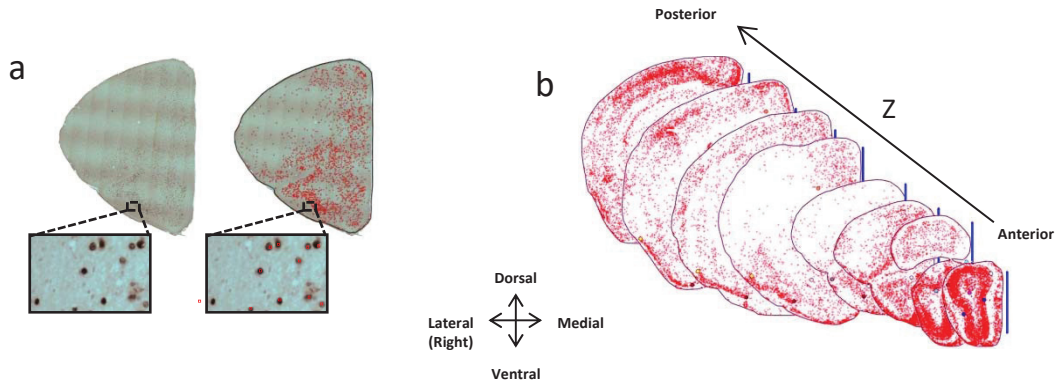


Figure 1. Histological sections of experimental brains

a. Example of an histological section (interaural coordinate: 6.12 mm) extracted from an experimental brain after immunohistochemistry of cFos. cFos-positive cells are revealed in black (left) and can be automatically detected by a mapping software coupled to a microscope (right). **b.** Rotation and translation of the histological sections and cell labeling using the interhemispheric fissure as the common axis (blue line).

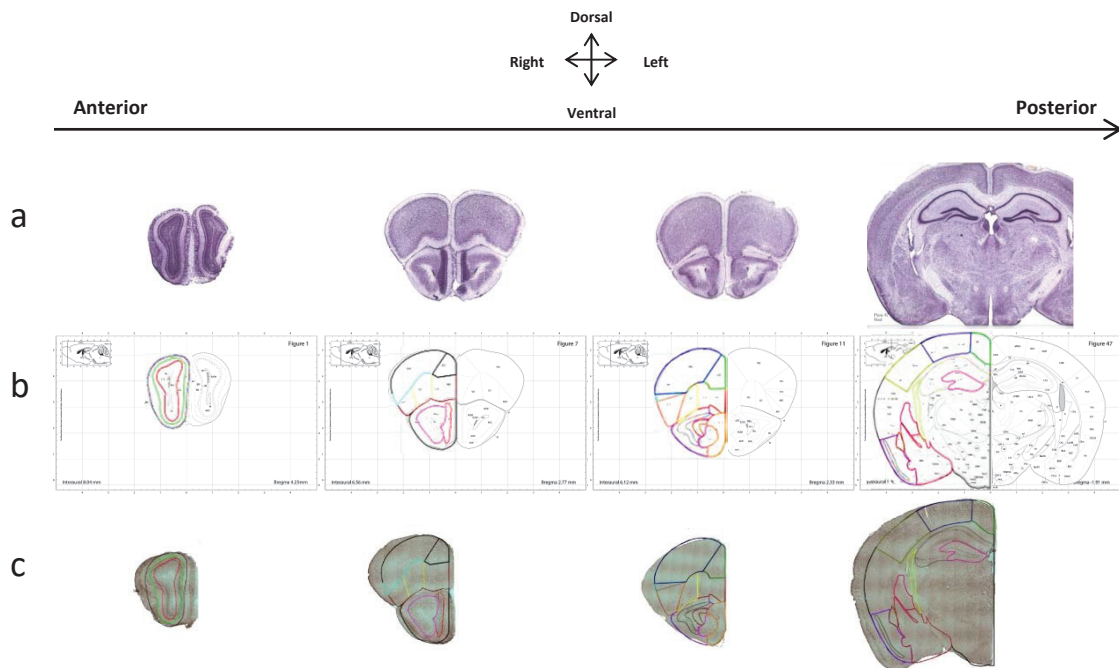


Figure 2. Paxinos Atlas as a common anatomical space

a. Example of histological sections extracted from the Paxinos Atlas. From left to right, the interaural coordinates are 8.04; 6.56; 6.12; 1.88 mm. **b.** Example of the corresponding plates of the digitized Atlas in which the different brain structures are delimited **c.** Plates of the digitized Atlas have been superposed onto histological sections after isotropic 2D rescaling. We can notice that due to the inter individual variability, the plates do not match the sections.

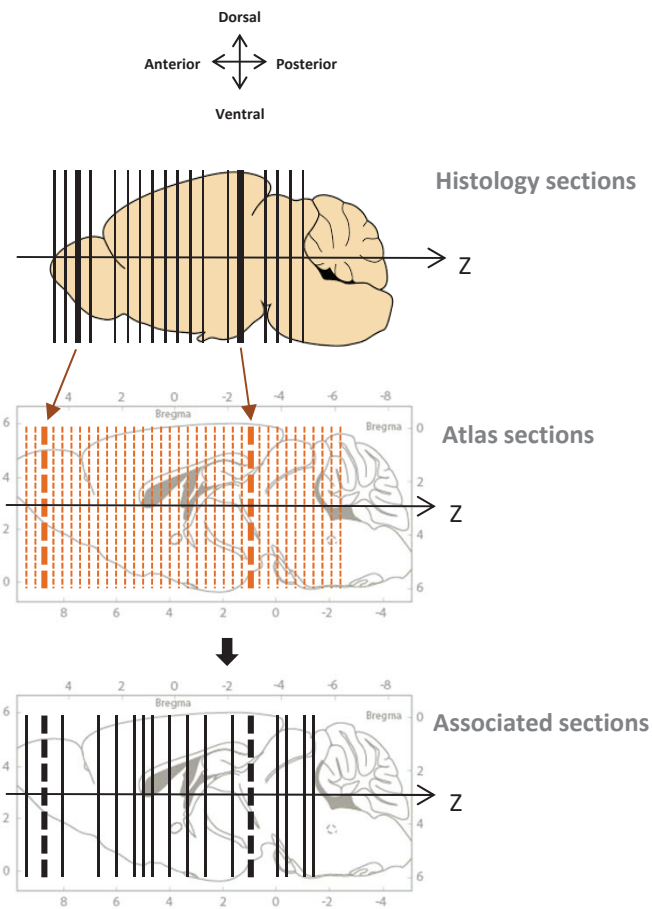


Figure 3. Alignment of an experimental brain to the Paxinos Atlas

(Up) Alignment of the histological sections along the antero-posterior axis (Z). (Middle) At least two histological sections are visually associated to the two closest corresponding sections of the Paxinos Atlas. (Down) The other sections are automatically associated to the Atlas sections thanks to a linear transformation (interpolation for the sections inside and extrapolation for the sections outside the interval depicted by the 2 reference sections).

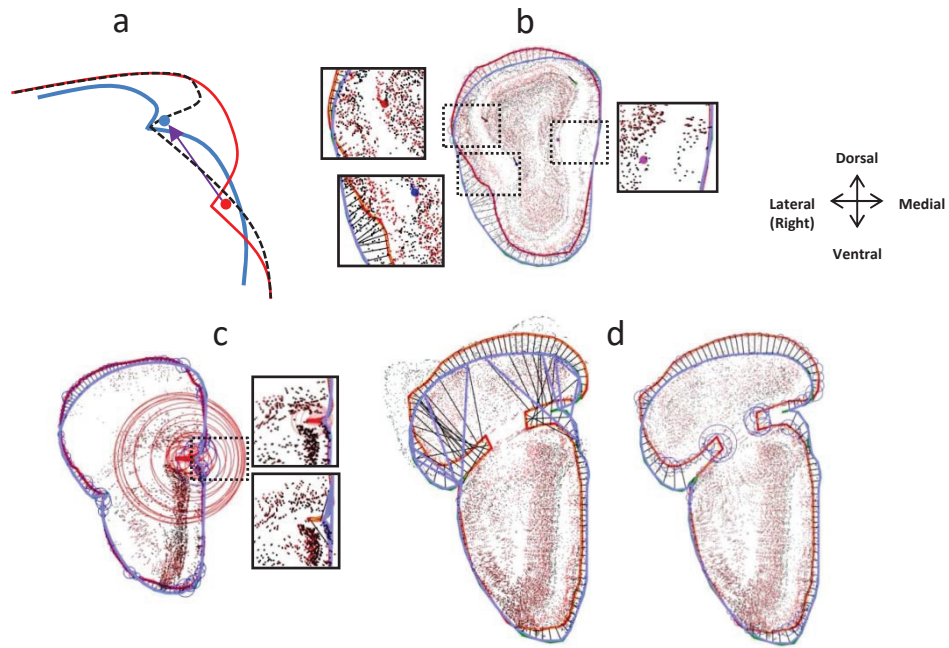


Figure 4. Elastic registration

a. Schematic representation of local elastic deformation (purple arrow for the vector and dash black line for the result) performed by the association of the landmarks (red spot) present on the histological section (red line) and landmarks (blue spot) present on the Atlas (blue line). **b.** Elastic registration by vector field (black lines) is computed based on the external histological contours (red lines) and Atlas contours (blue lines) and applied to the labelling (red spot). If landmarks are present (visualized as colored spots onto specific anatomical evidences), associated vectors are added to the vector field. This registration allows a precise positioning of the experimental labelling into the Atlas (black spots correspond to labelling after registration). Each labelled cell is submitted to the vector field and its shifting depends on its distance to the vectors. To improve registration, several algorithms have been added: **c.** To restore the negentropy in the vector field, the contours presenting strong curvature can be iteratively eliminated (i.e. the curvature can be visualized with the diameter of the circle which is red when too strong and blue when acceptable). **d.** To suppress some vectors that are aberrant due to a too large distance between histological outline and the Atlas outline.

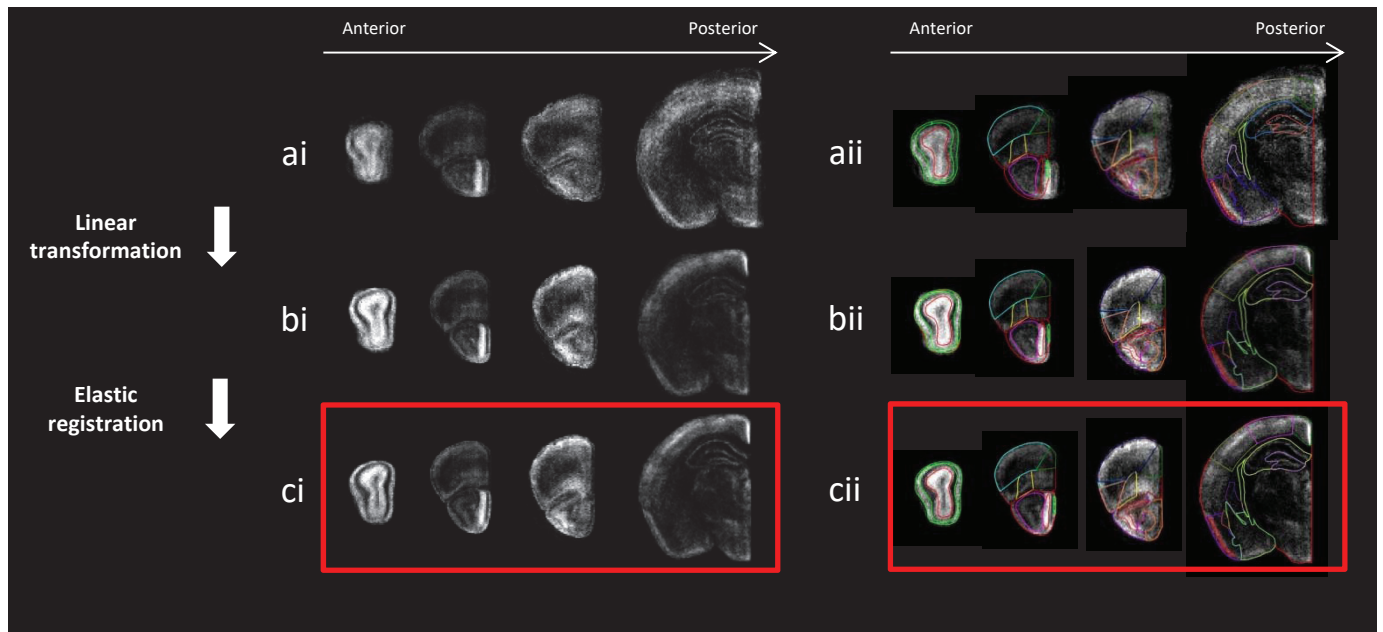


Figure 5. Accuracy of Elastic registration: Validation in mice

ai. Images generated after realignment (translation and rotation; see Figure 2). **aii.** Same image with the superposed Atlas, a low level of accuracy of the superposition is observed. **bi.** Images after linear transformation (homothetic transformations classically used). **bii.** Same images with superposed Atlas, a better level of superposition is observed. **ci.** Images after elastic registration. **cii.** Same image with superposed Atlas, a high level of accuracy of the superposition with the Atlas is observed identifiable with the sharpness of the images especially at the level of the contours and small regions. (interaural coordinates of the images: 8.28, 6.60, 6.12 et 1.80).

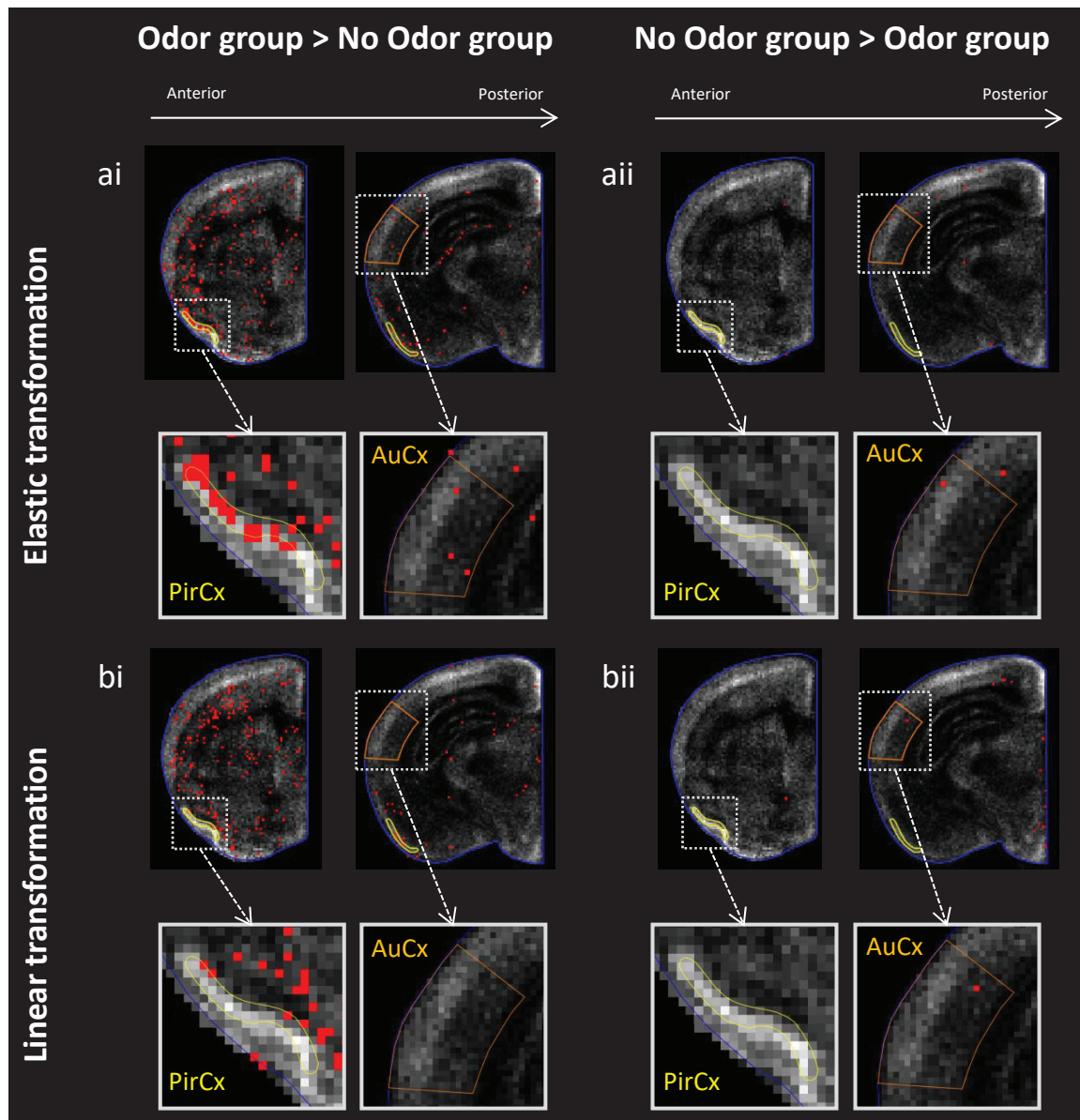


Figure 6. Elastic registration versus linear transformation: Uncorrected Mann-Whitney analysis

a. Uncorrected Mann-Whitney analysis of density labelling images after elastic registration. The images of density are processed as fMRI images. **ai.** Unilateral uncorrected Mann-Whitney ($p < 0.02$) is performed after elastic registration to compare mice stimulated with an odorant ($n=4$) to non stimulated mice ($n=4$). Voxels with cell density significantly higher in the odor condition are represented with red spots. As expected, odor stimulation induces a significant increase of cFos labelling in an olfactory structure which is known to be activated by an odorant such as the piriform cortex (PirCx, interaural coordinate: 4.26; left) and has no effect on the auditory cortex (AuCx, interaural coordinate: 1.08; right). **aii.** Red spots represent here a significantly ($p < 0.02$) higher level of cell density in the non odor stimulated group compared to the odor stimulated animals. None or very few red spots are observed in this condition. **b.** Same uncorrected Mann-Whitney analysis has been performed on the same animals after classical linear transformation. **bi.** The lower precision of the transformation induces a lower accuracy of the position of the labelling in the piriform cortex and thus the difference between the two conditions is less evident (lower level of red spot). **bii.** Reverse comparison (non odor > odor condition).

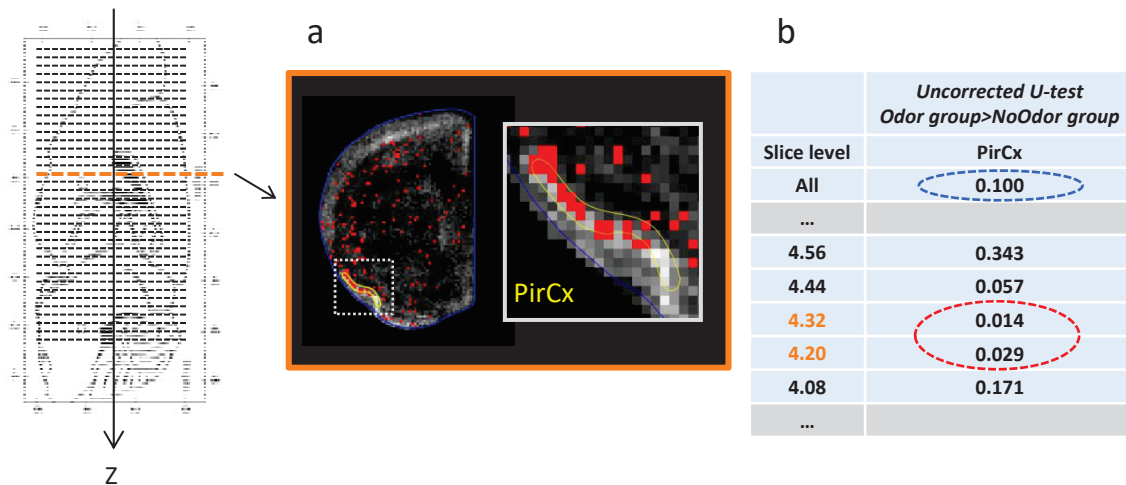


Figure 7. Associated software.

Developed software allows automatic assessment of labelling quantity for all brains with high accuracy of labelling position in a structure without outlining it. **a.** Images of labelling density (interaural coordinate 4.26) with superposed uncorrected Mann-Whitney test results (red spot: $p < 0.02$ for Odor>No odor condition; ; $n=4$ per group) are presented. **b.** Table showing the exact values of uncorrected Mann-Whitney test in the entire piriform cortex (first line: All) or at the chosen antero-posterior section level (from 4.08 to 4.56).

Our software allows 3D analysis of the brain and thus reveals differences of labelling in sub-structures (red dot) which are not observed when taking into account the entire structure for example (blue dot).

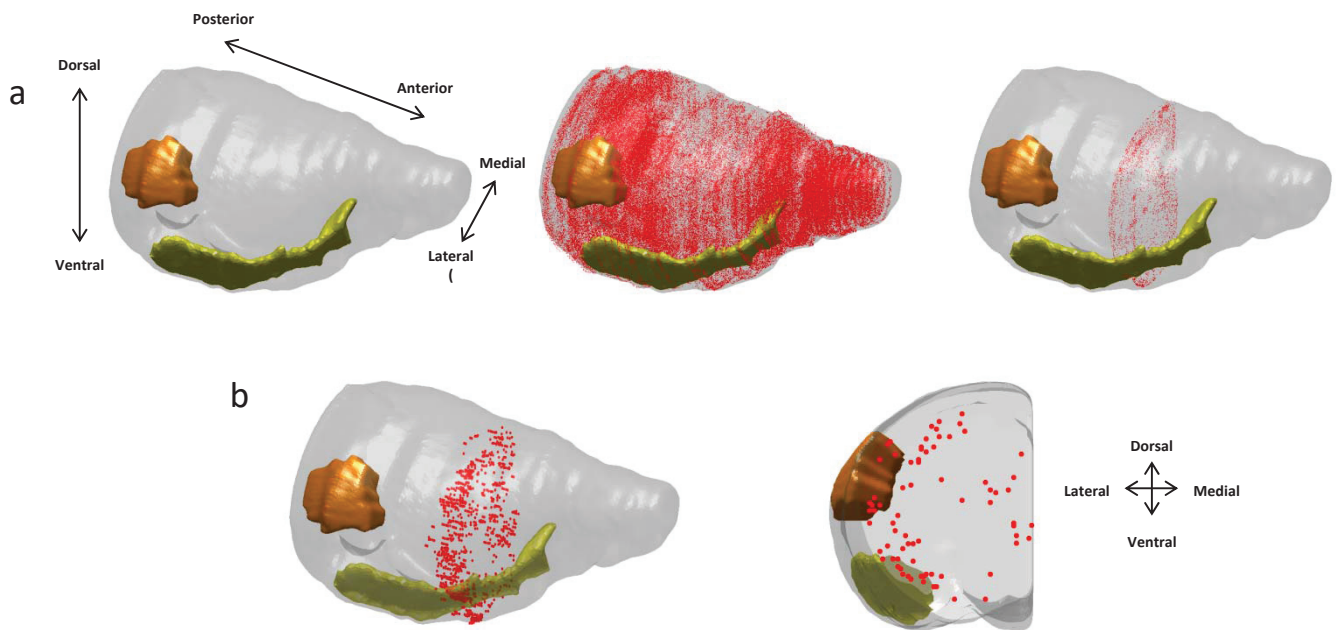
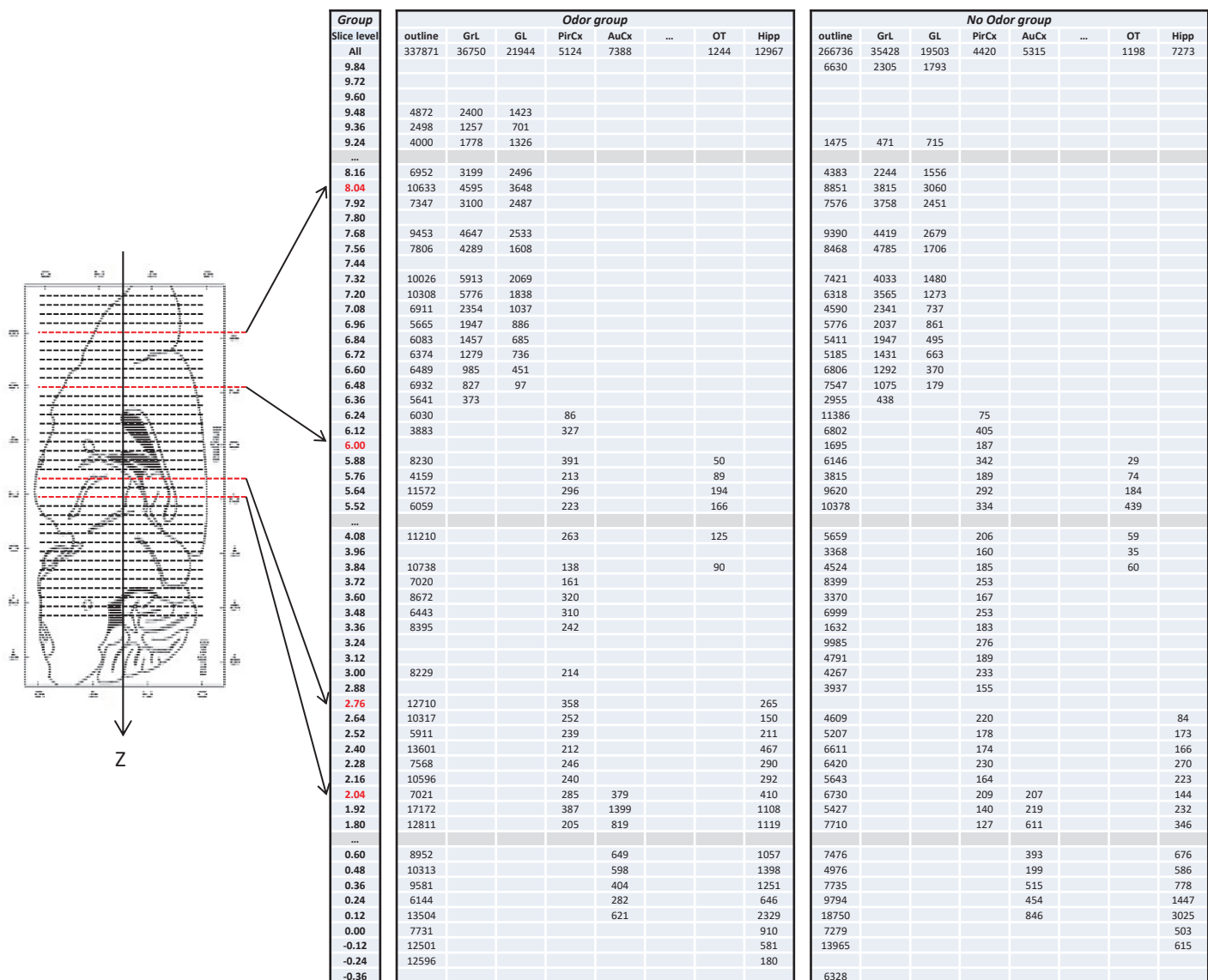


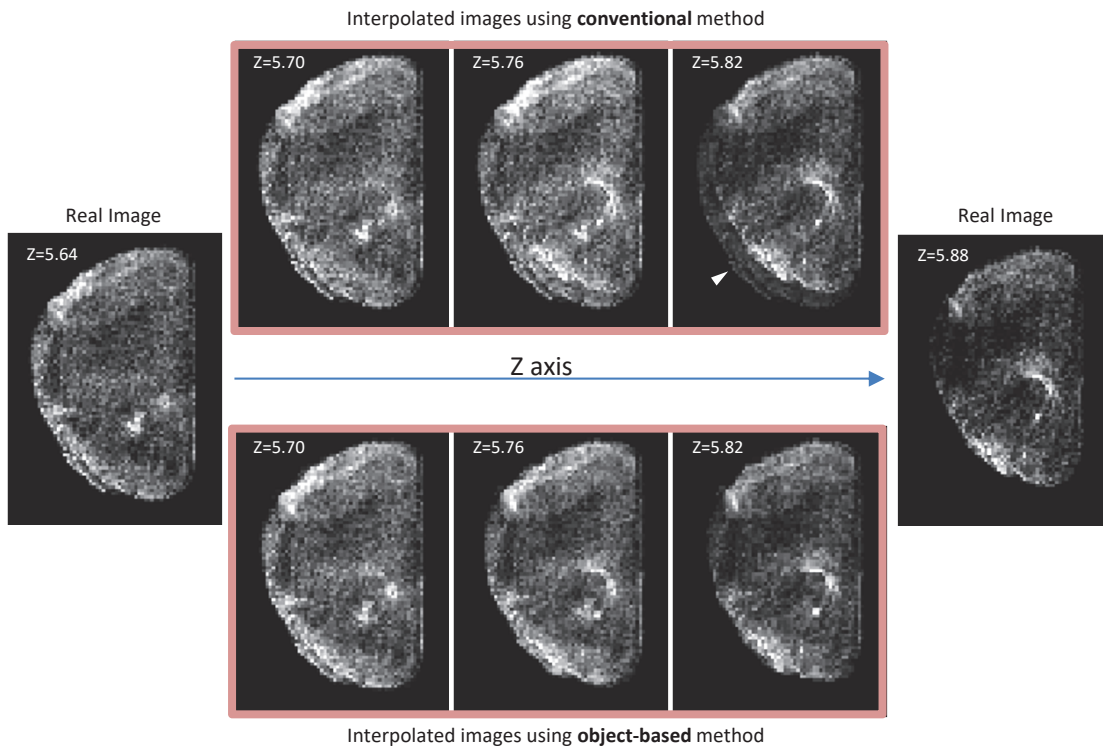
Figure 8. 3D Visualization after Elastic registration

a. (Left) 3D mesh of the brain Atlas (grey) and ROIs (yellow: Piriform Cortex, orange: Auditory Cortex). (Middle) Visualization of the labelling (cFos in response to odor stimulation) for one mouse after Elastic. (Right) Example of one single registered section with its labelling (coordinate: 4,32). **b.** (Left) 3D visualization of the statistical results after inter-group comparison on 13 sections (unilateral t-test (Odor > No Odor condition, n=4 mice/group, red spot $p < 0.01$, the size of the spots has been extended for a better visualization). (Right) Same for 1 section (interaural coordinate : 4.32, as previously shown in Fig.8ai) after clipping the anterior part of the 3D mesh of the brain.



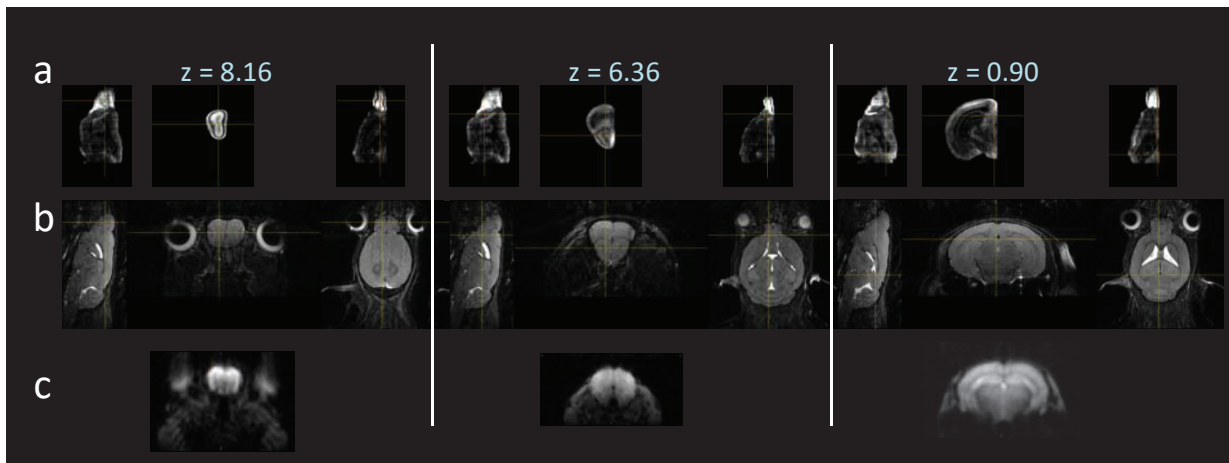
Supp Figure 1. Data extracted directly after elastic registration.

The elastic registration performed for each brain avoids the time consuming of outlining each cerebral region and guaranties a higher precision of the structure borders. Our software provides automatically and instantaneously the number and the density of labelled cells in each cerebral region of interest present and outlined in the Paxinos Atlas. It is possible to get the mean quantity of labeling in the entire structure or for each coordinate in which the structure is present. The software integrates descriptive analysis and complementary statistics to manipulate easily the data. In this figure, the averaged density of cFos-positive cells has been extracted from different brain structures (GrL and GL: glomerular and granule cell layers of the olfactory bulb respectively; PirCx: piriform cortex; AuCx: auditory cortex; OT: olfactory tubercle; Hipp: hippocampus; outline: external contour) after odor stimulation (n=4 mice; left table) and in no-odor stimulated mice (n=4; right table). The lines represent the different interaural coordinates.



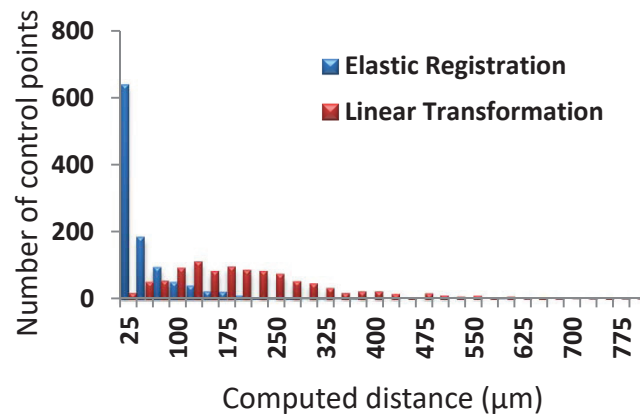
Supp Figure 2. Method used for the interpolation of density images.

Example of the interpolation of 3 images ($Z=5.70, 5.76, 5.82$) between 2 real (non interpolated) images ($Z=5.64$ and 5.88). Comparison of a conventional method (direct linear interpolation of missing sections) and an object-based method (taking into account the external Atlas contour as a bounding box on each section). The second method allows to estimate both the value and position of the missing voxel which leads to avoid blurred and ghost images (e.g. white arrow head) and preserves the anatomical structure coherency.



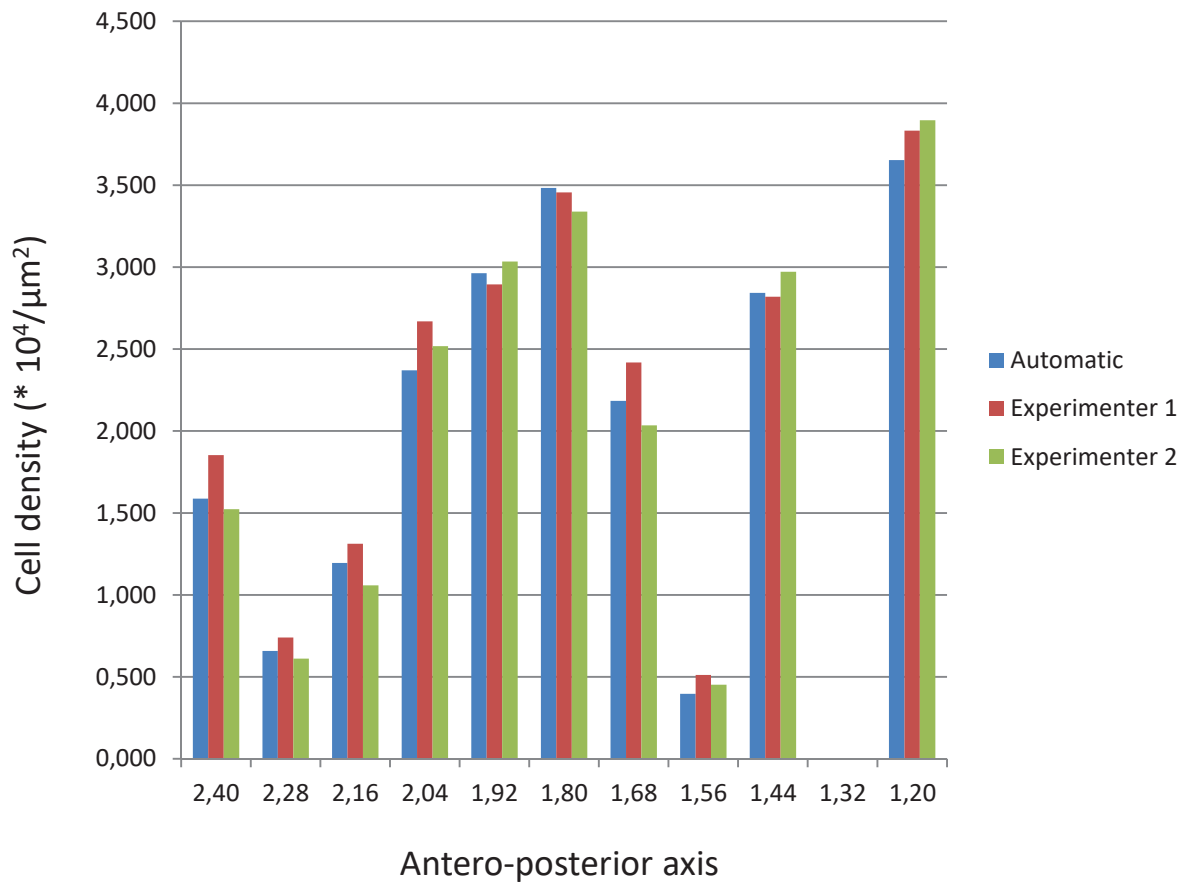
Supp Figure 3. Generation of images of density with high resolution

a. After elastic registration and discretization of the 3D space in isotropic voxels ($60\ \mu\text{m}$), the images of labelling density ($150 \times 150 \times 204$ voxels) are generated for each brain and then averaged between animals ($n=8$) (coordinates of the images from left to right: 8.16; 6.36; 0.90 and respectively from left to right on sagittal, coronal and horizontal views). **b.** aMRI images at similar coordinates of a C57BL6J mouse brain ($128 \times 128 \times 256$ isotropic voxels of $78\ \mu\text{m}$) showing equivalent spatial resolution. **c.** fMRI (EPI) images at similar coordinates of a C57BL6J mouse brain (80×40 isotropic pixels of $250\ \mu\text{m}$ in the plan) showing lower spatial resolution.



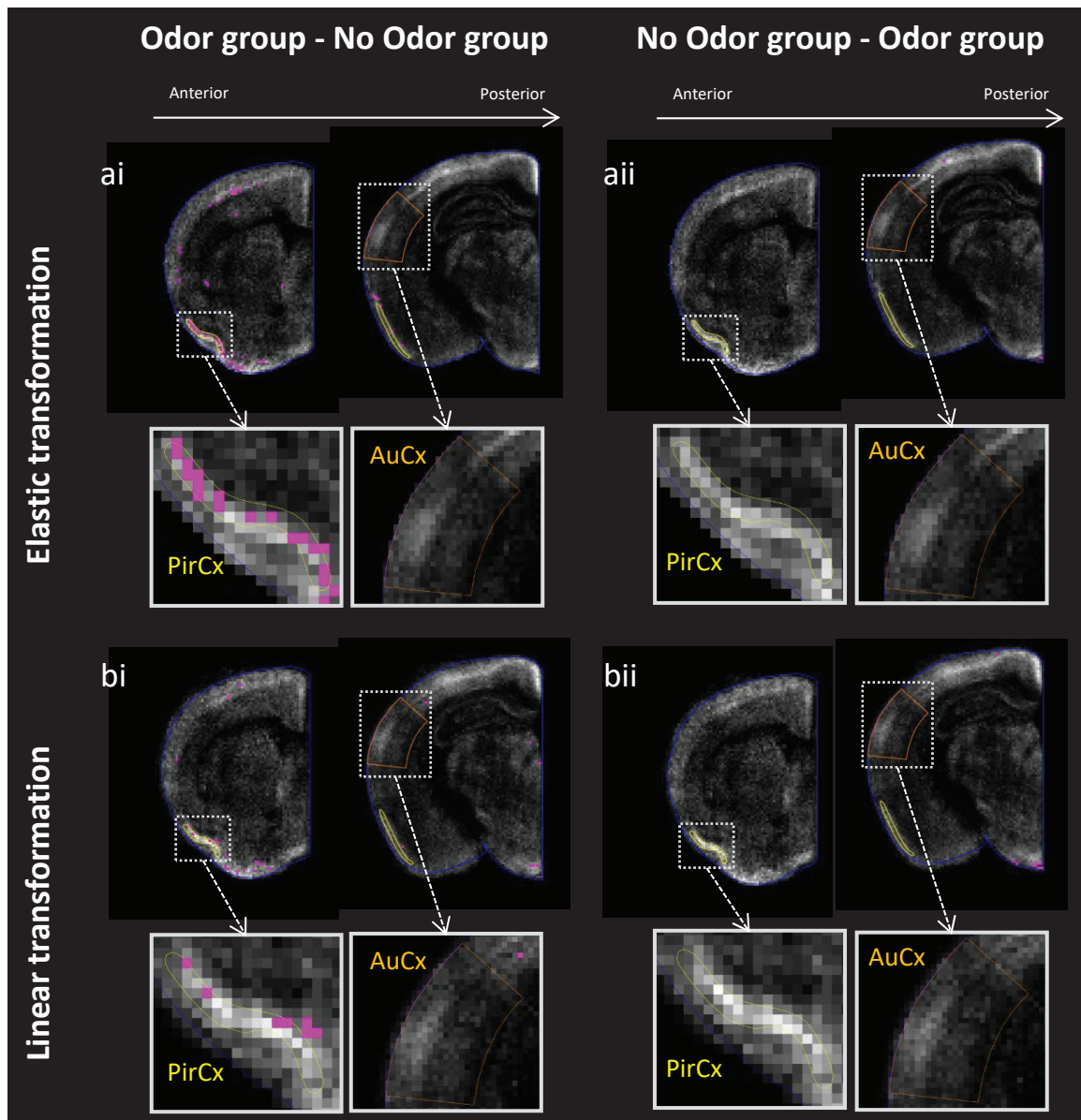
Supp Figure 4. Accuracy of Elastic registration: Quantitative validation

Histogram showing the computed distance between the position of a landmark in the Atlas and the position of the same landmark in the experimental brains after elastic registration (blue) or linear transformation (red). This computed distance is performed on all the sections of the 8 mice leading to 1102 control points. Regarding the elastic registration, this distance is very short since 75% of the experimental points are at less than 50 μm of the Atlas points. Regarding the linear transformation, this distance is longer since only 6.6% of the experimental points are at less than 50 μm of the Atlas points.



Supp Figure 5. Comparison between manual and automatic procedures.

Dorsal gyrus dentate (3-5 sections per animal from 1.2 to 2.4 interaural coordinate; n=6) has been automatically and manually (by 2 experimenters) delineated. Cell density has been calculated in each condition and compared using non parametric paired Wilcoxon test (Experimenter 1 versus 2: $p=0.015$; Experimenter 1 versus automatic procedure and Experimenter 2 versus automatic procedure: $p>0.05$).



Supp Figure 6. Elastic registration versus linear transformation: threshold difference analysis

a. An arbitrary threshold of 5 has been applied on positive differences between brains of mice submitted to elastic registration and stimulated with odorant ($n=4$) and not stimulated ($n=4$). Pink voxels represent a difference of labelling equal or superior to 5 between the 2 conditions. **ai.** As expected, a higher number of pixel is retrieved in the piriform cortex (interaural coordinate: 4.32; left) after odor stimulation compared to non stimulated animals which is not the case in the auditory cortex (interaural coordinate: 1.50; right). **aii.** Pink voxels represent a higher density of labelling in non stimulated compared to stimulated mice. **b.** Similar analysis after linear transformation. **bi.** Weaker effect of odor stimulation is observed after linear compared to elastic registration due to a less precise match between experimental brain and the Atlas. **bii.** Reverse comparison.

Highlights

A vectors field method for matching experimental brain sections in a reference atlas

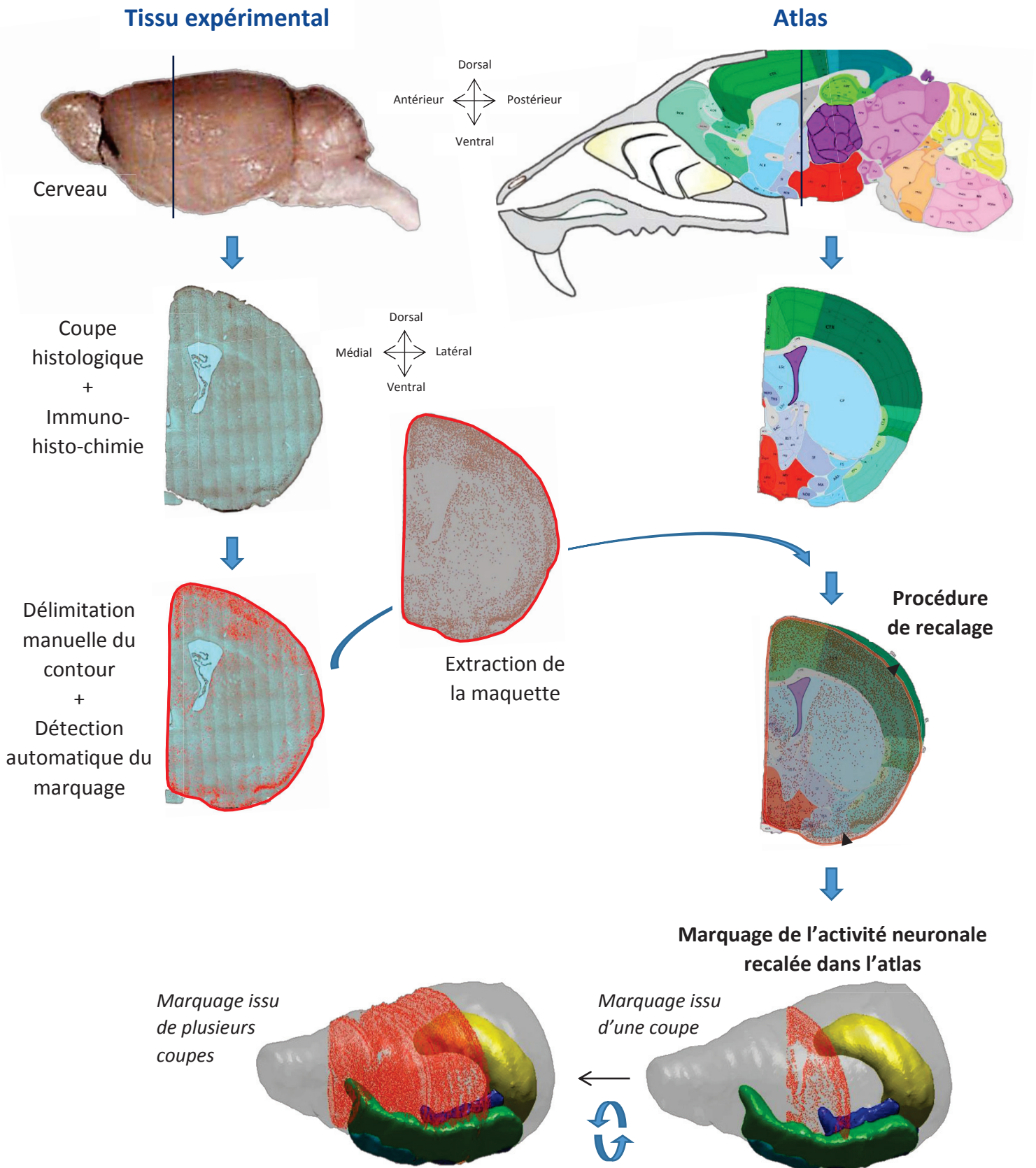
A precise, fast and unbiased method to analyze automatically regions of interest

Registration does not require any intermediate manipulation of images

Method applicable to any species and adapted for all cellular labeling

Method requiring equipment routinely used in laboratories and free software

Résumé étude 2



Résumé étude 2. Développement d'une procédure de recalage de l'activité neuronale issue de coupes histologiques dans un atlas commun de référence (Paxinos). Cette technique permet d'obtenir rapidement l'activité neuronale dans n'importe quelle structure de l'atlas souhaitée, sans besoin de délimiter la région au préalable. D'autre part l'utilisation d'un même référentiel (atlas) permet de comparer de manière fiable l'activité neuronale de plusieurs groupes d'animaux.

ETUDE 3 : Et au-delà du BO ? Elucider les circuits neuronaux qui soutiennent le traitement de la valeur hédonique des odeurs et qui supportent l'attraction qu'elles induisent

Midroit M, Chalençon L. The reward system drives spontaneous attraction to non-biological odorants (en préparation)

The reward system drives spontaneous attraction to non-biological odorants

Maëllie Midroit^{1*}, Laura Chalençon^{1*}, Marc Thevenet¹, Joëlle Sacquet¹, Jérémy Forest¹, Marion Richard¹, Adriana Milton², Anne Didier¹, Daniel W Wesson^{2#}, Nathalie Mandairon^{1#}

¹CNRS, UMR 5292; INSERM, U1028; Lyon Neuroscience Research Center, Neuroplasticity and neuropathology of olfactory perception Team, Lyon, F-69000, France; University Lyon, F-69000, France; University Lyon1, Villeurbanne, F-69000, France;

²Department of Pharmacology & Therapeutics, University of Florida, 1200 Newell Dr. Gainesville, FL, 32610. U.S.A.

Corresponding author:

Nathalie Mandairon
Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon
UMR CNRS 5292 INSERM 1028 Université Lyon1
50 Avenue Tony Garnier
F-69007 LYON, FRANCE
Tel: 00 33 437 287 499
Fax: 00 33 437 287 602
e-mail: nathalie.mandairon@cnrs.fr

Keywords: hedonics, attraction, olfaction, olfactory tubercle, reward system, optogenetics, cellular mapping.

Abstract

Hedonic tone has long been recognized as a salient feature of *odors*, *controlling* approach or avoidance behaviors to ensure survival. Odor hedonic is represented in the olfactory bulb, the first cerebral relay of olfactory processing. However, how this hedonic representation is transferred to higher structures to drive behavior is unclear. Here, we report that contrary to other secondary olfactory structures, the olfactory tubercle shows differential responses to odor depending on its spontaneous hedonic value. Since the olfactory tubercle is part of the reward system, we further analyzed neural activity of the ventral tegmental area, nucleus accumbens, ventral pallidum and orbitofrontal cortex, and revealed odor-evoked responses modulated by hedonics. In addition, odorants with positive but not negative hedonic values induce place preference and optogenetic-driven neural activity of the olfactory bulb triggered self-stimulation. Our data support the view that activation of the reward system contributes to odor attractiveness.

Highlights

- Olfactory tubercle encodes positive intrinsic hedonic value of odorants.
- The reward circuit is modulated by the intrinsic hedonic value of odorants.
- Pleasant odorants induce place preference that requires dopamine signaling.
- The bulbar network is a site for self-stimulation.

eTOC Blurb

In brief, Midroit et al show that olfactory tubercle encodes the intrinsic positive hedonic value of non-biological odorants. They further demonstrate that odors pleasant *per se* can act as a reward and motivate approach by the recruitment of the reward system.

INTRODUCTION

Among the different aspects of olfactory perception such as identity, intensity or familiarity, the hedonic value (or pleasantness), “I like or I dislike this smell” is the dominant one. It is the first criterion used by humans to describe and categorized odorants (Schiffman, 1974; Richardson & Zucco, 1989; Dubois & Rouby, 2002; Yeshurun & Sobel, 2010) and represents a valuable source of information for decision-making and behavioral guidance. In all species including humans, the hedonic value of odors is a critical driving force for food intake, social interactions and danger avoidance (e.g (Ackerl *et al.*, 2002; Prehn *et al.*, 2006; Rouby *et al.*, 2009; Li & Liberles, 2015; Wisman & Shrira, 2015). Because we are tempted to approach what we like and avoid what we dislike, attraction has been strongly linked to the hedonic value and is used as a reliable indicator of hedonic tone both in human (Bensafi *et al.*, 2003) and animals (e.g (Sullivan & Wilson, 1991; Kobayakawa *et al.*, 2007; Mandairon *et al.*, 2009a; Devore *et al.*, 2013; Laricchiuta & Petrosini, 2014; Root *et al.*, 2014; Wernecke & Fendt, 2015; Kermen *et al.*, 2016; Perry *et al.*, 2016).

Approach or avoidance relies on motivation to act (Laricchiuta & Petrosini, 2014), and odors motivate animals’ behavior when biologically meaningful (e.g. attraction toward socio-sexual signals or food odor and avoidance of predator odor, (Li & Liberles, 2015) or after associative learning which odors acquired a motivational value linked to the reward they predict (Fillion & Blass, 1986; Sullivan *et al.*, 1990; Sullivan & Wilson, 1991; 1993; Schoenbaum *et al.*, 1999; Moriceau & Sullivan, 2004; Moriceau *et al.*, 2006; Sevelinges *et al.*, 2007; Wilson & Sullivan, 2011; Gadziola *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015; Sadrian & Wilson, 2015; Xia *et al.*, 2015; Perry *et al.*, 2016). In both cases, odors act as cues predicting an appetitive (food, water, mates...) or an aversive outcome (predators, electric shock...), and acquire an incentive value used to motivate appropriate approach or avoidance behaviors.

Discovered by Olds and Milner in 1954, the reward system sets incentive salience and governs motivated behaviors (e.g (Robbins & Everitt, 1996; Ikemoto, 2007; Berridge & Kringelbach, 2015; Schultz, 2015). It is represented by structures belonging to the mesocorticolimbic network that includes the dopaminergic projections from the midbrain (ventral tegmental area, VTA) to the prefrontal cortex (mesocortical pathway) and to the ventral striatum (mesolimbic pathway) (Haber, 2011). These structures are involved in associative, learned odor-guided behavior (Schoenbaum *et al.*, 2003; Roesch *et al.*, 2009; Cohen *et al.*, 2012; Bissonette *et al.*, 2013; Gadziola *et al.*, 2015; Bakhurin *et al.*, 2016; Menegas *et al.*, 2017) and in motivated behaviors driven by biological odors (Moncho-Bogani *et al.*, 2005; Martinez-Ricos *et al.*, 2007; Agustin-Pavon *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2014; Fitzgerald *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2015).

While hedonic tone and motivational value of odorants can be acquired by learning, some unexperienced odorants without particular biological significance are spontaneously attractive or aversive (Khan *et al.*, 2007; Kobayakawa *et al.*, 2007; Lowry & Kay, 2007; Mandairon *et al.*, 2009a;

Devore *et al.*, 2013; Root *et al.*, 2014). This suggests that odors themselves carry an intrinsic hedonic value driving attraction and that a predetermined neural network supports this spontaneous behavior. In accordance with this view, we recently showed that innate (intrinsic) odor hedonics is encoded by spatial patterns of activity as early as the main olfactory bulb (OB) – the first level for processing odor information (Kermen *et al.*, 2016), with involvement of the ventro-posterior OB in modulating odorant attractiveness.

Olfactory information from the OB is directly sent to secondary olfactory structures (Cleland & Linster, 2003; Mainland *et al.*, 2014), which are strongly interconnected with neocortical, associative and limbic brain areas (Luskin & Price, 1982; Majak *et al.*, 2004). Studies in humans revealed that various brain regions respond to the hedonic aspect of the olfactory perception, including the orbitofrontal cortex, the cingulate cortex, the insula, the prefrontal cortex, the piriform cortex, the ventral tegmental area and the amygdala (Zald & Pardo, 1997; Gottfried *et al.*, 2002; Anderson *et al.*, 2003; Rolls *et al.*, 2003; Royet *et al.*, 2003; Gottfried & Zald, 2005; Winston *et al.*, 2005; Bensafi *et al.*, 2007; Grabenhorst *et al.*, 2007; Howard *et al.*, 2009; Bensafi *et al.*, 2012; Caous, 2015; Zou *et al.*, 2016).

Among the direct target of the OB, the olfactory tubercle (OT) is a particular region given its dual affiliation to the olfactory system and the reward system. Indeed, the OT is anatomically bridged to the nucleus accumbens (NAc), forming with it the ventral striatum (Millhouse & Heimer, 1984; Wesson & Wilson, 2011). As a component of the ventral striatum, the OT is closely linked to reward-related cerebral areas (Heimer, 2003; Ikemoto, 2007; Wesson & Wilson, 2011), and has thus been intensely studied for its role in motivated behaviors (Hitt *et al.*, 1973; Ikemoto, 2003; Ikemoto *et al.*, 2005; Chiang & Strowbridge, 2007; Ikemoto, 2007; Wesson & Wilson, 2010; Varga & Wesson, 2013; Agustin-Pavon *et al.*, 2014; Carlson *et al.*, 2014; Striano *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2015; Wieland *et al.*, 2015; Gadziola & Wesson, 2016). The role of the OT in olfactory processing has received relatively little attention but it has been implicated in coding odor hedonics and odor-driven behavior in the context of associative learning (Wesson & Wilson, 2011; Gadziola *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015). By sitting at the interface between the olfactory and the reward systems, the OT is ideally positioned to translate olfactory information into motivated behavior. We thus hypothesized first that innate (intrinsic) odor hedonics would be coded in the OT that represents an open gate for olfactory information to reach the reward system which would in turn integrate it and convert innate positive odor hedonics into motivated approach behavior. Second, we hypothesized that if the OB transmits a hedonic signature to the reward system, direct activation of the OB should mobilize the reward system.

Since human studies cannot be freed from the olfactory autobiographical past, specific to each participant, that strongly tuned olfactory preferences, we turned to the mouse model to test our hypothesis. Using cellular imagery of c-Fos expression registered in a reference atlas, we have first studied the intrinsic odor hedonic responsiveness of secondary olfactory structures (the anterior

olfactory nucleus (AON), the anterior and posterior piriform cortex (aPirCx and pPirCx), the olfactory tubercle (OT), the entorhinal cortex (EntCx) and the postero-lateral cortical amygdala (PICOA)) and of the reward system (the nucleus accumbens shell (NAcShell), the ventral pallidum (VP), the posterior ventral tegmental area (pVTA) and the antero-medial orbitofrontal cortex (amOFC)). Then, by a combination of approaches including behavioral testing, pharmacology, single-unit recordings and optogenetic in freely moving mice, we have tested the implication of the reward system in the attractiveness of non-biological odors.

Results indicate that, in contrast to other secondary olfactory structures, the OT responds to odorants as a function of their hedonic tone. In addition, odorants with positive intrinsic hedonic value induces conditioned place preference and finally, optogenetically-driven activation of the olfactory bulb supports operant conditioning (self-stimulation).

RESULTS

The OT responds specifically to intrinsic hedonic value of non-biological odorants.

Our first goal was to identify how the bulbar neural signature of hedonics (Kermen *et al.*, 2016) was transferred to secondary olfactory structures.

We thus recorded the duration of mice nose-poking for a panel of odorants chosen to be unfamiliar and with no particular biological significance in the one-hole board apparatus (Mandairon *et al.*, 2009a; Mandairon *et al.*, 2009b; Kermen *et al.*, 2016). Three odorants known to be spontaneously pleasant (Camphor: Cam; Citronellol: Citro; +Limonene: Lim) and three spontaneously unpleasant (pCresol: Cre; Guaicol: Gua and Pyridine: Pyr) based on previous literature, were selected (Kermen *et al.*, 2016). As expected, odor investigation time differed between odorants with a significantly higher investigation time for Cam, Citro and Lim and a lower for Cre, Gua and Pyr compared to the no odor condition (mineral oil) (Figure 1). Odor investigation time reflects odor attractiveness (Kobayakawa *et al.*, 2007; Kermen *et al.*, 2016). However, unpleasant odorants always elicit at least a small investigation by animals (Kobayakawa *et al.*, 2007; Mandairon *et al.*, 2009a; Devore *et al.*, 2013; Root *et al.*, 2014; Kermen *et al.*, 2016), likely due to curiosity driving novelty exploration (Berlyne, 1950; Welker, 1957; Berlyne, 1960).

The expression of c-Fos in the brain allows mapping neural activity (Frankland *et al.*, 2004; Maviel *et al.*, 2004; Cruz *et al.*, 2013; Redondo *et al.*, 2014; Okuyama *et al.*, 2016; Renier *et al.*, 2016) (Figure S1). c-Fos-positive (c-Fos+) cells were automatically counted (Mercator, Explora Nova, France) in serial brain sections. Then, in order to precisely and automatically allocate c-Fos labeling to specific brain regions, the outlines of all sections along the antero-posterior axis, and the associated labeled

cells were registered in the Paxinos brain atlas (« The mouse brain », Paxinos and Franklin's, 4th edition). This was done using a custom-made algorithm based on vectors field elastic registration allowing realignment of experimental brain sections and associated c-Fos labeling to the sections of the Atlas. Thereby, c-Fos expression cell can be quantified and compared between groups in identified brain structures of the Atlas, without manual outlining on each histological section. For analyzing and visualizing data in a 3D space, we have repositioned the registered labeling in a volume of 150*150*204 isotropic voxels (60 μ m) which covers the reference atlas. Thus, each voxel displays the sum of the labeling contained in the discretized sub-volume.

To reveal the activity pattern (number of c-Fos+ cells) that reflects the attractiveness of the odors independently of their identity, we averaged the activation evoked by each of the three spontaneously pleasant (Pleasant group (P), n=6 mice) and the three spontaneously unpleasant odorants (Unpleasant group (UnP), n=7 mice) (Figure 2) used in the experiment, and compared activation to that of the control mineral oil condition (No Odor group (NO), n=4 mice). We found that in the AON, aPirCX and pPirCX, the number of c-Fos+ cells is increased by odor stimulation compared to no odor control regardless of the hedonic tone of the odorants (Figure 2). Interestingly, we found that only the OT showed an activity differentially modulated based on the hedonic tone of the odorants with an increase of c-Fos expression in response to pleasant but not unpleasant odorants (Figures 2 and S1). This was true for both the medial (mOT) and the lateral (lOT) OT sub-regions that were shown to differ in their inputs/outputs and functional involvement in odor-related behaviors (Ikemoto, 2007; Wesson & Wilson, 2011; DiBenedictis *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015; Xiong & Wesson, 2016) (Figure 3A). We also analyzed the OT's Islands of Calleja (ICs) whose role is still unknown and found an increased activity in the ICs in response to spontaneously pleasant odorants but not in response to spontaneously unpleasant odorants (Figures 3B and S1). Further statistical analysis of the OT labeling was done by comparing the 3D volumes (voxel to voxel) of the two hedonic group (6 pleasant vs 7 unpleasant) using conventional statistical tests (Mann-Whitney), we obtained an outcome 3D volume in which each voxel depicts the result of the statistical Mann-Whitney comparison ($p < 0.01$) (Figure 3C). To strengthen the statistical results, permutation tests were performed by randomly redistributing the 13 data sets (6 P and 7 UnP) in the two compared hedonic groups. This permutation has been made 1000 times and the result showed voxels in which the result of the previous Mann-Whitney is not due to chance ($p < 0.01$) (Figure S2A).

In order to confirm that the increase in c-Fos expression found in the OT in response to spontaneously pleasant odorants reflects an increase of the OT activity, and to collect temporal information, we directly probed the activity of the OT, using an eight-channel electrode array implanted in the mOT (Figure S3A), in freely moving mice performing the same behavioral experiment. Indeed, the mOT appears to receive projections mostly from the ventral part of the OB (Price & Powell, 1971; Price, 1973; Broadwell, 1975) where the neural signature of innate odor hedonic has been found (Kermen *et al.*, 2016).

Extracellular single-unit recordings were performed during a 120-seconds trial in which mice were allowed to explore the hole-board containing either a spontaneously pleasant or unpleasant odorant, or mineral oil (no odor condition) in the hole. Each mouse was tested in the 7 different odorant conditions (3 pleasant, 3 unpleasant and 1 mineral oil), one odorant at a time. We first confirmed mice behavioral olfactory preferences based on investigation time and approach speed which were higher for pleasant versus unpleasant odorants (Kermen *et al.*, 2016) (Figure S3B). Then, for each neuron, we recorded the number of spikes during the 120-s of the trial. We averaged across the recorded neurons the response (number of spikes) obtained after each of the three pleasant and the one obtained after each of the three unpleasant odorants to reveal the activity pattern that reflects the hedonic aspect of odorants independently of their identity, as we did for c-Fos data. We found no difference between pleasant and unpleasant and no odor conditions (Kruskal-Wallis test: $H(2, N=189)=1,291584, p=0.52$) in the averaged firing rate. The mOT neurons fired at a low rate of 3.35 spikes/s (range, 0.05–33 spikes/s across the sampled population, Figure 3E) which is similar to the background firing rate revealed by others (Gadziola *et al.*, 2015; Gadziola & Wesson, 2016). The firing rate was thus averaged between groups and this mean value was used as a reference background activity (Figure 3 D-E).

Because we were interested in how attraction is driven, we refine our analysis to the first time the mice approached the hole. In this context, we focused on the 3-seconds time period preceding the first investigation of the hole (-3 to 0 s relative to the onset of the hole investigation) containing either a spontaneously pleasant or unpleasant odorant, or mineral oil (no odor condition). This interval reflects the time window during which the animal can use the odor cue emanating from the hole to initiate its approach to the odor source. We found that firing frequency was higher in presence of pleasant compared to unpleasant odorants or no odor condition (Figure 3D) and was above background (Figure 3E).

To further explore the link between OT hedonic responses and the build-up of a motivated approach behavior, we then studied the implication of the reward system in the guidance of spontaneous odorants attractiveness.

The reward system is influenced by the hedonic value of odorants.

We analyzed whether the reward network responded differentially to the intrinsic hedonic value of odorants without biological meaning. Using the same cellular mapping technique as previously, we quantified c-Fos expression in the main structures of the reward system: NAcShell, VP, posterior VTA (pVTA) and antero-medial orbital cortex (amOFC) (Figure 4). Compared to the no odor control condition, spontaneously unpleasant odorants decreased activity (number of c-Fos+ cells) in the NAcShell, evoked no activity change in the VP and increased it in the pVTA and the amOFC. Pleasant odorants increased activity in the VP but not in the NAcShell, the pVTA or the amOFC, compared to

control no odor condition (Figure 4A). These results were confirmed by direct comparisons of evoked responses between pleasant and unpleasant odorants (Figure 4B) and permutation tests (Figure S2B) with the exception of the mOFC in which the detailed spatial analysis revealed a voxel activated by pleasant odorant.

Spontaneously pleasant odorants induce place preference.

A classical way of testing the functional recruitment of the reward system by a given stimulus is to investigate whether this stimulus is able to serve as a reinforcer (Olds & Milner, 1954; Tahsili-Fahadan *et al.*, 2006; Huston *et al.*, 2013; Vrontou *et al.*, 2013; Golden *et al.*, 2016; McReynolds *et al.*, 2017)). The conditioned place preference (CPP) is a standard test used to measure the reinforcing effects of a stimulus by evaluating if animals develop a preference for the location where they received the stimulus. In order to test whether a pleasant odorant can act as a reinforcer, we conditioned mice by confining them alternatively in two visually distinct compartments, with the odorant of interest in one compartment, and without it in the other one (4 sessions of 15-min/day during 5 days) (Figure 5A). Before (pre-conditioning) and after (post-conditioning) the conditioning phase, mice were allowed to freely explore both chambers in the absence of reinforcer (odorant) and the time spent in each of them was recorded. Changes in the time spent in the stimulus-paired chamber between pre-conditioning and test is calculated as an index of the preference for the reinforced compartment (preference score) and thus of the reinforcing effect of the stimulus. Five groups of mice were tested, two groups were trained with spontaneously pleasant odorants (Citro or Lim), two with spontaneously unpleasant odorants (Pyr or Cre) and a control group of mice was submitted to the same sequence of behavioral manipulation but in which no odor was introduced (NO). First, mice spent more time in the chamber previously paired with a spontaneously pleasant odorant indicating a CPP (Citro and Lim; Figure 5B). Second, mice spent less time in chamber previously paired with one of the two unpleasant odorants (Pyr; Figure 5B) indicative of a conditioned place aversion. Cre group (unpleasant odorant) and control animals showed no place preference (Figure 5B). These results showed that pleasant odorants are able to serve as a positive reinforcer. They also show that some unpleasant odorants can have opposite effect and induce a conditioned place aversion.

The reinforcing property of spontaneously pleasant odorants is mediated by dopamine signaling.

Since release of dopamine (DA) within the reward system is a common substrate of rewarding stimuli (Ikemoto, 2007), we next altered dopaminergic transmission during odor CPP to further document the recruitment of the reward system by odorants spontaneously pleasant. Dopaminergic D1 receptors antagonist (SCH 23390, (Nazarian *et al.*, 2004; Pina & Cunningham, 2014) was injected 15 min before confinement in the Lim-paired chamber in the CPP protocol while saline was injected 15 min

before confinement in the unpaired chamber (Lim+SCH23390 group). Reduction of the locomotion is a well-known dopaminergic antagonist side effect (Schindler & Carmona, 2002), and as expected (Hoffman & Beninger, 1985) SCH23390 injection reduced the average speed of mice (Figure S4A). Because the antagonist was injected only during the conditioning phase (confinement) and not during pre-conditioning or post-conditioning, and because a 24-h wash-out was allowed between SCH23390 and testing, the alteration of locomotion should not affect the CPP score.

Then, performances of this experimental group were compared to those of a group in which animals were conditioned with the same pleasant odorant (Lim) but injected with saline solution in both chambers (Lim+Saline Group). D1 receptor antagonist SCH23390 suppressed Lim-induced CPP (Lim+ SCH23390 group) while saline injected group continued to show CPP (Lim+Saline group) (Figure 5B). Because the OB contains dopaminergic neurons involved in odor perception, we verified that D1 antagonist did not alter the detection of the Lim (Figure S4B). Finally, to ensure that the D1 antagonist has no aversive effect by itself, we performed an additional control group in which SCH23390 injection was paired to one of the two chambers without odor (NO+SCH23390 group). Result showed that the drug alone does not induce conditioned place aversion (Figure 5B).

Taken together, these results strongly suggest that dopaminergic transmission is involved in coding the reinforcing power of spontaneously pleasant odorants.

The olfactory bulb as a site for self-stimulation.

Electrical self-stimulation has been extensively used to determine brain areas that belong to the reward system and evaluate the neural basis of motivation.

Because olfactory information triggers approach behavior and because olfactory system is directly and importantly linked in a privileged way to the reward system (by the OT), we next assessed if direct optogenetic stimulation of the OB would support an operant conditioning. In a recent work, we found that the ventro-posterior OB encodes pleasantness of odorants (Kermen *et al.*, 2016). Here, we hypothesized that optogenetic modulation at this site would be reinforcing. Following the same protocol than Kermen and al., two groups of mice were injected with lentivirus in the ventro-posterior granule cell layer, one with NpHR and one with a control EYFP virus (Figure 6A-B). Light stimulation inhibits granule cells, which are inhibitory on the OB relay cells (mitral/tufted cells) and consequently leads to disinhibition (activation) of mitral/tufted cells (Kermen *et al.*, 2016). Bilateral light stimulation was automatically triggered by the entry of the mouse's nose within 1 cm around the hole (light-triggering zone), which in this experiment contained no odorant (Figure 6A). We found that mice readily learn to enter the light triggering zone to stimulate their ventro-posterior OB. More precisely, during the first five days of training, the time spent in the light-triggering zone increased in NpHR-injected mice before reaching a plateau (Figure 6A). We then proceed to an extinction phase

during which light stimulation was unavailable (Day 6 to Day10). During this phase, mice showed a decrease in the time spent in the light-triggering zone. Finally, when the light stimulation was made available again, the reinstatement of the self-stimulation was observed (Figure 6B). This stimulation/extinction sequence confirmed that the self-stimulation behavior is timely dependent on light stimulation. This behavior was not retrieved in control mice (Figure 6B). Indeed, control mice spent less time investigating the light-triggering zone over days (Friedman: trial (day) effect $p=2.10^{-4}$). We controlled the effectiveness of the light-triggered granule cells inhibition by quantifying and analyzing the distribution of virally-infected granule cells of the OB (YFP+ cells) and the response of infected cell to the light stimulation (YFP+/c-Fos+ double-labeled cell) in NpHR and EYFP mice (Figure 6D-F). We found a higher density of YFP+ neurons in the ventro-posterior OB compared to its anterior part for both groups of mice (Figure 6E) confirming the efficiency of our viral injection. In the NpHR group, the percentage of YFP⁺/c-Fos⁺ neurons in the ventro-posterior OB was lower than in the ventro-anterior part, confirming that light was efficient in decreasing the number of activated neurons among infected ones (Figure 6F). For EYFP mice, the percentage of YFP+/c-Fos+ neurons was similar between the ventro-anterior and the ventro-posterior OB (Figure 6F) indicating that light alone had no effect on neuronal activation.

To determine if the behavioral effect observed upon stimulation of the ventro-posterior OB was specific to this area, another group of mice was injected with NpHR in ventro-anterior OB and trained to the same behavioral protocol (Figure S5). No effect of light stimulation on the investigation time across days was observed.

All together, these results indicate that the self-light stimulation of the ventro-posterior OB is reinforcing and motivates an approach behavior.

DISCUSSION

Non-biological odorants spontaneously trigger approach or avoidance according to their intrinsic hedonic value; however, neural mechanisms converting innate positive odor hedonics into motivated approach behavior are not clearly understood.

Using cellular imagery, we first showed a differential responsiveness of the OT and the reward system according to the intrinsic hedonic value of odorants, that is, to their spontaneous attractiveness. Then, using a combination of approaches (single-unit recordings and optogenetics in freely moving mice, pharmacology and behavioral testing), we showed for the first time that spontaneous attraction toward a non-biological and non-reward-paired odor is mediated by the reward system including the OT, at the junction of the olfactory and reward systems. As direct functional evidence, we show that a non-biological unlearned pleasant odorant can act as a reward and that a primary sensory region such as the OB supports operant self-stimulation.

Together, these observations provide a new evidence for an essential role of the reward system in the behavioral expression of odor-innate attractiveness.

From olfactory perception to motivation: the OT is a transitional structure.

In the present study, we have highlighted the particular role of the OT in processing intrinsic odor hedonics. Indeed, pleasant odorant selectively increased neural activity in the OT as shown by c-Fos expression and electrophysiological data suggesting that among all the secondary olfactory structures, the OT has a singular role in coding intrinsic and non-biological odor hedonics. This is strengthened by the fact that no modulation of activity has been highlighted in response to intrinsic odor hedonics within the PirCx or the amygdala, two structures known to play a role in processing the hedonic value of odors, when experienced and learned (Sullivan & Wilson, 1993; Schoenbaum *et al.*, 1999; Wilson & Stevenson, 2003; Moriceau & Sullivan, 2004; Sevelinges *et al.*, 2004; Moriceau *et al.*, 2006; Calu *et al.*, 2007; Barnes *et al.*, 2011; Wilson & Sullivan, 2011; Xia *et al.*, 2015; Perry *et al.*, 2016). Our results also showed that non-biological spontaneously pleasant odorants elicited an increased activity in the OT (medial part, lateral part and in the ICs) while unpleasant ones evoked a level of activity similar to that of the control no odor group. This suggests that the OT is involved in coding positive intrinsic hedonic value more than negative hedonic value. This is supported by a study showing that the inhibition of the bulbar relay cells projections onto the OT does not impair the aversive behavior of unpleasant odorants (Root *et al.*, 2014). Recently, Fitzgerald *et al.* show that OT electrical stimulation alters the hedonic value (behavioral attraction) of biologically significant odors such as food or predator odors (Fitzgerald *et al.*, 2014). Besides, the OT has been implicated in coding the acquired hedonic value of odors that predict a reward (after conditioning) and the motivation these odors entail (Wesson & Wilson, 2011; Gadziola *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015). In these last works, odors have been previously associated with a positive or a negative stimulus that requires training and memorization. Our data come to complement these studies by highlighting a role of the OT in processing intrinsic unlearned hedonics of non-biological odorants.

We further propose that the OT is a crucial structure by which the olfactory information is processed to motivate action and thus guide behavior. Indeed, the OT is the only olfactory structure located in the striatum and directly linked to the reward system (Heimer, 2003; Wesson & Wilson, 2011; Gadziola *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015; Xiong & Wesson, 2016). Several evidences support this view. Electrical stimulation of OT is reinforcing (animals were readily self-administering electrical OT's stimulation (Prado-Alcala & Wise, 1984; Fitzgerald *et al.*, 2014). Consistently, cocaine infusion into the rats' OT induces a conditioned place preference, animals can be conditioned to self-administration of cocaine in the OT (Ikemoto, 2003) and the OT neurons respond to a rewarding venous injection of cocaine (Striano *et al.*, 2014). Considering our electrophysiological data and based on this literature, we can hypothesize that a pleasant odorant is rewarding. Furthermore, we could

hypothesized that pleasant odorants motivate approach behavior by recruiting the OT. In support of the latter, behavioral analysis during OT recording indicated the speed of approach to the odorant is higher for pleasant than for unpleasant odorants, acknowledging that unpleasant odorants are always explored in this type of behavioral set up, even if shortly, in virtue of the novelty drive for exploration (Kobayakawa *et al.*, 2007; Kermen *et al.*, 2016). In line with our data, Gradziola and Wesson (2016) recorded TO neurons in mice engaged in a behavioral task aimed at obtaining a reward (limited access to water after deprivation). The authors showed that OT neurons modulated their activity at the time of initiation of the action (licking), or even before (decision-making), and that this modulation continued during the progression of the behavior. Interestingly, the authors also revealed that OT neurons were able to discriminate the motivational value of the reward. These data suggest that the OT has an important role in processing reward information and in the orchestration of motivated behaviors (Gradziola & Wesson, 2016).

The reward system drives spontaneous attraction toward non-biological odorants.

We then address the issue of the rewarding and incentive value of odorants. By first mapping the odor hedonic representation in the VP, the NAcShell, the pVTA and the amOFC, we revealed that indeed, these areas are differently activated according to the intrinsic hedonic value of odorants. To go further and test the functional implication of the reward system, we used the conditioned place preference paradigm and demonstrated that, according to their intrinsic hedonic value, non-biological odorants can be reinforcing in a DA-dependent manner, an expected feature of a reward system-dependent process (e.g. (Ikemoto, 2007; 2010).

In this context, it may appear as a paradox to observe no change in c-Fos expression in the VTA and the NAcShell after pleasant odor stimulation while the CPP experiment suggested a strong implication of the DA pathway in the positive value of odorants. Several studies suggested that dopaminergic neurons of the VTA signal the discrepancy between expected and actual reward suggesting that the VTA activity depends on past experience (Moncho-Bogani *et al.*, 2005; Martinez-Ricos *et al.*, 2007; Bensafi *et al.*, 2012; Menegas *et al.*, 2017). Similar finding has been retrieved for the NAcShell (Moncho-Bogani *et al.*, 2005; Martinez-Ricos *et al.*, 2007). Thus these two structures may not respond to unknown innately attractive odors as assessed in our c-Fos experiment, but would require past experience of the odorants to be recruited. We can further rise the hypothesis that this secondary recruitment of the VTA and the NAcShell can be achieved throughout plasticity of the OT to VTA or NAc pathways. Indeed the ICs of the OT, that we found responsive to spontaneously pleasant odorants, are interconnected with the VTA and the NAc (Fallon *et al.*, 1978).

Unpleasant odor stimulation increased pVTA activity. This could be related to the finding that dopaminergic neurons of the VTA are activated by aversive, stressful and salient events (Abercrombie *et al.*, 1989; Mantz *et al.*, 1989; Guarraci & Kapp, 1999; Bassareo *et al.*, 2002; Young, 2004; Anstrom

& Woodward, 2005; Brischoux *et al.*, 2009; Matsumoto & Hikosaka, 2009; Bromberg-Martin *et al.*, 2010; Ungless *et al.*, 2010; Cohen *et al.*, 2012) as unpleasant odorants could be. This activation could result from activation of VTA GABA interneurons (particularly those of the posterior VTA, pVTA), excited by negative stimuli and driving aversion (Tan *et al.*, 2012) and inhibiting dopaminergic VTA neurons (Johnson & North, 1992; Jhou *et al.*, 2009; Hong *et al.*, 2011; Jalabert *et al.*, 2011; Matsui & Williams, 2011; Jhou *et al.*, 2012; Lecca *et al.*, 2012; Ikemoto & Bonci, 2014). The activation of the pVTA GABA neurons leads to an inhibitory input to the NAcShell and to an excitation of the medial prefrontal cortex (Lammel *et al.*, 2014). This is consistent with our data showing that after unpleasant odor stimulation the activity of the pVTA is increased as well as that of amOFC while that of the NAcShell is decreased. Altogether, these details suggest that c-Fos+ cells in the VTA could be GABA neurons, consistent with the conditioned place aversion observed with Pyr in our experiment. Interestingly, VTA GABA neurons receive inhibitory inputs mainly from the striatal medium sized-spiny neuron (Xia *et al.*, 2011), the principal neuronal population of the OT (Millhouse & Heimer, 1984). This would suggest that OT activation, observed after pleasant odor stimulation, may silence the VTA GABA leading to a disinhibition of the dopaminergic VTA neurons, leading secondarily to the recruitment of the major mesolimbic pathway (dopaminergic VTA projections onto NAc), which is the key structure of motivated and rewarded behaviors. In contrast, unpleasant odors which do not activate the OT lead to the maintenance of a tonic inhibition by the GABA VTA neurons on the dopaminergic VTA neurons (Steffensen *et al.*, 1998; Jhou *et al.*, 2009).

To ultimately probe the involvement of the reward system in processing the predetermined olfactory information carried by unlearned odorants, we targeted the primary cortical olfactory structure, the OB, by self-stimulation and demonstrated that its stimulation can promote operant conditioning and thus be reinforcing. More precisely, we found that mice injected with NpHR lentivirus in ventro-posterior granular layer of the OB learned to optogenetically self-stimulate this region over days and to seek light stimulation. We have thus identified the ventro-posterior OB as a novel site of brain self-stimulation. It is noteworthy that we infected the granular layer of the OB containing the granule interneurons that inhibit the bulbar relay cells (mitral and tufted cells). Light would thus induce an inhibition of the inhibitory granule cells and thus a disinhibition of the relay cells, leading to an increase in the output of the targeted region of the OB, as evidenced in Kermen *et al.* (Kermen *et al.*, 2016). In another hand, optogenetic stimulation of the ventro-anterior OB did not induce self-stimulation. This spatial selectivity of the ability of the OB to support self-stimulation is consistent with our previous report showing that optogenetic silencing of the interneurons in the ventro-posterior OB increased odor attractiveness while silencing the ventro-anterior OB decreased it (Kermen *et al.*, 2016). Here, using the same optogenetic protocol, we found that stimulating the ventro-posterior OB is rewarding while stimulating the ventro-anterior OB is not. This difference of behavior based on the localization of the injection site of NpHR (anterior versus posterior), confirms the importance of the

antero-posterior axis of the olfactory bulb in coding odor attractiveness highlighted by Kermen and collaborators (Kermen *et al.*, 2016).

Interestingly, there is one report in the literature (Phillips & Mogenson, 1969) of electrical self-stimulation of the OB obtained in rats implanted with electrodes in the OB. These electrical stimulations may have activated granule cells and/or mitral and tufted cells making these data difficult to compare with ours. However, the authors showed differences in efficiency of self-stimulation along the anterior-posterior axis of the olfactory bulb, reminiscent of our finding. Interestingly the OT, and more specifically the medial domain we recorded using electrophysiology, would be predominantly targeted by the relay cells from the ventro-posterior OB (Price & Powell, 1971; Scott *et al.*, 1980). Thus, in accordance with these anatomical data and with the evidence we bring favoring the involvement of the OT in pleasant odorant processing, we propose that the OT supports self-stimulation of the ventro-posterior OB by recruiting the reward system. Wesson and Wilson (Wesson & Wilson, 2011) have suggested that disturbances in olfactory input onto the OT could disrupt normal motivated behavior. Our results are in line with this prediction and indicate that optical stimulation in the posterior olfactory bulb is rewarding by itself since it is possible to condition mice using this stimulation as a reinforcement.

Altogether, these data converge to demonstrate that non-biological odors with positive intrinsic hedonic value can act as a reward and motivate approach thanks to the recruitment of the reward system, likely throughout the olfactory tubercle, which appears to be a key structure underlying spontaneous odor attractiveness.

MATERIALS AND METHODS

Experiment 1. Odor attractiveness testing and brain activity mapping.

Animals.

30 adult male C57Bl6/J mice (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) aged 2 months at the beginning of the experiments were used. Experiments were done following procedures in accordance with the European Community Council Directive of 22nd September 2010 (2010/63/UE) and the National Ethics Committee (Agreement DR2013-48 (vM)). Mice were housed in groups of 5 in standard laboratory cages and were kept on a 12 hr light/dark cycle (at a constant temperature of 22°C) with food and water ad libitum. Behavioral experiments started not earlier than a week after the arrival of the animals and were conducted in the afternoon (2–6 pm, light phase).

Odorants.

6 monomolecular odorants were selected based on their hedonic value (high attractiveness: limonene, camphor and citronellol vs low attractiveness: pyridine, guaiacol and p-cresol) in young adult mice (Kermen *et al.*, 2016). To avoid difference in the concentration of odorants in the inhaled air due to difference in volatility, they were diluted in mineral oil so as to achieve an approximate gas-phase partial pressure of 1 Pa (Cleland *et al.*, 2002; Kermen *et al.*, 2011; Kermen *et al.*, 2016).

Olfactory attractiveness testing.

Odor attractiveness was measured using odor investigation time (Kobayakawa *et al.*, 2007; Mandairon *et al.*, 2009a; Kermen *et al.*, 2016). As previously described (Kermen *et al.*, 2016), we used a computer-assisted one-hole-board apparatus fitted with sensors to automatically monitor the duration of nose-poking into the central hole (Mandairon *et al.*, 2009a; Mandairon *et al.*, 2009b). Total duration of nose-poking into the hole was used as a measure of odor attractiveness. A polypropylene swab impregnated with 60 μ L of odorant (1 Pa) was placed at the bottom of the hole, under a grid covered with clean bedding. The bedding was replaced after each trial. Every animal was allowed to explore each of the 6 odorants and a no odor condition (60 μ L of mineral oil) for 2 min. Each animal tested one odorant per day. Odorants were randomly presented and animals performed no more than 2 consecutive days of testing.

Odorant stimulation, c-Fos immunohistochemistry and labeled cell mapping.

Odor stimulation and sacrifice

Mice were submitted to pyridine (Pyr), guaiacol (Gua), p-cresol (Cre), +Limonene (Lim), citronellol (Citro), camphre (Cam) or mineral oil (MO) stimulation one hour before sacrifice. Briefly, mice were first placed in individual clean cages for 1 hour, with an empty tea ball hanging from the top of the cage. A polypropylene swab impregnated with the odorant (60 μ L, 1Pa) was then placed in the tea ball for a further hour. One hour after the end of stimulation, mice were deeply anaesthetised (pentobarbital, 0.2 ml/30 g) and killed by intracardiac perfusion of 50 ml of fixative (PFA 4%, pH=7.4). This 1-hour delay has previously been shown to enable the expression of the immediate early gene c-Fos in response to odorant stimulation (Dielenberg *et al.*, 2001; Kovacs, 2008), which is commonly used to map neuronal activation (Maviel *et al.*, 2004; Cruz *et al.*, 2013; Redondo *et al.*, 2014; Okuyama *et al.*, 2016; Renier *et al.*, 2016). The brains were removed, post-fixed overnight, cryoprotected in sucrose (20%), frozen rapidly, and then stored at -20°C before sectioning with a cryostat (14 μ m thick; 210 μ m intervals; 48 sections per animal).

c-Fos immunohistochemistry

A rabbit anti-c-Fos primary antibody was used (1: 5000; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) and combined to biotinylated goat anti-rabbit (1:200; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Brain sections were then processed through an avidin–biotin–peroxidase complex (ABC Elite

Kit, Vector Laboratories). Following dehydration in graded ethanols, sections were defatted in xylene and coverslipped in DPX (Fluka, Sigma).

c-Fos-positive cell mapping

We used a method consisting in a high-accuracy matching of experimental brain sections with a reference brain atlas. It allows precise, automatic assignment of the labeled cells to a brain structure and permits between-group comparisons. Briefly, for each animal, c-Fos immunohistochemistry was performed on brain adjacent sections (n=5-7 mice for each hedonic condition; 210 μm interval inter sections). For each section analysed, the external contour of the right hemisphere was outlined and c-Fos+ cells were automatically counted using mapping software (Mercator, Explora Nova, La Rochelle, France) coupled to a Zeiss microscope. Then, the coordinates of each labeled cell (c-Fos+) and the contour point were exported. All cell counts were conducted blind with regard to the experimental group.

A digitized Paxinos atlas was used as a common anatomical space (« The mouse brain », Paxinos and Franklin's, 4th edition). The extracted contour and labelling of experimental sections were precisely matched to the corresponding atlas sections. More precisely, the extracted sections were automatically stacked, realigned and reoriented between them and along the antero-posterior axis. Then, a nonlinear elastic registration based on a computed vector field is applied to the labeling and contour allowing a readjustment of the section size and a precise matching in the atlas. At the end of this computation, each labeled c-Fos+ cell is correctly localized in the common Paxinos Atlas and is thus spatially assigned to one region or sub-region. Since the experimental sections have been matched to the atlas, selecting any region of interest present in the atlas yields automatically the number or density of labeled c-Fos+ cells in this particular region. Once all experimental sections have been registered in the atlas, we obtain a stack of those sections that include labeling along the antero-posterior axis. The 3D space in which the stack is placed can be discretized in isotropic voxels (120 μm corresponding to the Paxinos atlas resolution). For a more precise resolution in one section, discretization was refined to 60 μm by interpolation algorithms. We thus get a matrix of labeling density that can be visualized in 3D (150x150x204 voxels for 60 μm resolution) for each brain. Each voxel contains the number of counted labeled cells.

Analyses

We analysed the neural representation of pleasant and unpleasant odorants in olfactory brain structures directly targeted by the OB: the anterior Piriform Cortex (aPCx; coordinates from the bregma [2.33 to 1.09]), the posterior Piriform Cortex (pPCx; coordinates from the bregma [-0.23 to -2.79]), the Accessory Olfactory Nucleus (AON; coordinates from the bregma [3.53 to 1.97]), the Olfactory Tubercle (OT; coordinates from the bregma [2.09 to -0.11]), the Entorhinal Cortex (EntCx;

coordinates from the bregma [-1.91 to -3.87]) and the postero-lateral Cortical Amygdala (plCoA; coordinates from the bregma [-1.23 to -3.15]).

We analysed different sub-regions of the OT. Knowing that a differential hedonic response of the OT according to its medial (mOT) and lateral (lOT) domain exists (DiBenedictis *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015), we equally divided the atlas OT region in three parts along the mediolateral axis: medial, intermediate and lateral. Analyzes were performed only for the mOT and the lOT. We also analyzed the OT's Islands of Calleja (ICs) of which the role is still unknown. Because ICs' morphology and intra-OT location are highly variable from animal-to-animal (Adjei *et al.*, 2013; Hsieh & Puche, 2013; Adjei & Wesson, 2015; Xiong & Wesson, 2016), we delineated each IC manually, preventing a mismatch between the brains of the different groups of mice and with the atlas. Then, c-Fos+ cells were automatically counted using mapping software (Mercator, Explora Nova, La Rochelle, France) as previously described.

Secondly, we analysed structures belonging to the reward system: the posterior Ventral Tegmental Area (pVTA; coordinates from the bregma [-3.07 to -3.15]), the Nucleus Accumbens Shell part (NAcShell; coordinates from the bregma [1.93 to 0.73]), the Ventral Pallidum (VP; coordinates from the bregma [1.93 to -0.47]) and the antero-medial Orbitofrontal Cortex (amOFC; coordinates from the bregma [3.17 to 2.65]).

By considering the odor treatment given before the sacrifice, 3 hedonic-groups of mice were formed and compared: pleasant group (n=6), unpleasant group (n=7) and no odor (mineral oil) group (n=4).

Because all animals are registered in the same referential (Paxinos), brains structures are consistent in volume (Supp. Table 1). Thus, we have extracted the total number of labeled c-Fos+ cells for each brain structure and compared it between groups. More precisely, the total number of labeled c-Fos+ cells was averaged across mice from the no odor group and used as a reference value (100%). Then, the number of labeled c-Fos+ cells from the pleasant, or unpleasant, group was then compared to the 100% reference value using a one sample t-test. Comparison between the pleasant and the unpleasant group was also performed, using a two tailed unpaired t-test.

Significance was set at 0.05.

In addition to the matching method and for analyzing and visualizing data in a 3D space, we have repositioned the registered labeling in a volume of 150*150*204 isotropic voxels (60µm) which covers the reference atlas. Thus, each voxel displays the sum of the labeling contained in the discretized sub-volume. By comparing the 3D volumes (voxel to voxel) of the two hedonic group (6 pleasant vs 7 unpleasant) using conventional statistical tests (Mann-Whitney), we obtained an outcome 3D volume in which each voxel depicts the result of the statistical Mann-Whitney comparison ($p < 0.01$). Each voxel can be located and visualized in the 3D meshes built from the Paxinos atlas. These statistical results were strengthened by the use of permutation tests (bootstrapping algorithms). Permutations tests are conventionally used to decide the validity of the null hypothesis of the statistical test considered (Mann-Whitney) and are ideally adapted to data obtained from animal

experimentations (small samples not well suited to FDR corrections (Benjamini & Hochberg, 1995; Edgington & Onghena, 2007)). Here, permutations tests were performed by randomly redistributing the 13 volumes of data in the two compared hedonic groups. This permutation has been made 1000 times and the result showed voxels in which the result of the previous Mann-Whitney is not due to chance ($p < 0.01$).

Experiment 2. Olfactory tubercle multi-unit recordings.

Animals.

C57BL/6 male mice ($n = 15$, 2–4 months of age) originating from Envigo were bred and maintained within the Case Western Reserve University School of Medicine animal facility. Mice were housed on a 12 h light/dark cycle with food and water available *ad libitum*. Up to five mice were cohoused in a cage before experimentation, but all postsurgical animals were housed individually. All experimental procedures were conducted in accordance with the guidelines of the National Institutes of Health and were approved by the Case Western Reserve University Institutional Animal Care and Use Committee.

Surgical procedures.

Mice were anesthetized with isoflurane (2–4% in oxygen; Abbott Laboratories) and mounted in a Kopf stereotaxic frame with a water-filled heating pad (38°C) beneath to maintain body temperature. Anesthesia depth was verified by the absence of the toe-pinch reflex. An injection of a local anesthetic (10% marcaine, 0.05 ml, s.c.) was administered into the wound margin site before exposing the dorsal skull. A craniotomy was made to access the right medial OT (+1.7 mm from bregma, +0.5 mm lateral; FIG.). An eight-channel tungsten electrode array, as previously described (Gadziola *et al.*, 2015) was implanted within the right medial OT (4.7 mm ventral) and cemented in place. A second craniotomy was made over the contralateral cortex for placement of a stainless steel ground wire. Animals were allowed to recover for 5 days with food and water *ad libitum*. During the first 3 post-operative days, animals received a daily injection of carprofen (5 mg/kg, s.c.; Pfizer Animal Health).

Behavioral task.

Odorants

The same odorants at the same concentration as in the first experiment were used herein.

Olfactory preference testing

Mice were tested in cohorts of 2 to 5. All behavioral procedures were performed during the afternoon (1 p.m. to 4 p.m.). Each animal was tested for 7 odorant conditions, including 6 different odorants and one no odor condition (mineral oil) in the same condition as in experiment 1.

Locomotor activity

During the behavioral testing, the mouse's body was identified using custom-made video tracking software (Volcan) and the locomotion was automatically assessed. More precisely, because we were interested in how attraction is driven, we refine our analysis to the first time the mice approached the hole. We focused on the 3-seconds time period preceding the first investigation of the hole (-3 to 0 s relative to the onset of the hole investigation) containing either a spontaneously pleasant or unpleasant odorant, or mineral oil (no odor condition). This interval reflects the time window during which the animal can use the odor cue emanating from the hole to initiate its approach to the odor source. Speed of approach was analyzed during this 3-seconds window.

***In vivo* electrophysiology.**

The output of the electrode array was amplified, digitized at 24.4 kHz and filtered (bandpass filter, 300–3000 Hz). One electrode wire was selected to serve as a local reference. Given the small dorsal–ventral extent of the OT (~300 μm), our electrode arrays were fixed in place, and no attempt was made to record from unique populations of neurons on different sessions. Indeed, it is possible that the same neuron was recorded across multiple days. On average, 5.56 ± 0.61 single neurons were recorded per mouse per session, with an average of 1.96 ± 0.08 neurons recorded per viable electrode wire per mouse per session. After all recording sessions were completed, mice were given (intraperitoneally) an overdose of Fatal-plus and were transcardially perfused with 0.9% saline and 10% formalin, and brains stored in 30% sucrose formalin at 4°C. Medial OT recording sites were verified by histological examinations of slide-mounted, 40 μm coronal sections stained with a 1% cresyl violet solution. 5 animals did not contribute data since the recording sites were not located in the medial OT.

Analysis of odor-evoked activity.

Single units were identified off-line in Spike2 (Cambridge Electronic Design), using a combination of template matching and cluster cutting based on principal component analysis. Single units were further defined as those having < 2% of the spikes occurring within a refractory period of 2 ms. Among these identified single units, spike times associated with each odor condition were subsequently extracted for analysis.

To assess modulations in firing rate according to the hedonic condition (pleasant, unpleasant, no odor), spiking was aligned to the first odor investigation (t_0 , when the mouse's nose enter the odorized zone). Mean firing rates across trials were measured in 100 ms bins. Mean odor firing rate for each neuron was calculated over a 3-seconds time-interval preceding the first investigation referring to the of the approach (-3 to 0 s relative to the onset (t_0) of odor investigation) to the pleasant odorant, the unpleasant odorant and the control no odor condition, whereas the mean background firing rate was averaged across the entire trial (120s). Any trial in which the animal was already approaching the odorant source at the start of the trial (incomplete -3s to 0s period) were removed from the analysis.

Experiment 3. Testing the reinforcing properties of odors.

Animals.

123 (55 CPP + 34 self-stimulation + 15 preferences + 8 habituation +11 locomotion) adult male C57Bl6/J mice (Charles River Laboratories, l'Albresle, France) were used and housed in the same conditions as in experiment 1 except for the optogenetic experiment in which mice were housed alone after surgery. (*Agreement DR2013-48 (vM)*).

Odorants.

4 odorants were used in the experiment: Citro and Lim as pleasant odorants; Pyr and Cre as unpleasant odorants and mineral oil served as control (Lim 15.4%; Citro 0.2%; Pyr 227.8% and pCre 1.1%).

Odor conditioned place preference (CPP).

Experimental design

To avoid neophobic response, mice were exposed twice a day (one hour each time) during 10 days with either Citro (n=8), Lim (n=10), Pyr (n=8), Cre (n=9) or not exposed (mineral oil, n=10) before CPP test. Then, mice were all trained in CPP using the same odor as the one used for the exposure.

CPP protocol

Mice were trained in a CPP apparatus consisting of 2 visually different conditioning chambers (60 cm wide x 30 cm high x 30 cm long): one with orange stripes and large mesh on the wall and the other one with blue circles and short mesh on the wall, both connected by a smaller central chamber. A tea ball was placed on the top of each chamber. On day 1 (habituation), mice were allowed to move freely between the three chambers for 15 min. On day 2 (pre-conditioning test), mice had again free access to the chambers for 15 min and the time spent in the 2 conditioning chambers was video recorded using Volcan (Hegoburu *et al.*, 2009) to assess if there is a preferred chamber. Then from Day 3 to Day 7, mice were trained twice a day. Training consisted in confining the mouse alternatively in one compartment in the presence of the odorant (10µl at 10 Pa in the tea ball) and in the other compartment with no odorant (15 min per session, 4 sessions per day) in a random order. Control mice were confined alternatively in one and the other compartment with no odor in any compartment. Pleasant odorants were paired to the less attractive compartment whereas unpleasant odorants were paired to the preferred compartment. At the end of the conditioning period (on Day 8), all mice have been tested without odorant, similarly to the pre-conditioning test: animals were allowed to freely explore all the chambers for 15 minutes and the time spent in each compartment was video recorded.

Statistics

For each experimental group, a CPP score was calculated (post-pre conditioning time spent in the odor paired compartment) to determine the effect of odor conditioning on place preference (Huston *et al.*, 2013).

Average scores were calculated within each experimental group. Normality was verified using Kolmogorov Smirnov test and unilateral T-tests were used to compare CPP score to 0 (meaning no time variation between the pre and the post conditioning).

D1 receptor blockade during CPP.

CPP protocol

To determine the implication of the dopaminergic system during odor CPP, 10 mice have been injected with a specific D1 receptor antagonist (SCH 23390; 0.03mg/kg ip) 15min before each mice confinement in the compartment containing the odorant (Lim). Saline solution has been injected 15min before each mice confinement in the compartment containing no odor. The interval between each session was set at 2h30 to allow body elimination of the drug (half-life 40 minutes (Hietala *et al.*, 1992)). The protocol of CPP and its analysis were similar as previously.

Test of olfactory detection

Because the olfactory bulb contains dopaminergic neurons, we verified that the use of dopaminergic antagonist at the dose of 0.03mg/kg does not alter olfactory detection. We thus used habituation/dishabituation paradigm (n=8). Mice were tested on 3 trials of 2 min in which mineral oil (no odor condition, NO) was placed in the tea ball (habituation phase); during each trial, investigation time of tea ball was recorded (active sniffing 1cm around the tea ball, using Volcan). For the test trial (dishabituation phase), the odorant used for CPP was placed at the same concentration into the tea ball. Anova for repeated measure was used to assess habituation (NO1 to NO3) and t-test for discrimination (NO versus Lim). For all of these analyses, normality verified with Kolmogorov Smirnov test.

Locomotion test

Because dopamine is known to have an important role on locomotor activity, we analyzed the mice locomotion during 2 min, 20 min after SCH 23390 injection (n=9) or saline injection (n=10) using Volcan software. Distance covered, maximal and average speeds were analyzed using T-test (Normality and homoscedasticity were verified using Kolmogorov Smirnov and Levene tests respectively).

Optogenetic experiment.

Lentivirus injection and optical fiber implantation in the olfactory bulb

Prior to surgery, 24 mice were anaesthetized with an intraperitoneal cocktail injection of 50 mg/kg ketamine and 7.5 mg/kg xylazine and secured in a stereotaxic instrument (Narishige Scientific

Instruments, Tokyo, Japan). 150 nl of pLenti-hSyn-eNpHR3.0-EYFP lentivirus ($9,22 \times 10^6$ IU/ml, expressing halorhodopsin and the yellow fluorescent protein) were injected bilaterally in posterior olfactory bulb (with respect to the bregma: AP, +4.3 mm; ML, ± 0.75 ; DV, -2 mm; n=7), and in the anterior olfactory bulb (with respect to the bregma: AP, +5 mm; ML, ± 0.75 ; DV, -2 mm; n=8). 300nl of control pLenti-hSyn-EYFP lentivirus ($1,1 \times 10^6$ IU/ml, expressing only YFP; n=9) were injected bilaterally in posterior olfactory bulb at the rate of 150 nl/min (Figure 4). Following virus infusions, a dual optical fiber (200-nm core diameter, 0.22 N.A.; Doric Lenses) was implanted into the olfactory bulb at the same coordinates as the virus infusion. The pLenti-hSyn-eNpHR 3.0-EYFP was a gift from Karl Deisseroth (Gradinaru *et al.*, 2010) and obtained through Addgene (plasmid #26775). The control pLenti-hSyn-EYFP lentivirus (empty virus containing only the EYFP insert) was obtained from the pLenti-hSyn-eNpHR 3.0-EYFP plasmid by PCR amplification of the EYFP sequence and insertion into the pLenti-hSyn-eNpHR 3.0-EYFP backbone by recombination (In-fusion cloning kit, Clontech).

Optical self-stimulation in freely moving animals

8 weeks after surgery, mice underwent in the conditioning phases in which they were allowed to move freely on the one-hole-board apparatus for 2 min trial during 5 days. The bilateral continuous light stimulation (crystal laser, 561 nm, 10–15 mW) was automatically triggered by the entry of the mouse's nose within 1 cm (light-triggering zone) of the hole (VideoTrack, Viewpoint) and stopped automatically when the mouse's nose exited the zone. This phase was followed by an extinction phase in which the nose presence in the zone did not trigger light stimulation anymore and one last session in which light stimulation was on again. Total duration of nose time spent in the zone was recorded.

Control of light-triggered inhibition

Mice were sacrificed one hour after the last behavioral session using pentobarbital (0.2 ml/30 g) and intracardiac perfusion of 50 ml of fixative (PFA 4%, pH = 7.4). Olfactory bulb sections were double stained by an immunohistochemistry of YFP/c-Fos proteins to control the inhibition of injected granule cells by light stimulation. Briefly, rabbit anti-c-Fos (1 :5, 000 ; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA, ref : Sc-189) and chicken anti-YFP (1 :1, 000 ; Anaspec TEBU, ref: 55423) primary antibodies were combined respectively with Alexa 546 goat anti-rabbit (1:200; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) and Alexa 488 goat anti-chicken (1:200 ; Molecular Probes) antibodies. Olfactory bulb sections were cover-slipped in Vectashield combined with Dapi (Vector laboratories).

The density of YFP+ and the percentage of double-stained cells (YFP+/c-Fos+) was manually counted in the ventral olfactory bulb on 2 sections (inter section interval = 210 μ m) in the injection site and on 2 sections at the rostro-caudal opposite side of the injection site, using AxioVision (Zeiss) software coupled to a fluorescent pseudo-confocal Zeiss microscope. Counting was performed blind with regards to the identity of the animal.

Statistics.

All statistical analyses were performed using Statistica. A Kolmogorov-Smirnov test was used to assess normality of the data and variance was assessed using Levene test. Parametric or non-parametric tests were performed consequently. Group comparisons were made using one or two-way ANOVA, Friedman ANOVA or Kruskal-Wallis test. Tests for differences between two populations were performed using one-sample T-test, Mann-Whitney U test and permutations, Wilcoxon test, unpaired or paired Student's t test.

No statistical methods were used to predetermine sample sizes, but our sample sizes were similar to those reported in previous publications (Moreno *et al.*, 2009; Mandairon *et al.*, 2011; Sultan *et al.*, 2011; Moreno *et al.*, 2012; Kermen *et al.*, 2016). Data collection and animal assignment to the various experimental groups were randomized.

REFERENCES

- Abercrombie, E.D., Keefe, K.A., DiFrischia, D.S. & Zigmond, M.J. (1989) Differential effect of stress on in vivo dopamine release in striatum, nucleus accumbens, and medial frontal cortex. *Journal of neurochemistry*, **52**, 1655-1658.
- Ackerl, K., Atzmueller, M. & Grammer, K. (2002) The scent of fear. *Neuro endocrinology letters*, **23**, 79-84.
- Adjei, S., Houck, A.L., Ma, K. & Wesson, D.W. (2013) Age-dependent alterations in the number, volume, and localization of islands of Calleja within the olfactory tubercle. *Neurobiology of aging*, **34**, 2676-2682.
- Adjei, S. & Wesson, D.W. (2015) Laminar and spatial localization of the islands of Calleja in mice. *Neuroscience*, **287**, 137-143.
- Agustin-Pavon, C., Martinez-Garcia, F. & Lanuza, E. (2014) Focal lesions within the ventral striato-pallidum abolish attraction for male chemosignals in female mice. *Behavioural brain research*, **259**, 292-296.
- Anderson, A.K., Christoff, K., Stappen, I., Panitz, D., Ghahremani, D.G., Glover, G., Gabrieli, J.D. & Sobel, N. (2003) Dissociated neural representations of intensity and valence in human olfaction. *Nature neuroscience*, **6**, 196-202.
- Anstrom, K.K. & Woodward, D.J. (2005) Restraint increases dopaminergic burst firing in awake rats. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, **30**, 1832-1840.
- Bakhurin, K.I., Mac, V., Golshani, P. & Masmanidis, S.C. (2016) Temporal correlations among functionally specialized striatal neural ensembles in reward-conditioned mice. *Journal of neurophysiology*, **115**, 1521-1532.
- Barnes, D.C., Chapuis, J., Chaudhury, D. & Wilson, D.A. (2011) Odor fear conditioning modifies piriform cortex local field potentials both during conditioning and during post-conditioning sleep. *PloS one*, **6**, e18130.
- Bassareo, V., De Luca, M.A. & Di Chiara, G. (2002) Differential Expression of Motivational Stimulus Properties by Dopamine in Nucleus Accumbens Shell versus Core and Prefrontal Cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **22**, 4709-4719.
- Benjamini, Y. & Hochberg, Y. (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B (Methodological)*, 289-300.
- Bensafi, M., Iannilli, E., Poncelet, J., Seo, H.S., Gerber, J., Rouby, C. & Hummel, T. (2012) Dissociated representations of pleasant and unpleasant olfacto-trigeminal mixtures: an fMRI study. *PloS one*, **7**, e38358.

- Bensafi, M., Porter, J., Pouliot, S., Mainland, J., Johnson, B., Zelano, C., Young, N., Bremner, E., Aframian, D., Khan, R. & Sobel, N. (2003) Olfactomotor activity during imagery mimics that during perception. *Nature neuroscience*, **6**, 1142-1144.
- Bensafi, M., Sobel, N. & Khan, R.M. (2007) Hedonic-specific activity in piriform cortex during odor imagery mimics that during odor perception. *Journal of neurophysiology*, **98**, 3254-3262.
- Berlyne, D.E. (1950) Novelty and curiosity as determinants of exploratory behaviour. *British Journal of Psychology. General*, **Section**, **41**, 68-80.
- Berlyne, D.E. (1960) Conflict, arousal, and curiosity. *McGraw-Hill, New York, NY*.
- Berridge, K.C. & Kringelbach, M.L. (2015) Pleasure systems in the brain. *Neuron*, **86**, 646-664.
- Bissonette, G.B., Burton, A.C., Gentry, R.N., Goldstein, B.L., Hearn, T.N., Barnett, B.R., Kashtelyan, V. & Roesch, M.R. (2013) Separate populations of neurons in ventral striatum encode value and motivation. *PloS one*, **8**, e64673.
- Brischoux, F., Chakraborty, S., Brierley, D.I. & Ungless, M.A. (2009) Phasic excitation of dopamine neurons in ventral VTA by noxious stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 4894-4899.
- Broadwell, R.D. (1975) Olfactory relationships of the telencephalon and diencephalon in the rabbit. I. An autoradiographic study of the efferent connections of the main and accessory olfactory bulbs. *The Journal of comparative neurology*, **163**, 329-345.
- Bromberg-Martin, E.S., Matsumoto, M. & Hikosaka, O. (2010) Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. *Neuron*, **68**, 815-834.
- Calu, D.J., Roesch, M.R., Stalnaker, T.A. & Schoenbaum, G. (2007) Associative encoding in posterior piriform cortex during odor discrimination and reversal learning. *Cerebral cortex*, **17**, 1342-1349.
- Caous, C.A. (2015) Modulation of cerebral haemodynamic response to olfactory stimuli by emotional valence detected by functional magnetic resonance imaging. *Dement. neuropsychol.*, **9**, 405-412.
- Carlson, K.S., Dillione, M.R. & Wesson, D.W. (2014) Odor- and state-dependent olfactory tubercle local field potential dynamics in awake rats. *Journal of neurophysiology*, **111**, 2109-2123.
- Chiang, E. & Strowbridge, B.W. (2007) Diversity of neural signals mediated by multiple, burst-firing mechanisms in rat olfactory tubercle neurons. *Journal of neurophysiology*, **98**, 2716-2728.
- Cleland, T.A. & Linster, C. (2003) Central olfactory processing. In Doty, R.L. (ed.), *Handbook of Olfaction and Gustation*, 2nd ed. *Marcel Dekker, New York*, 165-180.
- Cleland, T.A., Morse, A., Yue, E.L. & Linster, C. (2002) Behavioral models of odor similarity. *Behavioral neuroscience*, **116**, 222-231.
- Cohen, J.Y., Haesler, S., Vong, L., Lowell, B.B. & Uchida, N. (2012) Neuron-type-specific signals for reward and punishment in the ventral tegmental area. *Nature*, **482**, 85-88.
- Cruz, F.C., Koya, E., Guez-Barber, D.H., Bossert, J.M., Lupica, C.R., Shaham, Y. & Hope, B.T. (2013) New technologies for examining the role of neuronal ensembles in drug addiction and fear. *Nature reviews. Neuroscience*, **14**, 743-754.
- Devore, S., Lee, J. & Linster, C. (2013) Odor preferences shape discrimination learning in rats. *Behavioral neuroscience*, **127**, 498-504.
- DiBenedictis, B.T., Olugbemi, A.O., Baum, M.J. & Cherry, J.A. (2014) 6-Hydroxydopamine lesions of the anteromedial ventral striatum impair opposite-sex urinary odor preference in female mice. *Behavioural brain research*, **274**, 243-247.
- DiBenedictis, B.T., Olugbemi, A.O., Baum, M.J. & Cherry, J.A. (2015) DREADD-Induced Silencing of the Medial Olfactory Tubercle Disrupts the Preference of Female Mice for Opposite-Sex Chemosignals(1,2,3). *eNeuro*, **2**.
- Dielenberg, R.A., Hunt, G.E. & McGregor, I.S. (2001) "When a rat smells a cat": the distribution of Fos immunoreactivity in rat brain following exposure to a predatory odor. *Neuroscience*, **104**, 1085-1097.

- Dubois, D. & Rouby, C. (2002) Names and Categories for Odors: The Veridical Label. In: Olfaction, Taste, and Cognition (Rouby C, Schaal B, Dubois D, Gervais R, Holley A, Rouby C, Schaal B, Dubois D, Gervais R, Holley A, eds). *Cambridge: Cambridge University Press*, 47–66.
- Edgington, E. & Onghena, P. (2007) Randomization tests. *New York, Chapman & Hall*.
- Fallon, J.H., Riley, J.N., Sipe, J.C. & Moore, R.Y. (1978) The islands of Calleja: organization and connections. *The Journal of comparative neurology*, **181**, 375-395.
- Fillion, T.J. & Blass, E.M. (1986) Infantile experience with suckling odors determines adult sexual behavior in male rats. *Science*, **231**, 729-731.
- Fitzgerald, B.J., Richardson, K. & Wesson, D.W. (2014) Olfactory tubercle stimulation alters odor preference behavior and recruits forebrain reward and motivational centers. *Frontiers in behavioral neuroscience*, **8**, 81.
- Frankland, P.W., Bontempi, B., Talton, L.E., Kaczmarek, L. & Silva, A.J. (2004) The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science*, **304**, 881-883.
- Gadziola, M.A., Tylicki, K.A., Christian, D.L. & Wesson, D.W. (2015) The olfactory tubercle encodes odor valence in behaving mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **35**, 4515-4527.
- Gadziola, M.A. & Wesson, D.W. (2016) The Neural Representation of Goal-Directed Actions and Outcomes in the Ventral Striatum's Olfactory Tubercle. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **36**, 548-560.
- Golden, S.A., Heshmati, M., Flanigan, M., Christoffel, D.J., Guise, K., Pfau, M.L., Aleyasin, H., Menard, C., Zhang, H., Hodes, G.E., Bregman, D., Khibnik, L., Tai, J., Rebusi, N., Krawitz, B., Chaudhury, D., Walsh, J.J., Han, M.H., Shapiro, M.L. & Russo, S.J. (2016) Basal forebrain projections to the lateral habenula modulate aggression reward. *Nature*, **534**, 688-692.
- Gottfried, J.A., O'Doherty, J. & Dolan, R.J. (2002) Appetitive and aversive olfactory learning in humans studied using event-related functional magnetic resonance imaging. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **22**, 10829-10837.
- Gottfried, J.A. & Zald, D.H. (2005) On the scent of human olfactory orbitofrontal cortex: meta-analysis and comparison to non-human primates. *Brain research. Brain research reviews*, **50**, 287-304.
- Grabenhorst, F., Rolls, E.T., Margot, C., da Silva, M.A. & Velazco, M.I. (2007) How pleasant and unpleasant stimuli combine in different brain regions: odor mixtures. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **27**, 13532-13540.
- Gradinaru, V., Zhang, F., Ramakrishnan, C., Mattis, J., Prakash, R., Diester, I., Goshen, I., Thompson, K.R. & Deisseroth, K. (2010) Molecular and cellular approaches for diversifying and extending optogenetics. *Cell*, **141**, 154-165.
- Guarraci, F.A. & Kapp, B.S. (1999) An electrophysiological characterization of ventral tegmental area dopaminergic neurons during differential pavlovian fear conditioning in the awake rabbit. *Behavioural brain research*, **99**, 169-179.
- Haber, S.N. (2011) Neuroanatomy of Reward: A View from the Ventral Striatum. In Gottfried, J.A. (ed) *Neurobiology of Sensation and Reward*, Boca Raton (FL).
- Hegoburu, C., Sevelinges, Y., Thevenet, M., Gervais, R., Parrot, S. & Mouly, A.M. (2009) Differential dynamics of amino acid release in the amygdala and olfactory cortex during odor fear acquisition as revealed with simultaneous high temporal resolution microdialysis. *Learning & memory*, **16**, 687-697.
- Heimer, L. (2003) A new neuroanatomical framework for neuropsychiatric disorders and drug abuse. *Am J Psychiatry*, **160**, 1726–1739.
- Hietala, J., Seppala, T., Lappalainen, J. & Syvalahti, E. (1992) Quantification of SCH 39166, a novel selective D1 dopamine receptor antagonist, in rat brain and blood. *Psychopharmacology*, **106**, 455-458.
- Hitt, J.C., Bryon, D.M. & Modianos, D.T. (1973) Effects of rostral medial forebrain bundle and olfactory tubercle lesions upon sexual behavior of male rats. *Journal of comparative and physiological psychology*, **82**, 30-36.
- Hoffman, D.C. & Beninger, R.J. (1985) The D1 dopamine receptor antagonist, SCH 23390 reduces locomotor activity and rearing in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **22**, 341-342.

- Hong, S., Jhou, T.C., Smith, M., Saleem, K.S. & Hikosaka, O. (2011) Negative reward signals from the lateral habenula to dopamine neurons are mediated by rostromedial tegmental nucleus in primates. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **31**, 11457-11471.
- Howard, J.D., Plailly, J., Grueschow, M., Haynes, J.D. & Gottfried, J.A. (2009) Odor quality coding and categorization in human posterior piriform cortex. *Nature neuroscience*, **12**, 932-938.
- Hsieh, Y.C. & Puche, A.C. (2013) Development of the Islands of Calleja. *Brain research*, **1490**, 52-60.
- Huston, J.P., Silva, M.A., Topic, B. & Muller, C.P. (2013) What's conditioned in conditioned place preference? *Trends in pharmacological sciences*, **34**, 162-166.
- Ikemoto, S. (2003) Involvement of the olfactory tubercle in cocaine reward: intracranial self-administration studies. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **23**, 9305-9311.
- Ikemoto, S. (2007) Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain research reviews*, **56**, 27-78.
- Ikemoto, S. (2010) Brain reward circuitry beyond the mesolimbic dopamine system: a neurobiological theory. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **35**, 129-150.
- Ikemoto, S. & Bonci, A. (2014) Neurocircuitry of drug reward. *Neuropharmacology*, **76 Pt B**, 329-341.
- Ikemoto, S., Qin, M. & Liu, Z.H. (2005) The functional divide for primary reinforcement of D-amphetamine lies between the medial and lateral ventral striatum: is the division of the accumbens core, shell, and olfactory tubercle valid? *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **25**, 5061-5065.
- Jalabert, M., Bourdy, R., Courtin, J., Veinante, P., Manzoni, O.J., Barrot, M. & Georges, F. (2011) Neuronal circuits underlying acute morphine action on dopamine neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 16446-16450.
- Jhou, T.C., Fields, H.L., Baxter, M.G., Saper, C.B. & Holland, P.C. (2009) The rostromedial tegmental nucleus (RMTg), a GABAergic afferent to midbrain dopamine neurons, encodes aversive stimuli and inhibits motor responses. *Neuron*, **61**, 786-800.
- Jhou, T.C., Xu, S.P., Lee, M.R., Gallen, C.L. & Ikemoto, S. (2012) Mapping of reinforcing and analgesic effects of the mu opioid agonist endomorphin-1 in the ventral midbrain of the rat. *Psychopharmacology*, **224**, 303-312.
- Johnson, S.W. & North, R.A. (1992) Two types of neurone in the rat ventral tegmental area and their synaptic inputs. *The Journal of physiology*, **450**, 455-468.
- Kermen, F., Chakirian, A., Sezille, C., Jousain, P., Le Goff, G., Ziessel, A., Chastrette, M., Mandairon, N., Didier, A., Rouby, C. & Bensafi, M. (2011) Molecular complexity determines the number of olfactory notes and the pleasantness of smells. *Scientific reports*, **1**, 206.
- Kermen, F., Midroit, M., Kuczewski, N., Forest, J., Thevenet, M., Sacquet, J., Benetollo, C., Richard, M., Didier, A. & Mandairon, N. (2016) Topographical representation of odor hedonics in the olfactory bulb. *Nature neuroscience*, **19**, 876-878.
- Khan, R.M., Luk, C.H., Flinker, A., Aggarwal, A., Lapid, H., Haddad, R. & Sobel, N. (2007) Predicting odor pleasantness from odorant structure: pleasantness as a reflection of the physical world. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **27**, 10015-10023.
- Kobayakawa, K., Kobayakawa, R., Matsumoto, H., Oka, Y., Imai, T., Ikawa, M., Okabe, M., Ikeda, T., Itoharu, S., Kikusui, T., Mori, K. & Sakano, H. (2007) Innate versus learned odour processing in the mouse olfactory bulb. *Nature*, **450**, 503-508.
- Kovacs, K.J. (2008) Measurement of immediate-early gene activation- c-fos and beyond. *Journal of neuroendocrinology*, **20**, 665-672.
- Lammel, S., Lim, B.K. & Malenka, R.C. (2014) Reward and aversion in a heterogeneous midbrain dopamine system. *Neuropharmacology*, **76 Pt B**, 351-359.
- Laricchiuta, D. & Petrosini, L. (2014) Individual differences in response to positive and negative stimuli: endocannabinoid-based insight on approach and avoidance behaviors. *Frontiers in systems neuroscience*, **8**, 238.

- Lecca, S., Melis, M., Luchicchi, A., Muntoni, A.L. & Pistis, M. (2012) Inhibitory inputs from rostromedial tegmental neurons regulate spontaneous activity of midbrain dopamine cells and their responses to drugs of abuse. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, **37**, 1164-1176.
- Li, Q. & Liberles, S.D. (2015) Aversion and attraction through olfaction. *Current biology : CB*, **25**, R120-129.
- Lowry, C.A. & Kay, L.M. (2007) Chemical factors determine olfactory system beta oscillations in waking rats. *Journal of neurophysiology*, **98**, 394-404.
- Luskin, M.B. & Price, J.L. (1982) 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. *The Journal of comparative neurology*, **209**, 249-263.
- Mainland, J.D., Lundstrom, J.N., Reisert, J. & Lowe, G. (2014) From molecule to mind: an integrative perspective on odor intensity. *Trends in neurosciences*, **37**, 443-454.
- Majak, K., Ronkko, S., Kemppainen, S. & Pitkanen, A. (2004) Projections from the amygdaloid complex to the piriform cortex: A PHA-L study in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **476**, 414-428.
- Mandaïron, N., Poncelet, J., Bensafi, M. & Didier, A. (2009a) Humans and mice express similar olfactory preferences. *PLoS one*, **4**, e4209.
- Mandaïron, N., Sultan, S., Nouvian, M., Sacquet, J. & Didier, A. (2011) Involvement of newborn neurons in olfactory associative learning? The operant or non-operant component of the task makes all the difference. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **31**, 12455-12460.
- Mandaïron, N., Sultan, S., Rey, N., Kermen, F., Moreno, M., Busto, G., Farget, V., Messaoudi, B., Thevenet, M. & Didier, A. (2009b) A computer-assisted odorized hole-board for testing olfactory perception in mice. *Journal of neuroscience methods*, **180**, 296-303.
- Mantz, J., Thierry, A.M. & Glowinski, J. (1989) Effect of noxious tail pinch on the discharge rate of mesocortical and mesolimbic dopamine neurons: selective activation of the mesocortical system. *Brain research*, **476**, 377-381.
- Martinez-Ricos, J., Agustin-Pavon, C., Lanuza, E. & Martinez-Garcia, F. (2007) Intraspecific communication through chemical signals in female mice: reinforcing properties of involatile male sexual pheromones. *Chemical senses*, **32**, 139-148.
- Matsui, A. & Williams, J.T. (2011) Opioid-sensitive GABA inputs from rostromedial tegmental nucleus synapse onto midbrain dopamine neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **31**, 17729-17735.
- Matsumoto, M. & Hikosaka, O. (2009) Two types of dopamine neuron distinctly convey positive and negative motivational signals. *Nature*, **459**, 837-841.
- Maviel, T., Durkin, T.P., Menzaghi, F. & Bontempi, B. (2004) Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science*, **305**, 96-99.
- McReynolds, J.R., Taylor, A., Vranjkovic, O., Ambrosius, T., Derricks, O., Nino, B., Kurtoglu, B., Wheeler, R.A., Baker, D.A., Gasser, P.J. & Mantsch, J.R. (2017) Corticosterone Potentiation of Cocaine-Induced Reinstatement of Conditioned Place Preference in Mice is Mediated by Blockade of the Organic Cation Transporter 3. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, **42**, 757-765.
- Menegas, W., Babayan, B.M., Uchida, N. & Watabe-Uchida, M. (2017) Opposite initialization to novel cues in dopamine signaling in ventral and posterior striatum in mice. *eLife*, **6**.
- Millhouse, O.E. & Heimer, L. (1984) Cell configurations in the olfactory tubercle of the rat. *The Journal of comparative neurology*, **228**, 571-597.
- Moncho-Bogani, J., Martinez-Garcia, F., Novejarque, A. & Lanuza, E. (2005) Attraction to sexual pheromones and associated odorants in female mice involves activation of the reward system and basolateral amygdala. *The European journal of neuroscience*, **21**, 2186-2198.
- Moreno, M.M., Bath, K., Kuczewski, N., Sacquet, J., Didier, A. & Mandaïron, N. (2012) Action of the noradrenergic system on adult-born cells is required for olfactory learning in mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **32**, 3748-3758.

- Moreno, M.M., Linster, C., Escanilla, O., Sacquet, J., Didier, A. & Mandairon, N. (2009) Olfactory perceptual learning requires adult neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 17980-17985.
- Moriceau, S. & Sullivan, R.M. (2004) Unique neural circuitry for neonatal olfactory learning. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **24**, 1182-1189.
- Moriceau, S., Wilson, D.A., Levine, S. & Sullivan, R.M. (2006) Dual circuitry for odor-shock conditioning during infancy: corticosterone switches between fear and attraction via amygdala. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **26**, 6737-6748.
- Murata, K., Kanno, M., Ieki, N., Mori, K. & Yamaguchi, M. (2015) Mapping of Learned Odor-Induced Motivated Behaviors in the Mouse Olfactory Tubercle. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **35**, 10581-10599.
- Nazarian, A., Russo, S.J., Festa, E.D., Kraish, M. & Quinones-Jenab, V. (2004) The role of D1 and D2 receptors in the cocaine conditioned place preference of male and female rats. *Brain research bulletin*, **63**, 295-299.
- Okuyama, T., Kitamura, T., Roy, D.S., Itohara, S. & Tonegawa, S. (2016) Ventral CA1 neurons store social memory. *Science*, **353**, 1536-1541.
- Olds, J. & Milner, P. (1954) Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of comparative and physiological psychology*, **47**, 419-427.
- Perry, R.E., Al Ain, S., Raineke, C., Sullivan, R.M. & Wilson, D.A. (2016) Development of Odor Hedonics: Experience-Dependent Ontogeny of Circuits Supporting Maternal and Predator Odor Responses in Rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **36**, 6634-6650.
- Phillips, A.G. & Mogenson, G.J. (1969) Self-stimulation of the olfactory bulb. *Physiology & behavior*, **4**, 195-196.
- Pina, M.M. & Cunningham, C.L. (2014) Effects of dopamine receptor antagonists on the acquisition of ethanol-induced conditioned place preference in mice. *Psychopharmacology*, **231**, 459-468.
- Prado-Alcala, R. & Wise, R.A. (1984) Brain stimulation reward and dopamine terminal fields. I. Caudate-putamen, nucleus accumbens and amygdala. *Brain research*, **297**, 265-273.
- Prehn, A., Ohrt, A., Sojka, B., Ferstl, R. & Pause, B.M. (2006) Chemosensory anxiety signals augment the startle reflex in humans. *Neuroscience letters*, **394**, 127-130.
- Price, J.L. (1973) An autoradiographic study of complementary laminar patterns of termination of afferent fibers to the olfactory cortex. *The Journal of comparative neurology*, **150**, 87-108.
- Price, J.L. & Powell, T.P. (1971) Certain observations on the olfactory pathway. *Journal of anatomy*, **110**, 105-126.
- Redondo, R.L., Kim, J., Arons, A.L., Ramirez, S., Liu, X. & Tonegawa, S. (2014) Bidirectional switch of the valence associated with a hippocampal contextual memory engram. *Nature*, **513**, 426-430.
- Renier, N., Adams, E.L., Kirst, C., Wu, Z., Azevedo, R., Kohl, J., Autry, A.E., Kadiri, L., Umadevi Venkataraju, K., Zhou, Y., Wang, V.X., Tang, C.Y., Olsen, O., Dulac, C., Osten, P. & Tessier-Lavigne, M. (2016) Mapping of Brain Activity by Automated Volume Analysis of Immediate Early Genes. *Cell*, **165**, 1789-1802.
- Richardson, J.T. & Zucco, G.M. (1989) Cognition and olfaction: a review. *Psychological bulletin*, **105**, 352-360.
- Robbins, T.W. & Everitt, B.J. (1996) Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Current opinion in neurobiology*, **6**, 228-236.
- Roesch, M.R., Singh, T., Brown, P.L., Mullins, S.E. & Schoenbaum, G. (2009) Ventral striatal neurons encode the value of the chosen action in rats deciding between differently delayed or sized rewards. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **29**, 13365-13376.
- Rolls, E.T., Kringelbach, M.L. & de Araujo, I.E. (2003) Different representations of pleasant and unpleasant odours in the human brain. *The European journal of neuroscience*, **18**, 695-703.
- Root, C.M., Denny, C.A., Hen, R. & Axel, R. (2014) The participation of cortical amygdala in innate, odour-driven behaviour. *Nature*, **515**, 269-273.

- Rouby, C., Pouliot, S. & Bensafi, M. (2009) Odor hedonics and their modulators. *Food Quality and Preference*, **20**, 545–549.
- Royet, J.P., Plailly, J., Delon-Martin, C., Kareken, D.A. & Segebarth, C. (2003) fMRI of emotional responses to odors: influence of hedonic valence and judgment, handedness, and gender. *NeuroImage*, **20**, 713-728.
- Sadrian, B. & Wilson, D.A. (2015) Optogenetic Stimulation of Lateral Amygdala Input to Posterior Piriform Cortex Modulates Single-Unit and Ensemble Odor Processing. *Frontiers in neural circuits*, **9**, 81.
- Schiffman, S.S. (1974) Contributions to the physicochemical dimensions of odor: a psychophysical approach. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **237**, 164-183.
- Schindler, C.W. & Carmona, G.N. (2002) Effects of dopamine agonists and antagonists on locomotor activity in male and female rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **72**, 857-863.
- Schoenbaum, G., Chiba, A.A. & Gallagher, M. (1999) Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **19**, 1876-1884.
- Schoenbaum, G., Setlow, B., Nugent, S.L., Saddoris, M.P. & Gallagher, M. (2003) Lesions of orbitofrontal cortex and basolateral amygdala complex disrupt acquisition of odor-guided discriminations and reversals. *Learning & memory*, **10**, 129-140.
- Schultz, W. (2015) Neuronal Reward and Decision Signals: From Theories to Data. *Physiological reviews*, **95**, 853-951.
- Scott, J.W., McBride, R.L. & Schneider, S.P. (1980) The organization of projections from the olfactory bulb to the piriform cortex and olfactory tubercle in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **194**, 519-534.
- Sevelinges, Y., Gervais, R., Messaoudi, B., Granjon, L. & Mouly, A.M. (2004) Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala. *Learning & memory*, **11**, 761-769.
- Sevelinges, Y., Moriceau, S., Holman, P., Miner, C., Muzny, K., Gervais, R., Mouly, A.M. & Sullivan, R.M. (2007) Enduring effects of infant memories: infant odor-shock conditioning attenuates amygdala activity and adult fear conditioning. *Biological psychiatry*, **62**, 1070-1079.
- Steffensen, S.C., Svingos, A.L., Pickel, V.M. & Henriksen, S.J. (1998) Electrophysiological characterization of GABAergic neurons in the ventral tegmental area. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **18**, 8003-8015.
- Striano, B.M., Barker, D.J., Pawlak, A.P., Root, D.H., Fabbriatore, A.T., Coffey, K.R., Stamos, J.P. & West, M.O. (2014) Olfactory tubercle neurons exhibit slow-phasic firing patterns during cocaine self-administration. *Synapse*, **68**, 321-323.
- Sullivan, R.M. & Wilson, D.A. (1991) Neural correlates of conditioned odor avoidance in infant rats. *Behavioral neuroscience*, **105**, 307-312.
- Sullivan, R.M. & Wilson, D.A. (1993) Role of the amygdala complex in early olfactory associative learning. *Behavioral neuroscience*, **107**, 254-263.
- Sullivan, R.M., Wilson, D.A., Wong, R., Correa, A. & Leon, M. (1990) Modified behavioral and olfactory bulb responses to maternal odors in preweanling rats. *Brain research. Developmental brain research*, **53**, 243-247.
- Sultan, S., Rey, N., Sacquet, J., Mandairon, N. & Didier, A. (2011) Newborn neurons in the olfactory bulb selected for long-term survival through olfactory learning are prematurely suppressed when the olfactory memory is erased. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **31**, 14893-14898.
- Tahsili-Fahadan, P., Yahyavi-Firouz-Abadi, N., Khoshnoodi, M.A., Motiei-Langroudi, R., Tahaei, S.A., Ghahremani, M.H. & Dehpour, A.R. (2006) Agmatine potentiates morphine-induced conditioned place preference in mice: modulation by alpha2-adrenoceptors. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, **31**, 1722-1732.
- Tan, K.R., Yvon, C., Turiault, M., Mirzabekov, J.J., Doehner, J., Labouebe, G., Deisseroth, K., Tye, K.M. & Luscher, C. (2012) GABA neurons of the VTA drive conditioned place aversion. *Neuron*, **73**, 1173-1183.
- Ungless, M.A., Argilli, E. & Bonci, A. (2010) Effects of stress and aversion on dopamine neurons: implications for addiction. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **35**, 151-156.

- Varga, A.G. & Wesson, D.W. (2013) Distributed auditory sensory input within the mouse olfactory cortex. *The European journal of neuroscience*, **37**, 564-571.
- Vrontou, S., Wong, A.M., Rau, K.K., Koerber, H.R. & Anderson, D.J. (2013) Genetic identification of C fibres that detect massage-like stroking of hairy skin in vivo. *Nature*, **493**, 669-673.
- Welker, W.I. (1957) "Free" versus "forced" exploration of a novel situation by rats. *Psychological Reports*, **3**, 95-108.
- Wernecke, K.E. & Fendt, M. (2015) The olfactory hole-board test in rats: a new paradigm to study aversion and preferences to odors. *Frontiers in behavioral neuroscience*, **9**, 223.
- Wesson, D.W. & Wilson, D.A. (2010) Smelling sounds: olfactory-auditory sensory convergence in the olfactory tubercle. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **30**, 3013-3021.
- Wesson, D.W. & Wilson, D.A. (2011) Sniffing out the contributions of the olfactory tubercle to the sense of smell: hedonics, sensory integration, and more? *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **35**, 655-668.
- Wieland, S., Schindler, S., Huber, C., Kohr, G., Oswald, M.J. & Kelsch, W. (2015) Phasic Dopamine Modifies Sensory-Driven Output of Striatal Neurons through Synaptic Plasticity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **35**, 9946-9956.
- Wilson, D.A. & Stevenson, R.J. (2003) The fundamental role of memory in olfactory perception. *Trends in neurosciences*, **26**, 243-247.
- Wilson, D.A. & Sullivan, R.M. (2011) Cortical processing of odor objects. *Neuron*, **72**, 506-519.
- Winston, J.S., Gottfried, J.A., Kilner, J.M. & Dolan, R.J. (2005) Integrated neural representations of odor intensity and affective valence in human amygdala. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **25**, 8903-8907.
- Wisman, A. & Shrira, I. (2015) The smell of death: evidence that putrescine elicits threat management mechanisms. *Frontiers in psychology*, **6**, 1274.
- Xia, C.Z., Adjei, S. & Wesson, D.W. (2015) Coding of odor stimulus features among secondary olfactory structures. *Journal of neurophysiology*, **114**, 736-745.
- Xia, Y., Driscoll, J.R., Wilbrecht, L., Margolis, E.B., Fields, H.L. & Hjelmstad, G.O. (2011) Nucleus accumbens medium spiny neurons target non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **31**, 7811-7816.
- Xiong, A. & Wesson, D.W. (2016) Illustrated Review of the Ventral Striatum's Olfactory Tubercle. *Chemical senses*, **41**, 549-555.
- Yeshurun, Y. & Sobel, N. (2010) An odor is not worth a thousand words: from multidimensional odors to unidimensional odor objects. *Annual review of psychology*, **61**, 219-241, C211-215.
- Young, A.M. (2004) Increased extracellular dopamine in nucleus accumbens in response to unconditioned and conditioned aversive stimuli: studies using 1 min microdialysis in rats. *Journal of neuroscience methods*, **138**, 57-63.
- Zald, D.H. & Pardo, J.V. (1997) Emotion, olfaction, and the human amygdala: amygdala activation during aversive olfactory stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 4119-4124.
- Zou, L.Q., van Hartevelt, T.J., Kringelbach, M.L., Cheung, E.F. & Chan, R.C. (2016) The neural mechanism of hedonic processing and judgment of pleasant odors: An activation likelihood estimation meta-analysis. *Neuropsychology*, **30**, 970-979.

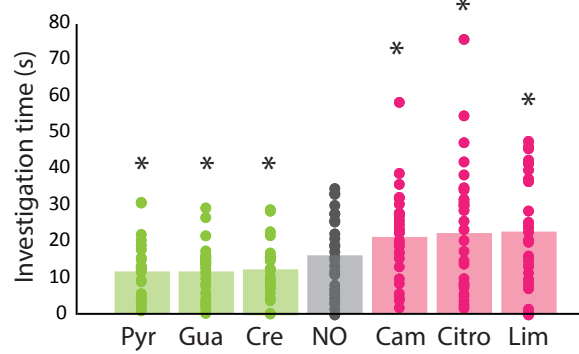
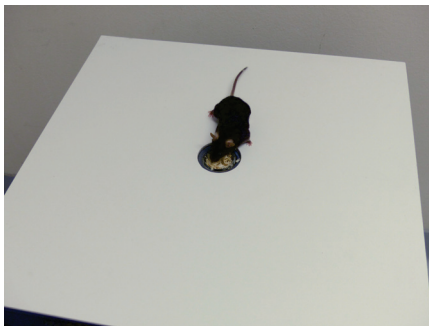


Figure 1. Investigation times for a panel of unexperienced odorants without biological significance in mice. The duration of nose-poking, automatically measured on an one-hole-board apparatus during 120-seconds trials, varies for the 6 odorants pyridine (Pyr), guaiacol (Gua), p-cresol (Cre), citronellol (Citro), +limonene (Lim), camphor (Cam) and mineral oil control no odor condition (NO) (n=30; odor effect, Friedman $p=0.0001$ and unilateral Wilcoxon $* p<0.05$ for difference from NO). Bars represent means of individual data points.

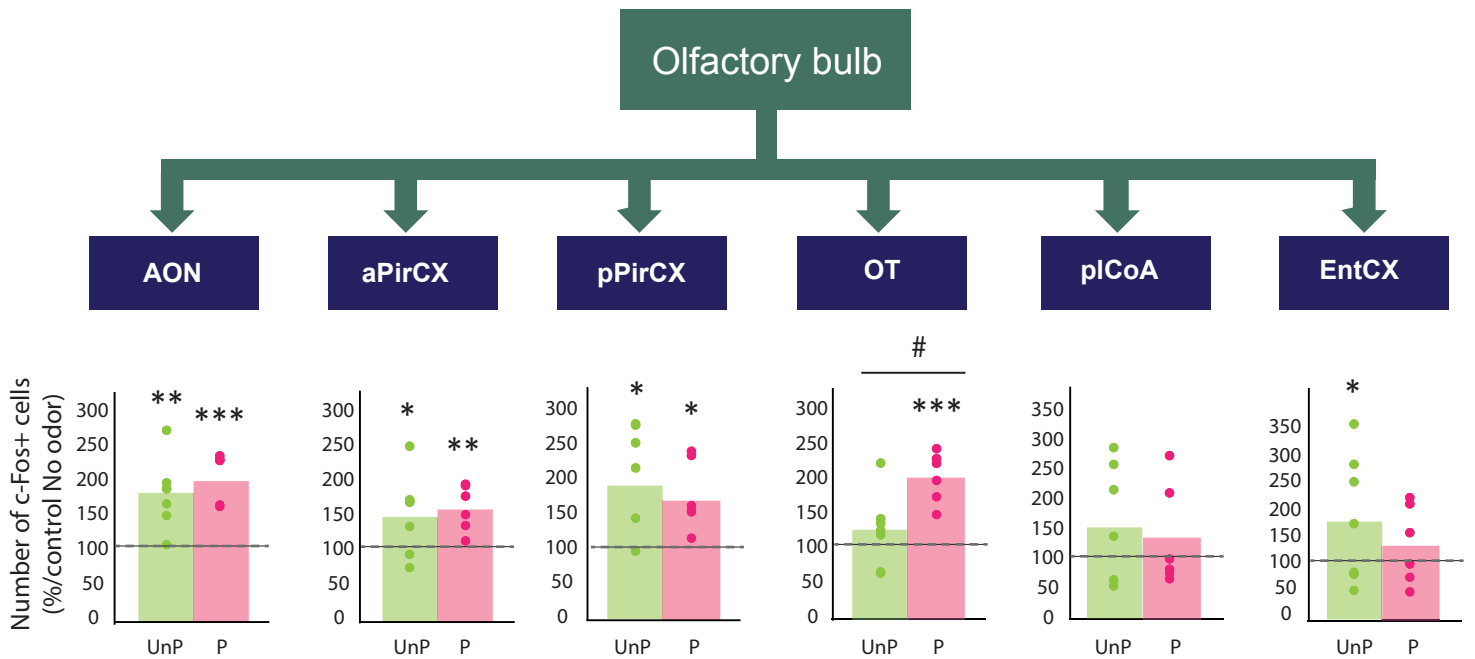


Figure 2. The secondary olfactory structures respond to the olfactory stimulation regardless the intrinsic hedonic value except the olfactory tubercle. c-Fos expression is modulated by odor stimulation in different secondary olfactory structures (AON, aPirCx, pPirCx, OT, pLCoA, EntCx; Anova structure effect $F(5, 82)=23.33, p<0.0001$; Anova odor effect $F(2, 82)=15.06 p<0.0001$). For each hedonic condition (Unpleasant (UnP, $n=7$ mice) and Pleasant (P, $n=6$ mice)) the number of c-Fos+ cells in the entire structure is expressed as a percentage of the no odor condition ($n=4$ mice) and analyzed by one sample t-test for difference to 100% (* $p<0.05$; ** $p<0.001$; *** $p<0.0001$). No difference in c-Fos+ cells in response to UnP vs P odorants is observed in the secondary olfactory structure except for the OT (two-tailed unpaired t-test # $p=0.012$). Values represent mean number of c-Fos+ cells in the entire structure as a percentage of the control no odor. Abbreviations: anterior olfactory nucleus, AON; anterior piriform cortex, aPirCx; posterior piriform cortex, pPirCx, postero-lateral cortical amygdala, pLCoA; entorhinal cortex, EntCx; olfactory tubercle, OT. Bars represent means of individual data points.

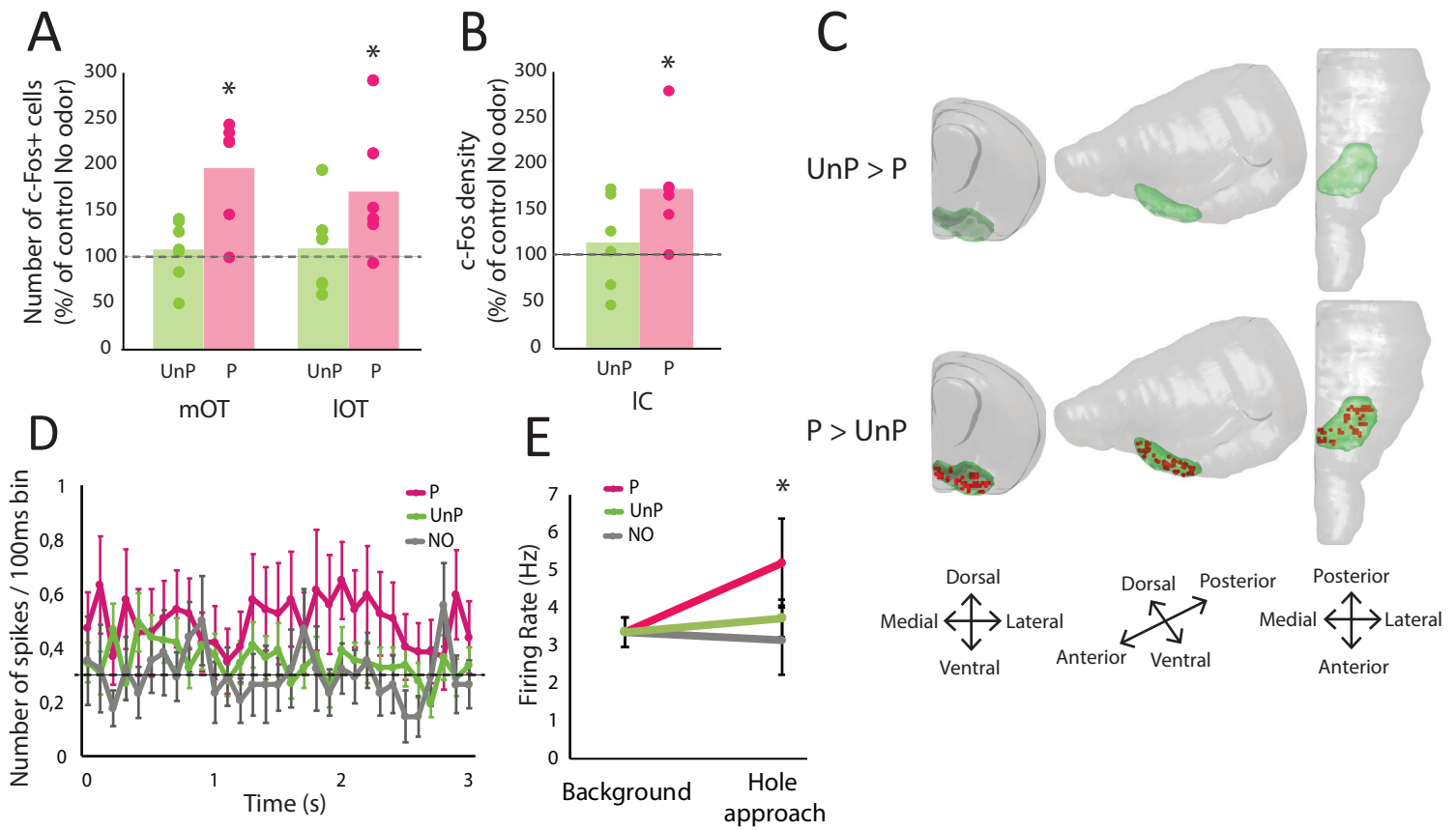


Figure 3. The olfactory tubercle codes for odors spontaneously pleasant. **A.** The number of c-Fos+ cell in the entire structure expressed as a percentage of the no odor control group (n=4 mice) is increased in the medial domain (mOT) and the lateral domain (IOT) of the OT in response to pleasant (P; n=6) but not unpleasant (UnP, n=7) odors (one sample t-test, *p<0.05). Bars represent means of individual data points. **B.** The c-Fos density (c-Fos+ cells/ μm^2) expressed as a percentage of the no odor control group (n=4 mice) is increased in the Islands of Calleja (IC) of the OT in response to pleasant (P; n=6) but not unpleasant (UnP, n=7) odors (one sample t-test, *p<0.05). Bars represent means of individual data points. **C.** The number of c-Fos+ cells contained in each isotropic voxel (60 μm) included in the olfactory tubercle (OT, green) has been compared (Mann-Whitney) between the two hedonic groups (unpleasant (UnP, n=7) vs pleasant (P, n=6)). Each voxel with a significant statistical result (Mann-Whitney p<0.01) can be localized (red spot) in the 3D meshes built from the Paxinos atlas (external surface (grey) and OT (green)). Mice display higher c-Fos density (number of c-Fos+ cells/voxel) in the OT in response to pleasant compared to unpleasant odors. 3D mesh of the Paxinos atlas (150x150x204 voxels, grey) and the olfactory tubercle (OT, green). **D.** Population average values for all recorded neurons (10 mice) during the 3-second period preceding the first hole investigation in response to pleasant (P, n=57 units), unpleasant odors (UnP, n=107 units) or mineral oil no odor (NO, n=34 units). Dotted line indicate background firing. Values represent means \pm sem. **E.** Firing rate across the entire trial (background) and during the 3-seconds period preceding the first hole investigation (hole approach). An increase of firing rate is observed when animals (n=10) approaching pleasant (P, n=56 units) odors but not unpleasant ones (UnP, n=104 units) nor the mineral oil no odor (NO, n=34 units). Mann-Whitney for the difference between hole approach and background firing rate, *p<0.05. Values represent means \pm sem.

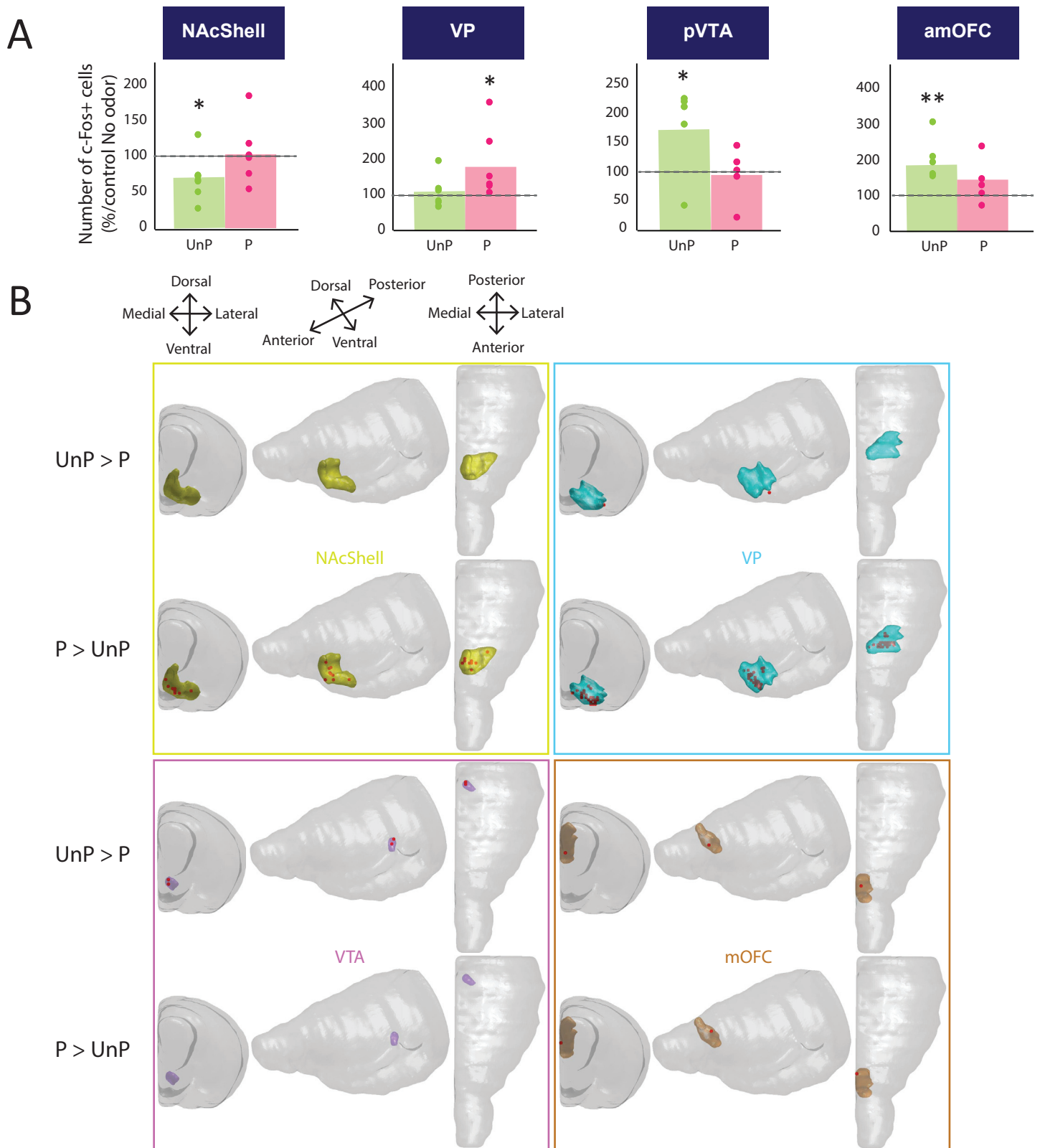


Figure 4. The reward system responds to the intrinsic hedonic value of odorants. A. c-Fos expression is modulated by odor stimulation in the main structures of the reward system (Anova structure effect $F(3, 51)=12.83, p<0.0001$; Anova odor effect $F(2, 51)=2.08, p=0.13$ and Interaction structure odor $F(6,51)=2.75, p=0.02$). For each hedonic condition (Unpleasant (UnP, $n=7$ mice) and Pleasant (P, $n=6$ mice)) the number of c-Fos+ cells in the entire structure is expressed as a percentage of the no odor condition ($n=4$ mice) and analyzed by one sample t-test for difference to 100% (* $p<0.05$; ** $p<0.001$). Modulation of c-Fos expression is observed in the nucleus accumbens shell (NAcShell), the ventral pallidum (VP), the posterior ventral tegmental area (pVTA) and the antero-medial orbitofrontal cortex (amOFC). Bars represent means of individual data points. **B.** The number of c-Fos+ cells contained in each isotropic voxel ($60\ \mu\text{m}$) of the reward system structures has been compared (Mann-Whitney) between the two hedonic groups (unpleasant (UnP, $n=7$) vs pleasant (P, $n=6$)). Each voxel with a significant statistical result (Mann-Whitney $p<0.01$) can be localized (red spot) in the 3D meshes built from the Paxinos atlas (external surface (grey), NAcShell (yellow), VP (light blue), VTA (purple) and mOFC (brown)). Mice display higher c-Fos density (number of c-Fos+ cells/voxel) in the NAcShell, the VP and the mOFC (posterior) in response to P compared to UnP odorants, and in the VTA (posterior) and the mOFC (anterior) in response to UnP compared to P odorants.

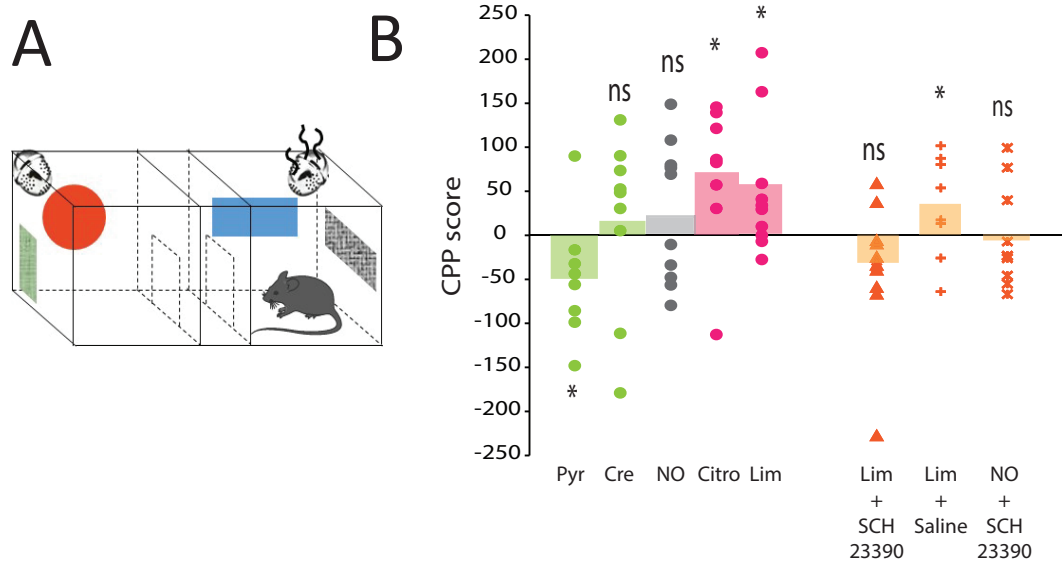


Figure 5. Odorants spontaneously pleasant induce place preference. **A.** Schema of conditioned place preference (CPP) apparatus. **B.** CPP score (time (s) spent during post conditioning – pre conditioning test) in the odor paired compartment is different between experimental groups (Anova, $F(7, 65)=2.5124$, $p=0.02$). CPP score is increased for pleasant odorants (one sample t-test Lim $p=0.023$ and Citro $p=0.009$) and decreased for unpleasant odorants (Pyr $p=0.02$). No change is observed for control ($p=0.16$) and Cre groups ($p=0.31$). Conditioned place preference to Lim is suppressed by D1 receptor antagonist SCH23390 (Lim+SCH23390, $p=0.075$) which is not the case after Saline infusion (Lim+Saline, $p=0.04$) and control group with SCH23390 injection (NO+SCH23390) shows that drug alone does not induce avoidance ($p=0.42$). (one sample t-test, * $p<0.05$ for difference to 0). Bars represent means of individual data points.

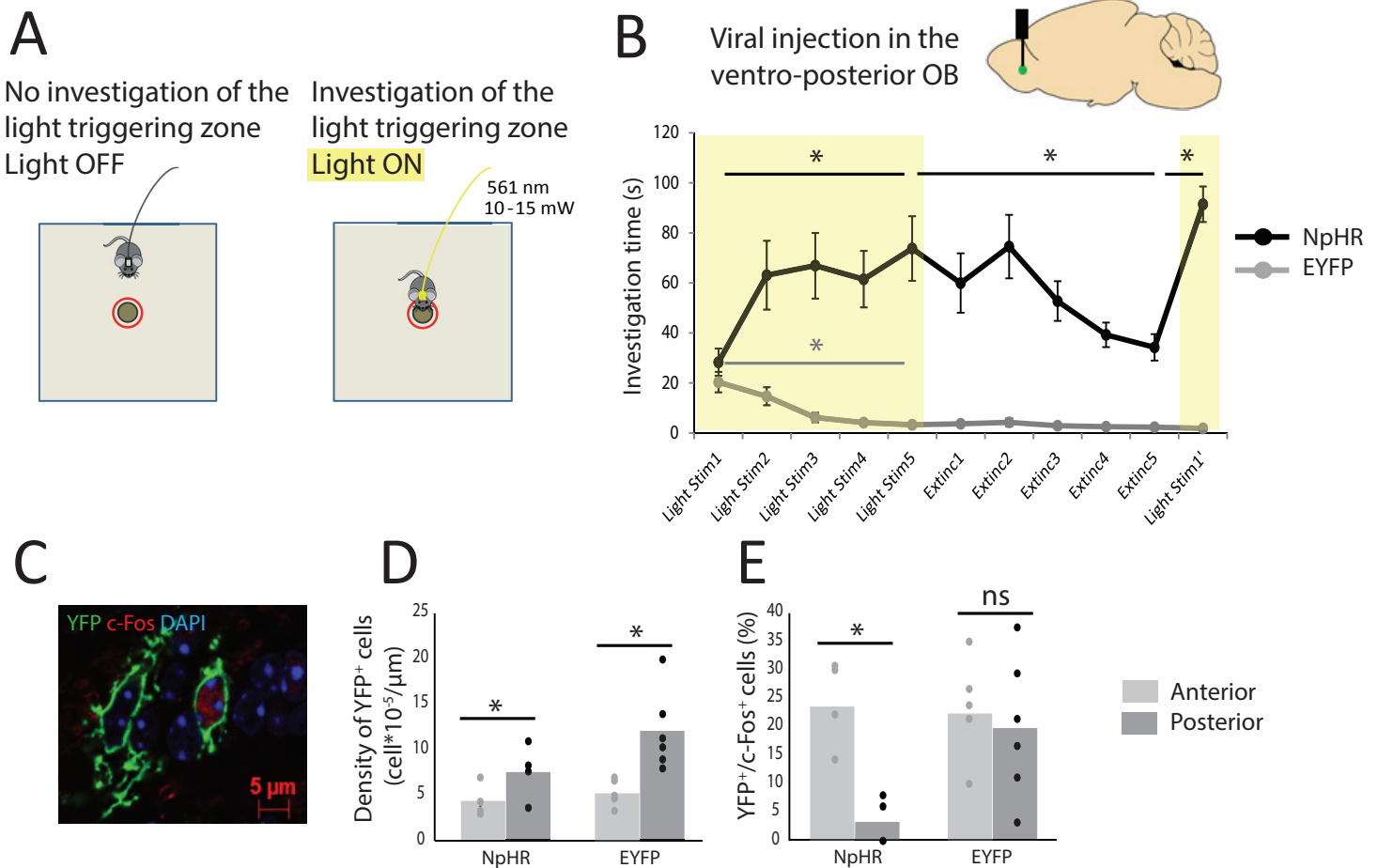
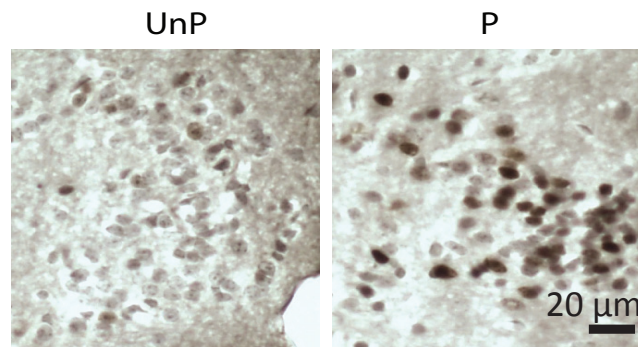
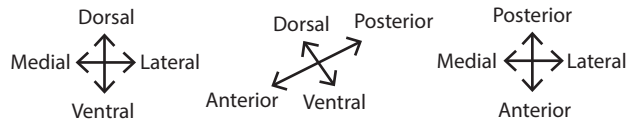


Figure 6. The ventro-posterior olfactory bulb (OB) is a site for intracranial self-stimulation. **A.** Experimental set-up. **B. Up.** Site of viral injection (halorhodopsin NpHR or control EYFP) in the ventro-posterior granule cell layer of the OB. **Down.** Time spent in the odor zone for NpHR and control EYFP mice injected in the ventro-posterior OB. NpHR mice readily learn to investigate the zone that triggers light (Days 1 to Days 5 = Light Stim 1 to Light Stim 5; Friedman: trial (day) effect $p=0.009$; Wilcoxon: Light Stim 1 versus Light Stim 5 $p=0.016$). This conditioning is subject to extinction on days light was unavailable (Days 6 to Days 10 = Extinc1 to Extinc 5; Friedman: trial (day) effect $p=0.001$; Wilcoxon: Light Stim 5 versus Extinc 5 $p=0.031$). Then self-stimulation starts again when light becomes available on the last day (Light Stim 1'; Wilcoxon: Extinc 5 versus Light Stim 1' $p=0.016$). Control EYFP mice display a decrease of nose poke among the 5 first days of light stimulation (Friedman: trial (day) effect $p=2.10^{-4}$; Wilcoxon: Light Stim 1 versus Light Stim 5, $p=0.014$). Values represent means \pm sem. **C.** Representative image of double labeled YFP⁺/c-Fos⁺ cells in the OB. **D.** Density of YFP⁺ neurons is higher in the area targeted by the viral injection (posterior OB) than in non-targeted one (anterior OB) in each group (two-tailed paired t-test, NpHR $p=0.033$ and EYFP $p=0.006$). Values represent means. * $p<0.05$. **E.** Light stimulation decreases the percentage of YFP⁺ cells expressing c-Fos in light-targeted area (posterior OB) of NpHR mice compared to the light non-targeted region (anterior OB) (two-tailed paired t-test, $p=0.02$). This difference was not observed in control mice EYFP (two-tailed paired t-test, $p=0.7$). Bars represent means of individual data points. * $p<0.05$.



Supplementary Figure 1. Increased activity in the olfactory tubercle in response to odors spontaneously pleasant. Representative images of cFos+ cells labeling in the OT (focus on a Island of Calleja) from a mouse stimulated with an odorant spontaneously unpleasant (UnP, left) and a mouse stimulated

A

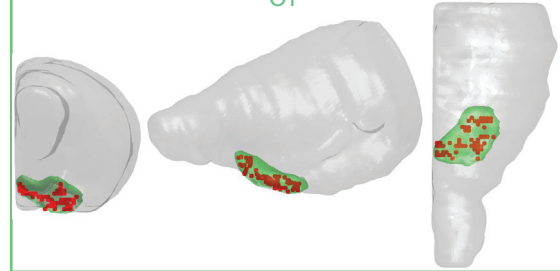


UnP > P



OT

P > UnP



B

UnP > P



NAcShell

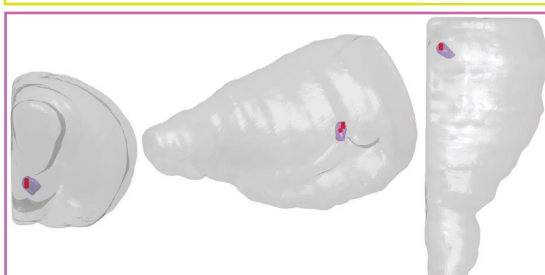
P > UnP



VP

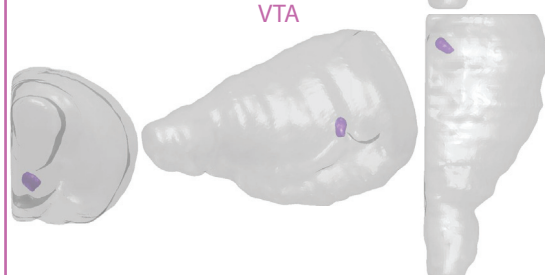


UnP > P



VTA

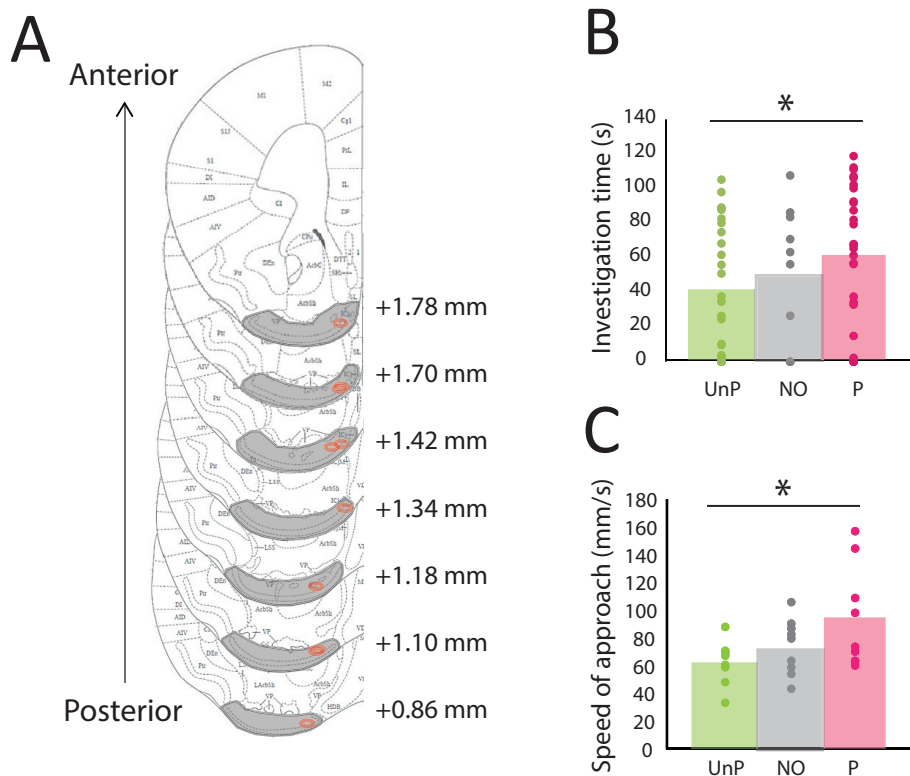
P > UnP



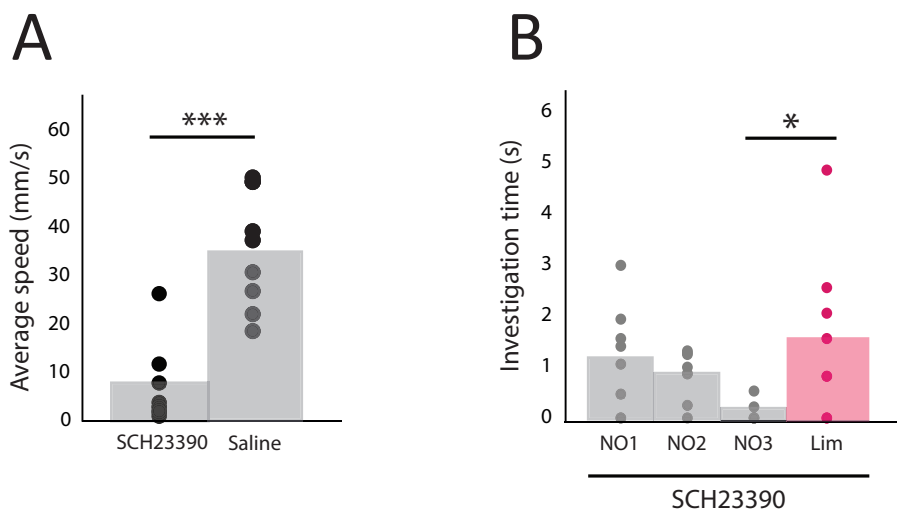
mOFC



Supplementary Figure 2. Same representation as in Fig. 3C and 4B. Here, after permutations tests (of 1000 randomisations), the red spots depict voxels in which the statistical Mann-Whitney difference found previously in Fig. 3C and 4B is not due to chance ($p < 0.01$) in (A) the olfactory tubercle (OT) and in (B) the reward system (nucleus accumbens shell, NAcShell; ventral pallidum, VP; ventral tegmental area, VTA; medial orbitofrontal cortex, mOFC).

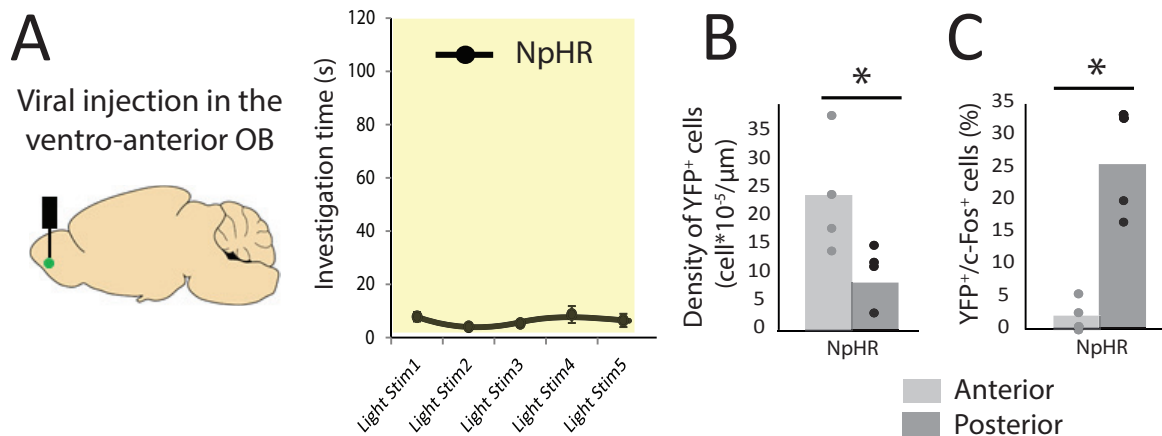


Supplementary Figure 3. A. Electrode tip locations within the right medial OT. The red ellipses show on the coronal paxinos atlas panels the approximate location of electrode placement following histologic verification (n=10 mice, 1 electrode/animal). All recordings had electrode tips confirmed within the medial OT. The extent of the OT is indicated by gray shading. Sections span from 0.86 to 1.78 mm anterior of bregma. **B.** Hole investigation time was recorded (n=10 mice). Pattern of investigation time of the 3 hedonic groups is not different from the one observed in the first experiment (Figure 1; Kolmogorov-Smirnov $p=0.1$) and pleasant odors are significantly different from unpleasant ones (Wilcoxon $p=0.03$). Bars represent means of individual data points. $*p<0.05$. **C.** Speed of approach (n=10 mice) calculated during the 3-seconds period preceding the first hole investigation containing either a pleasant odor (P), an unpleasant one (UnP) or mineral oil no odor (NO). Speed differs between the 3 hedonic groups (Anova $F(2, 24)=3.2383, p=0.05$). Pleasant odors elicit a faster approach than unpleasant ones (two-tailed paired t-test, $*p<0.05$). Bars represent means of individual data points.



Supplementary Figure 4. The injection of the dopaminergic D1 antagonist SCH 23390 alters locomotion. This side effect is common with dopamine antagonists (Hoffman and Beninger, 1985; Schindler and Carmona 2002). However, the alteration of locomotion should not affect the CPP score since the drug was injected only during the conditioning phase in which the animal is confined in the odorized chamber and not during pre and post conditioning tests that lasted 24hrs after the drug injection. two-tailed t-test *** $p < 0.0001$. Values represent means.

B. SCH 2390 injection did not alter Lim detection. Because the OB contains dopaminergic neurons involved in odor perception, we verified that D1 antagonist did not alter olfactory detection in mice. To this end, mice were subjected to a habituation/dishabituation task 15 min following SCH 23390 injection (same dose as in the CPP protocol). First, a decrease in investigation time was observed during the habituation trials with no odor (NO). At the fourth trial, Lim was presented and a significant increase of investigation time was observed compared to the last habituation trial (NO3) indicating that SCH 23390 at the concentration used in our experiment did not alter odor perception. (Anova repeated measure between NO1 and NO3 ($F(2, 14) = 5.14$, $p = 0.02$) and paired t-test for difference between NO3 and Lim ($p = 0.03$). * $p < 0.05$. Bars represent means of individual data points.

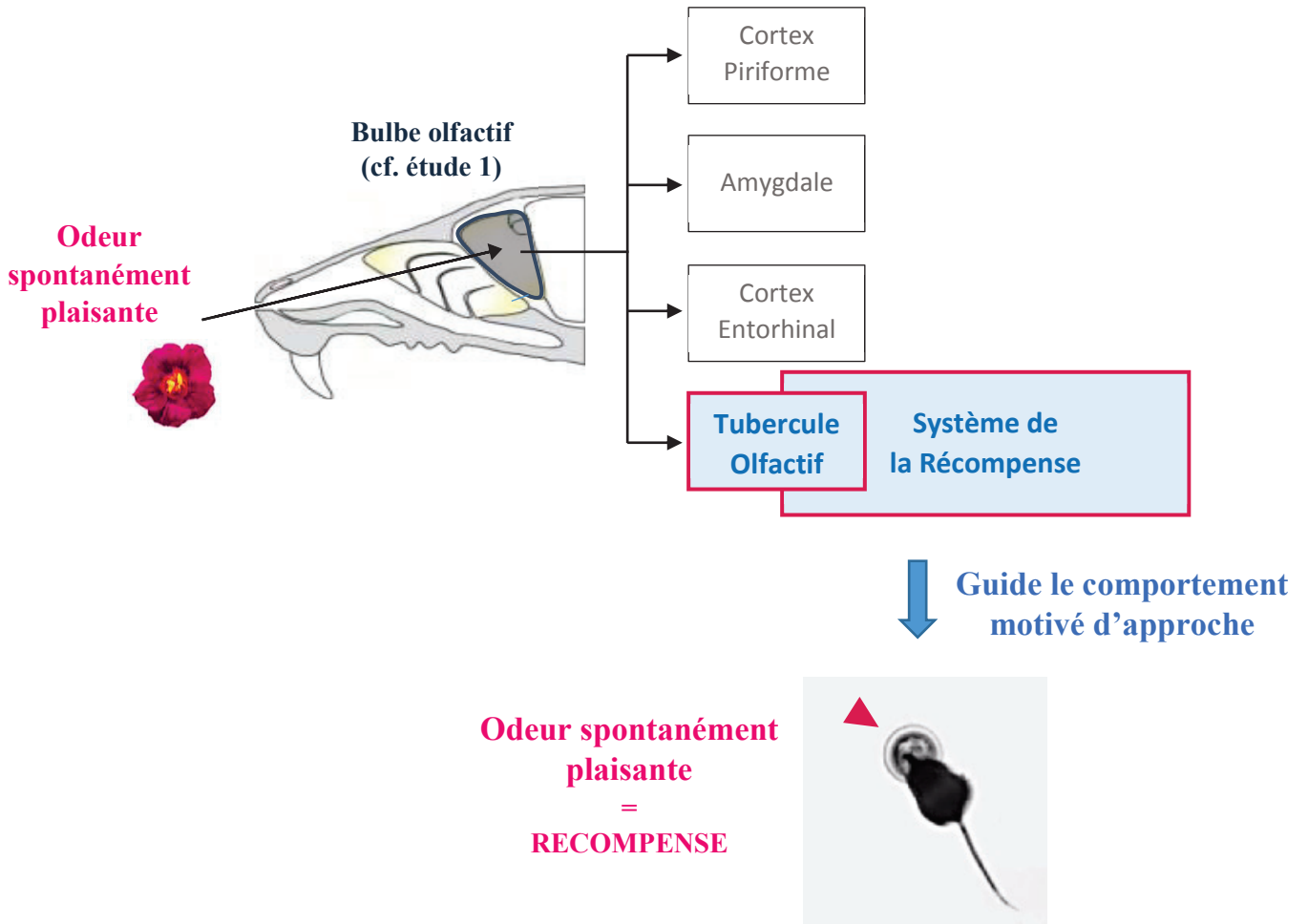


Supplementary Figure 5. The ventro-anterior olfactory bulb (OB) is not a site for intracranial self-stimulation. **A. Left.** Site of viral injection (halorhodopsin NpHR or control EYFP) in the ventro-anterior granule cell layer of the OB. **Right.** Time spent in the odor zone for NpHR mice injected in the anterior part of the OB is unchanged by light availability (Friedman: trial effect $p=0.207$). Values represent means \pm sem. **B.** Density of YFP⁺ neurons is higher in the area targeted by the viral NpHR injection (anterior OB) than in non-targeted one (posterior OB) (two-tailed paired t-test, $p=0.01$). Bars represent means of individual data points. * $p<0.05$. **C.** Light stimulation decreases the percentage of YFP⁺ cells expressing c-Fos in light-targeted area (anterior OB) of NpHR mice compared to the light non-targeted region (posterior OB) (two-tailed paired t-test, $p=0.01$). Bars represent means of individual data points. * $p<0.05$.

	Total	Anterior	Posterior
AON	1,14		
EntCx	1,60		
IOT	0,45		
mOFC	0,52	0,33	0,19
mOT	0,38		
NACShell	0,95		
OT	1,55		
PirCx	1,00	0,52	0,47
plCoA	0,41		
VP	0,65		
VTA	0,06	0,03	0,03
Entire brain	133,99		

Supplementary Table 1. Volumes in mm³ of the structures of interest after matching procedure to atlas (right hemisphere). Abbreviations: anterior olfactory nucleus, AON; entorhinal cortex, EntCx; lateral olfactory tubercle, IOT; medial orbitofrontal cortex, mOFC; medial olfactory tubercle, mOT; nucleus accumbens shell, NACShell; olfactory tubercle, OT; piriform cortex, PirCx, postero-lateral cortical amygdala, plCoA; ventral pallidum, VP; ventral tegmental area, VTA. Entire brain refers to the volume covers by the paxinos atlas (right hemisphere).

Résumé étude 3



Résumé étude 3. L'attraction innée des odeurs non biologiques est médiée par le système de la récompense. Nous avons mis en évidence une signature neurale spécifique de la valeur hédonique innée positive des odeurs (plaisantes) au niveau du tubercule olfactif, une structure appartenant à la fois au cortex olfactif et au système de la récompense/motivation. Nous avons ensuite montré qu'une odeur pouvait être perçue comme une récompense en soi et que le système de la récompense/motivation était mis en jeu afin de guider le comportement d'approche des odeurs. Les odeurs à valeur hédonique spontanément négative (déplaisantes, non représentées ici) ne recruteraient pas le tubercule et semblent moduler différemment les structures de la récompense qui pourraient, potentiellement et en partie, guider le comportement de retrait des odeurs.

Discussion

La valeur hédonique des odeurs, c'est-à-dire leur caractère plus ou moins plaisant, est une dimension primordiale de l'olfaction humaine et animale. De nombreuses études suggèrent que les préférences olfactives sont fortement façonnées par l'expérience, la culture et le contexte. Cependant, d'autres plus récentes montrent que des préférences olfactives spontanées, c'est-à-dire envers des odorants jamais expérimentés, existent. Ces préférences spontanées seraient partiellement dictées par les propriétés physico-chimiques des molécules odorantes et seraient conservées entre les espèces, suggérant une composante prédéterminée/innée et donc l'existence d'une signature neurale de la valeur hédonique spontanée des odeurs.

L'ambition générale de cette thèse a été de rechercher les bases neurales de la valeur hédonique innée des odeurs régissant les comportements d'approche et de retrait spontanés. A travers une première étude (étude 1), nous avons confirmé l'existence de préférences spontanées chez l'animal en montrant que les temps d'exploration d'un panel d'odorants non-expérimentés auparavant par les souris et sans signification biologique particulière variaient le long d'un continuum allant d'une exploration faible à forte. De plus, nous avons démontré l'existence d'une signature neurale de la valeur hédonique innée exprimée le long de l'axe antéro-postérieur ventral du BO révélant une régionalisation fonctionnelle nouvelle du BO et indiquant un encodage précoce de la valeur hédonique dès le premier relai central de l'information olfactive. Deuxièmement, au moyen de plusieurs techniques dont une nouvelle méthode de cartographie développée au cours de ma thèse (étude 2), nous avons révélé dans une autre étude (étude 3) la présence d'une signature hédonique au niveau d'une structure olfactive particulière appartenant également au système de la récompense : le TO. Nous avons mis en évidence un recrutement spécifique du TO selon la valeur hédonique de l'odeur lorsque les animaux approchaient pour la première fois la source odorante. Nous avons ensuite montré qu'une odeur pouvait être perçue comme une récompense en soi et que le système de la récompense/motivation était mis en jeu afin de guider le comportement d'approche des odeurs.

ATTRACTION OU REPULSION SPONTANNEMENT INDUITE PAR DES ODOURANTS NON-BIOLOGIQUES

Afin de quantifier les préférences olfactives spontanées chez la souris nous avons utilisé dans nos deux études un protocole comportemental reposant sur le temps d'investigation des odeurs. Cette mesure comportementale a été déjà utilisée auparavant (Lowry & Kay, 2007; Mandairon *et al.*, 2009; Devore *et al.*, 2013; Root *et al.*, 2014) et montre que les souris évitent certaines odeurs biologiques de prédateurs et de nourriture avariée (Kobayakawa *et al.*, 2007). De plus, le fait que les odorants les plus explorés par la souris suscitent également une exploration plus importante (volume d'air inhalé plus ample) chez l'homme qui les jugent également plaisantes (et inversement pour les odeurs déplaisantes peu explorées par les deux espèces) valide la mesure comportementale du temps d'investigation comme indicatrice des préférences olfactives chez les mammifères (Mandairon *et al.*, 2009). La mesure de la vitesse avec laquelle les souris approchent la source odorante selon qu'elle soit plaisante (approche rapide) ou déplaisante (approche plus lente) vient également approuver l'utilisation de cette mesure d'attraction comportementale comme témoin des préférences.

Ainsi, dans l'étude 1 nous avons testé les préférences olfactives de 16 odorants chez des souris de même âge (adulte jeune) et même sexe (mâle), afin de limiter les modulateurs hédoniques. Ces odorants ont été choisis pour présenter des propriétés moléculaires variées, sans signification biologique particulière et pour être largement inconnues des animaux (l'environnement olfactif a été contrôlé en animalerie).

Nous avons montré que le niveau d'attractivité des odorants variait le long d'un continuum allant d'une exploration faible (odorants déplaisants) à une exploration plus importante (odorants plaisants). Dans la littérature, il a clairement été démontré que les odorants, même s'ils sont désagréables, suscitent au moins une petite exploration de la part des animaux (Kobayakawa *et al.*, 2007; Mandairon *et al.*, 2009; Devore *et al.*, 2013; Root *et al.*, 2014; Kermen *et al.*, 2016), probablement due à la curiosité que la nouveauté suscite (Berlyne, 1950; Welker, 1957; Berlyne, 1960). Des odeurs biologiques d'urine de congénère et de TMT ont été testées de la même manière. Nous retrouvons ces odeurs aux extrêmes pôles de notre continuum d'odorants non-biologiques. Ce résultat renseigne sur les capacités des odorants non-biologiques à générer une attraction ou une répulsion. Bien que nos odorants non-biologiques suscitent des niveaux d'attractivité moins tranchés, certains situés aux extrémités du continuum

peuvent être explorés de manière assez similaire aux odeurs biologiques, connues pour être fortement attractives ou répulsives.

Il est important de souligner que ces différences d'attractivité ne sont pas causées par un artefact dû à la concentration des odorants. En effet, la concentration de l'odorant dans l'air inhalé conditionne l'intensité perçue des odeurs, elle-même susceptible de moduler leur valence hédonique (Henion, 1971). Afin de nous affranchir des différences de volatilité entre les odorants purs, nous les avons dilués dans l'huile minérale de façon à obtenir une pression partielle de 1 Pa dans l'air inhalé.

SIGNATURE NEURALE DE LA VALEUR HEDONIQUE INNEE DES ODEURS

Afin d'étudier la signature neurale d'odorants à valeur hédonique positive versus négative, nous avons sélectionné les odorants les plus attractifs et les plus répulsifs de notre panel, et avons analysé les cartes d'activation neurale en réponse à ces odeurs.

L'utilisation de l'expression de gènes précoces pour révéler l'activité neuronale a été choisie de manière privilégiée par rapport aux techniques d'imagerie calcique ou de bi-photons par exemple qui proposent une résolution temporelle supérieure, car elle est la seule qui permette d'imager l'activité neuronale dans le cerveau entier avec une bonne résolution cellulaire, et est donc adaptée à notre problématique.

La réponse cérébrale aux odeurs a été examinée en imageant l'expression de gènes précoces (Zif268 et c-Fos) qui dépend de l'activité neuronale engendrée par la stimulation sensorielle. Ces marqueurs ont été largement utilisés pour examiner la réponse aux stimuli de différents cortex sensoriels (Kaczmarek *et al.*, 1999; Filipkowski, 2000; Inaki *et al.*, 2002; Mower & Kaplan, 2002). Nous avons cartographié l'activité neuronale en réponse aux odeurs dans le BO tout d'abord, puis dans les structures supérieures. Pour réaliser l'analyse des structures supérieures, nous avons développé une méthode permettant de recalibrer l'activité neuronale identifiée sur nos coupes histologiques dans un atlas de référence (étude 2), qui permet de comparer l'activité neuronale entre les groupes hédoniques dans la totalité du cerveau de manière plus rapide, précise et fiable. Des enregistrements électrophysiologiques sont venus compléter nos travaux et ajoutent une dynamique temporelle à nos données.

A – La valeur hédonique des odeurs est encodée dès le bulbe olfactif

La réponse neurale à des odorants de niveaux d'attractivité différents met en évidence une signature neurale de la valeur hédonique des odeurs dans la région ventrale du BO. Plus précisément, nous avons montré que les odeurs attractives activaient plus particulièrement la partie antérieure alors que les odeurs répulsives plutôt la postérieure du domaine ventral du BO. Afin de nous affranchir des différences d'activation liée à l'identité des odorants et ne conserver que les points communs entre les odorants de valeur hédonique similaire, nous avons moyenné les cartes d'activation obtenues en réponses aux odorants attractifs d'une part et aux odorants peu attractifs d'autre part. Ensuite, la fonctionnalité de cette représentation hédonique a été testée par optogénétique. L'inhibition de la partie ventrale du BO antérieur ou postérieur a modulé le niveau d'attractivité des odeurs ce qui a permis de mettre en évidence un encodage de la valeur hédonique des odeurs le long de l'axe antéro-postérieur ventral du BO.

Chez la souris, la couche glomérulaire du BO avait été documentée pour être un lieu de codage de la valeur hédonique innée dans le cas d'odeurs à forte connotation biologique (Xu *et al.*, 2005; Kobayakawa *et al.*, 2007). Les odeurs sociales connues pour être attractives seraient représentées dans la couche glomérulaire ventrale (Xu *et al.*, 2005; Kang *et al.*, 2009), et les odeurs biologiques aversives quant à elles seraient représentées dans la couche glomérulaire dorsale (Kobayakawa *et al.*, 2007). Dans ces travaux, la transmission de cette régionalisation hédonique dans les couches plus profondes du BO n'a pas été étudiée, et aucune donnée n'était disponible concernant la représentation hédonique innée d'odorants non-biologiques.

Notre étude est la première à révéler une régionalisation fonctionnelle du BO sur l'axe antéro-postérieur en lien avec la valeur hédonique innée d'odorants non-biologiques.

Mais qu'elle est l'origine de ce patron d'activité spatial particulier ?

Le BO reçoit deux types d'afférences : des afférences sensorielles en provenance de l'EO et des afférences corticales ou centrifuges qui proviennent du reste du cerveau.

Premièrement, l'odeur active une combinaison d'OSNs dans l'EO (code combinatoire) qui se projettent sur les glomérules du BO de façon « zone à zone ». Ceci suggère que L'EO pourrait être le générateur de ce patron spatial d'activation hédonique bulbaire. Cependant, même si le BO reçoit dans ses régions dorsale, ventrale, médiale et latérale l'innervation des régions épithéliales homologues (Astic & Saucier, 1986; Saucier & Astic, 1986; Astic & Saucier, 1988; Touhara *et al.*, 1999; Kobayakawa *et al.*, 2007), aucun gradient de projection épithélio-bulbaire

n'avait été mis en évidence sur l'axe antéro-postérieur (Saucier & Astic, 1986). Sachant que la perception hédonique des odeurs est corrélée avec la taille de la molécule (Schiffman, 1974; Kermen *et al.*, 2011; Zarzo, 2011), nous pouvons émettre l'hypothèse que le patron hédonique retrouvé au niveau du BO provient d'un patron hédonique formé dans l'EO. Lapid *et al.* (2011) ont montré que l'EO semble spatialement supporter la perception hédonique des odeurs. En effet, une zone de l'EO qui s'active de manière très importante en réponse à un odorant évalué comme plaisant (ou à l'inverse déplaisant) est susceptible de répondre très intensément aux autres odorants évalués comme plaisants (ou à l'inverse déplaisants) (Lapid *et al.*, 2011). Dans cette étude, il n'a pas été révélé d'axe particulier d'activation selon la valeur hédonique des odeurs qui reste donc ainsi à découvrir ainsi que ses lois de projection anatomo-fonctionnelle sur le BO.

Deuxièmement, les retours centrifuges sur le BO pourraient être impliqués dans la formation de ce patron hédonique observé. En effet, ils projettent sur le BO au niveau des couches glomérulaire et granulaire, qui sont précisément les couches où nous avons identifié la signature hédonique, où ils pourraient moduler l'activité du BO. A notre connaissance, aucune topographie des retours centrifuges sur l'axe antéro-postérieur du BO n'a été mise en évidence.

En activant différemment l'avant ou l'arrière des couches granulaire et glomérulaire ventrales et donc les interneurons inhibiteurs qui y résident, la valeur hédonique des odeurs façonne le message de sortie du BO à destination des structures olfactives secondaires. Ceci soulève la question de *comment le message hédonique est-il transmis aux structures olfactives secondaires ? Et quels réseaux supportent l'attraction spontanée induite par les odorants non-biologiques ?*

Il sera intéressant de visualiser les probables différences de projections entre les cellules M/P du BO ventro-postérieur et ventro-antérieur au moyen de traceurs antérogrades.

Des travaux ont suggéré que les structures olfactives secondaires seraient innervées par des axones provenant de sous-populations de cellules relais réparties de manière non uniforme dans le BO. Par exemple le TO recevrait les axones des neurones de projections localisés préférentiellement dans la région ventrale du BO (Haberly & Price, 1977; Scott *et al.*, 1980; Imamura *et al.*, 2011). La date de naissance des cellules relais du BO déterminerait leur localisation selon un axe dorso-ventral et médio-latéral (Hinds, 1968; Inaki *et al.*, 2004; Imamura *et al.*, 2011) et une étude suggère également selon l'axe antéro-postérieur (Imamura *et al.*, 2011). En effet dans leurs travaux, Imamura *et al.* (2011) ont montré que les cellules relais nées tardivement migreraient de manière tangentielle dans la région postéro-ventrale du

BO et auraient tendance à cibler de manière plus importante le TO par rapport aux cellules nées plus précocement. Cette étude suggère que le TO serait enclin à recevoir l'information codant l'attractivité. *Le TO possède-t-il effectivement ce rôle ? Qu'en est-il des autres structures olfactives secondaires ?*

C'est ce que notre étude 3 s'est employé à déterminer en utilisant une combinaison d'approches de cartographie cellulaire (expression de c-Fos) développée dans l'étude 2, électrophysiologiques et optogénétiques chez des souris en comportement, et pharmacologiques.

B – La signature neurale hédonique est transmise de manière singulière aux structures olfactives secondaires

1 – Absence de mise en évidence d'une réponse hédonique dans les structures olfactives secondaires

Nous n'avons pas révélé de corrélats neuronaux de la valeur hédonique innée des odorants non-biologiques au niveau de l'AON, dont le rôle relèverait davantage de la localisation spatiale des odeurs (Kikuta *et al.*, 2010). L'AON a aussi été proposé pour jouer un rôle dans le traitement des odeurs sociales (Wacker *et al.*, 2011) et il n'est ainsi pas impossible que cette structure soit mise en jeu dans le codage de la valeur hédonique des odeurs sociales.

Nous n'avons pas montré non plus de corrélats hédoniques au niveau de l'EntCx olfactif. Cette structure semble être impliquée dans la modulation du codage de l'odeur par l'expérience (Xu & Wilson, 2012). Du fait de ses connexions avec le système mnésique (hippocampe), nous ne pouvons pas exclure un rôle potentiel de cette région dans le codage de la valeur hédonique apprise des odeurs, même si sa faible innervation bulbaire ne le place pas en première ligne.

L'absence de réponse hédonique dans le PirCx et l'amygdale était en revanche pour le moins inattendue. En effet, plusieurs études menées chez l'homme mais aussi chez l'animal, plaident en faveur d'une implication du PirCx dans la représentation et le traitement hédonique des odeurs (Gottfried *et al.*, 2002b; Moriceau & Sullivan, 2004b; Sevelinges *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2006; Moriceau *et al.*, 2006; Bensafi *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2008; Sevelinges *et al.*, 2008; Staples *et al.*, 2008; Gottfried & Wu, 2009; Barnes *et al.*, 2011; Pantazopoulos *et al.*, 2011; Xia *et al.*, 2015) et semblent aller à l'encontre de nos données. Néanmoins, il est à noter que les odorants utilisés dans ces études sont :

- (i) Soit associés à un contexte d'apprentissage, la valeur hédonique est donc acquise et la représentation cérébrale observée reflète dans ce cas une combinaison des caractéristiques mnésiques et hédoniques liées à l'odeur.
- (ii) Soit sont porteurs d'une forte connotation biologique et représentent un intérêt particulier dans la survie de l'espèce.

Ces différences quant au choix des odorants utilisés et au type de valeur hédonique étudié (acquis ou inné) pourraient expliquer les divergences obtenues dans les résultats. Il a notamment été montré que le PirCx avait la capacité de coder l'information olfactive sur la base des propriétés associatives liées à l'odeur présentée (Schoenbaum & Eichenbaum, 1995; Litaudon *et al.*, 1997; Cohen *et al.*, 2008; Gottfried, 2010; Wilson & Sullivan, 2011). En effet, le PirCx possède un réseau colossal de fibres d'association (Haberly & Price, 1978; Datiche *et al.*, 1996). Ainsi, il semblerait que la principale fonction du PirCx serait d'associer une valeur particulière à l'information olfactive qui lui arrive (Hasselmo *et al.*, 1990; Barkai *et al.*, 1994; Haberly, 2001; Wilson & Linster, 2008; Yamaguchi, 2017) et pourrait expliquer pourquoi l'utilisation d'odorants non-conditionnés dans notre cas ne permet pas de révéler d'activation spécifique en réponse à la valeur hédonique des odeurs.

En considérant l'innervation massive du BO vers le PirCx, nous nous attendions malgré le rôle principalement associatif du PirCx à ce que la représentation hédonique bulbaire lui soit transférée. Il est important de savoir que le PirCx est connu pour recevoir une innervation bulbaire qui est diffuse. Ainsi, la topographie spatiale au niveau du BO est perdue lors du transfert de l'information au PirCx (Stettler & Axel, 2009; Chapuis & Wilson, 2011; Ghosh *et al.*, 2011; Miyamichi *et al.*, 2011; Sosulski *et al.*, 2011) et expliquerait pourquoi le patron d'activité hédonique bulbaire mis en évidence dans la première étude pourrait ne pas être conservée au sein du PirCx.

Stettler and Axel (2009) viennent en soutien de ces propositions en déclarant que compte tenu des projections bulbaires diffuses, la représentation hédonique dans le PirCx doit être dictée par l'expérience. Ils suggèrent également qu'une autre structure doit recevoir une innervation stéréotypée et déterminée depuis le BO afin de permettre les comportements innés médiés par les odorants. Les résultats obtenus au cours de cette thèse soutiennent cette affirmation et placent le TO au centre du traitement de la valeur hédonique (voir ci-après).

Contrairement au PirCx, des études utilisant des traceurs anatomiques révèlent que les projections du BO à destination de l'amygdale conservent une organisation topographique (Sosulski *et al.*, 2011) et suggèrent une activité différentielle de l'amygdale en regard de la valeur hédonique des odeurs comme en témoignent plusieurs études conduites chez l'homme

et l'animal (Zald & Pardo, 1997; Schoenbaum *et al.*, 1999; Royet *et al.*, 2003; Day *et al.*, 2004; Moncho-Bogani *et al.*, 2005; Root *et al.*, 2014; Jin *et al.*, 2015; Patin & Pause, 2015; Perry *et al.*, 2016). Ici encore, l'amygdale représenterait la valeur hédonique acquise, ou encore la valeur hédonique d'odorants biologiques cruciaux dans la survie de l'espèce et connus pour être traités par des circuits cérébraux particuliers (Moncho-Bogani *et al.*, 2002; Luo & Katz, 2004; Takahashi *et al.*, 2005; Martel & Baum, 2007; Martinez-Ricos *et al.*, 2007; 2008; Kang *et al.*, 2009; Martel & Baum, 2009; Ben-Shaul *et al.*, 2010; Papes *et al.*, 2010; Takahashi, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2015; Perez-Gomez *et al.*, 2015) incluant des régions amygdaliennes différentes. Parmi ses différents noyaux, c'est l'amygdale dite corticale qui reçoit dans sa région postéro-latérale l'information olfactive en provenant des cellules relais du BO. En 2005, Moncho-Bogani et coll. montrent que les signaux olfactifs socio-sexuels induisent une activation prononcée de l'amygdale au niveau de son domaine baso-latéral mais pas au niveau de son domaine cortical postéro-latéral (Moncho-Bogani *et al.*, 2005).

Pour conclure, la cartographie de l'activité neuronale ne révèle pas de réponse hédonique dans la majorité des structures olfactives secondaires. Néanmoins, il est important de préciser que notre technique nous permet de montrer une éventuelle différence d'activité entre deux populations neuronales spatialement distinctes mais nous ne pouvons pas exclure un codage spatial situé à un niveau plus fin, au niveau de neurones isolés, épars ou avec un phénotype particulier. Egalement il est possible que ces structures codent l'information hédonique de manière temporelle, ce que notre technique ne permet pas d'évaluer. Comme en témoigne une récente étude menée chez l'homme qui montre que l'amygdale posséderait la capacité de coder le spectre complet de la valeur hédonique des odeurs grâce à des variations spatio-temporelles de son activité. Par exemple, les odeurs déplaisantes seraient représentées de manière précoce dans l'amygdale (Jin *et al.*, 2015).

Une méthodologie unique ne permet pas de rechercher les bases neurales qui sous-tendent une fonction de manière exhaustive, mais borne la recherche à une composante particulière, étude de l'activité spatiale à l'échelle d'une région et de ses sous-domaines dans notre cas. Notre technique a cependant permis de mettre en évidence une réponse hédonique au niveau du TO soulevant un rôle particulier de cette structure dans le codage de la valeur hédonique innée des odeurs sans signification biologique particulière.

2 – La singularité du tubercule olfactif dans la représentation la valeur hédonique des odeurs

Parmi toutes les structures sur lesquelles le BO se projette, seul le TO révèle une activation spécifique en réponse à la valeur hédonique innée des odeurs sans signification biologique particulière, ce qui suggère un rôle particulier de cette région.

En quoi le TO serait-il si distinctif ?

Premièrement, l'organisation anatomo-fonctionnelle du TO diffère de celle retrouvée classiquement dans les cortex sensoriels olfactifs (cf. Introduction (Wesson & Wilson, 2011; Xiong & Wesson, 2016)). Deuxièmement, et contrairement aux autres structures corticales olfactives (comme le PirCx ou l'AON), le TO ne possède pas de système de fibres d'association (Haberly & Price, 1978). D'autre part, il est le seul cortex sensoriel à être localisé dans le striatum (Wesson & Wilson, 2011; Xiong & Wesson, 2016). Enfin, le TO semble être innervé de manière spéciale par le BO. Tandis que les autres structures corticales olfactives secondaires reçoivent l'information bulbaire principalement à partir des cellules M (Haberly & Price, 1977; Scott, 1981; Luskin & Price, 1982; Shepherd *et al.*, 2004; Nagayama *et al.*, 2010; Mori & Sakano, 2011; Igarashi *et al.*, 2012), le TO lui, la reçoit massivement à partir des cellules P (Scott *et al.*, 1980; Imamura *et al.*, 2011), connues pour être plus sensibles aux odeurs (cf. Introduction). Ainsi, ces spécificités devraient conférer au TO une haute sensibilité aux stimuli olfactifs, et plaident en faveur d'un rôle singulier du TO dans le traitement de l'information portée par l'odeur. Effectivement, les cellules P localisées dans la région postéro-ventrale du BO ciblent majoritairement le TO (Scott *et al.*, 1980; Wesson & Wilson, 2011) et de manière intéressante, notre première étude démontre que cette région est justement vouée au codage de l'attractivité (Kermen *et al.*, 2016).

Compte tenu de toutes ces spécificités, il n'est pas surprenant que le TO se distingue des autres structures olfactives secondaires et puisse jouer un rôle spécifique dans le traitement de la valeur hédonique des odeurs.

Le rôle du TO dans le traitement de la valeur hédonique est d'ailleurs soutenu par d'autres études réalisées en condition d'apprentissage (Wesson & Wilson, 2011; Gadziola *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015). Ce rôle a également été rapporté lors de comportements innés en réponse à des odeurs biologiques. Par exemple, une stimulation électrique du TO altérerait la préférence d'une odeur de nourriture par rapport à une odeur de prédateur chez la souris (Fitzgerald *et al.*, 2014). D'autre part, la lésion du TO ou son inhibition (induite par technique des DREADDs) supprimerait l'attirance que les souris femelles présentent spontanément envers des signaux

olfactifs socio-sexuels indiquant la présence d'un mâle (Agustin-Pavon *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2015).

Dans notre étude, l'activité neuronale du TO a tout d'abord été révélée par imagerie de l'expression du gène c-Fos. Nous avons montré que les odeurs plaisantes engendraient une activité accrue dans le TO ce qui n'était pas le cas pour les odeurs déplaisantes. Nous avons affiné notre analyse aux domaines médial (TOM) et latéral (TOI), considérés comme différemment impliqués dans les comportements olfactifs et les comportements de récompense (Josephson *et al.*, 1997; Ikemoto, 2007; Murata *et al.*, 2015). Nous avons ici aussi montré que seule la stimulation olfactive plaisante évoquait une réponse accrue dans le TOM et le TOI. Des données suggèrent que le TOM est un important centre de codage de la valeur hédonique apprise et des comportements renforcés, qu'ils soient liés à des drogues ou à des récompenses naturelles (nourriture par exemple) (Schwob & Price, 1984a; Ikemoto, 2003; Ikemoto *et al.*, 2005; Fitzgerald *et al.*, 2014; Gadziola *et al.*, 2015). D'autres résultats suggèrent que la préférence et l'attraction envers les signaux olfactifs socio-sexuels impliqueraient le TOM (Agustin-Pavon *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2015).

Le BO cible le TOI de manière importante (Ikemoto, 2007). Nous avons trouvé que ce domaine était également plus activé par des odeurs agréables. Ceci est en contradiction avec une étude récente montrant que le domaine latéral est dédié à la représentation des odeurs désagréables (Murata *et al.*, 2015). Dans cette étude, les auteurs ont trouvé que le TOI est plus activé par les odeurs préalablement associées à un choc électrique, suggérant qu'il contient une représentation du caractère aversif appris de l'odeur. Ceci peut être expliqué par le fait que le TO reçoit dans sa partie latérale une innervation de l'amygdale basolatérale (Krettek & Price, 1978; Russchen & Price, 1984), une structure essentielle pour le conditionnement de peur olfactive (Sullivan *et al.*, 2000; Moriceau & Sullivan, 2004a).

Notre intérêt s'est également porté sur des entités énigmatiques du TO, les ICs. Ils sont des agrégats des cellules granulaires GABAergiques (Fallon *et al.*, 1978; Hsieh & Puche, 2013) que l'on ne retrouve dans aucune autre région cérébrale que le TO (Adjei & Wesson, 2015). Comme dans le reste du TO, nous avons noté que les ICs sont plus activés par les odeurs plaisantes seulement. A ce jour, leur rôle est inconnu mais nous savons qu'ils sont interconnectés avec la VTA, le NAc, l'amygdale et le PirCx (Fallon *et al.*, 1978) et qu'ils recevraient également l'information de l'organe voméronasal (Ubeda-Banon *et al.*, 2008). Ainsi, ils pourraient ainsi être impliqués dans l'attraction spontanée médiée par les odeurs sociales émises par un congénère de sexe opposé, comportement qui, nous l'avons vu, nécessiterait l'intégrité du TO (Agustin-Pavon *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2015).

Nos résultats apportent des informations complémentaires à l'absence quasi-totale de connaissances sur le rôle des ICs. Il est intrigant de noter que les cellules granulaires des ICs proviennent de la zone sous ventriculaire (De Marchis *et al.*, 2004; Hsieh & Puche, 2013; 2015) qui est une région proliférative qui fournit des interneurons au BO tout au long de la vie. Fait intéressant, cette contribution neuronale de la zone sous ventriculaire au BO cible les régions requises pour le codage hédonique des odeurs identifiées dans notre première étude (Kermen *et al.*, 2016). En ciblant également les ICs, nous pourrions émettre l'hypothèse d'un rôle similaire de ces cellules granulaires dans le codage hédonique des odeurs et nos résultats sont en faveur de cette hypothèse.

L'activité neuronale du TO (domaine médial) a également été révélée par une approche électrophysiologique d'enregistrements extracellulaires unitaires. Cette technique a permis de confirmer le rôle du TO dans le codage de la valeur hédonique positive des odeurs et de le préciser en donnant accès à une bonne résolution temporelle. En effet, nous avons enregistré les neurones du TO chez la souris en comportement lorsque celle-ci approchait pour la première fois la source contenant l'odeur. Nous avons montré une activité augmentée (fréquence de décharge amplifiée) des neurones du TOm lors de l'approche d'une odeur plaisante par rapport à leur activité basale. Ceci n'a pas été retrouvé dans le cas d'une odeur déplaisante ou dans la condition sans odeur. Une analyse plus précise du comportement d'approche a permis de montrer que l'activité des neurones du TO était corrélée avec la vitesse d'approche de la source. Les souris approchant la source pour la première fois, le faisaient de manière plus rapide lorsque cette dernière contenait une odeur plaisante (également retrouvé dans notre première étude (Kermen *et al.*, 2016)). La vitesse d'approche d'un stimulus a été utilisée dans la littérature comme indicateur des comportements appétitifs, comportements motivés à but de consommation (Balleine & Dickinson, 1994; Ikemoto *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2017). Ainsi, les animaux seraient plus motivés à aller échantillonner pour la première fois la source odorante lorsque celle-ci est plaisante. Compte tenu de la renommée du TO dans les comportements motivés, il est plus que probable que l'augmentation de son activité en réponse aux odeurs plaisantes lors du premier échantillonnage ait pour but de signaler que le stimulus est plaisant et d'entraîner une motivation afin de favoriser la répétition de l'action. Notre première étude associée à des données de la littérature soutient cette hypothèse en montrant que la désinhibition des cellules relais du BO ventro-postérieur, qui ciblent le TO de manière dominante (Price & Powell, 1971; Scott *et al.*, 1980), augmente l'attractivité des odeurs. En complément, l'étude de Root *et al.* (2014) vient parachever cette théorie en montrant que l'inhibition des projections

bulbaires sur le TO ne modifie pas l'aversion d'odeurs déplaisantes telles que la TMT (Root *et al.*, 2014).

En complément, il serait intéressant de comparer nos données (électrophysiologiques et comportementales obtenues lors de la première approche de l'odeur) à celles obtenues au fil des approches successives (2^{ème}, 3^{ème} etc), qui pourraient être sous tendues par un niveau de motivation différent.

Somme toute, nos données montrent que le TO est spécifiquement activé en réponse aux odeurs plaisantes non-biologiques et suggèrent ainsi que le TO gouverne l'attraction spontanément en codant particulièrement la valeur hédonique positive. Nos constatations, associées aux résultats d'autres travaux (Agustin-Pavon *et al.*, 2014; Fitzgerald *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2015; Gadziola *et al.*, 2015; Murata *et al.*, 2015), permettent de postuler que le TO est une structure clé orchestrant la perception hédonique des odeurs, et l'attraction qu'elles induisent.

Compte tenu de sa double affiliation au cortex olfactif et au striatum ventral (Ikemoto, 2007; Wesson & Wilson, 2011), le TO est idéalement positionné pour intégrer l'information olfactive et la traduire en comportements motivés, soit directement, soit en interagissant avec les structures du système de la récompense/motivation (Wesson & Wilson, 2011; Fitzgerald *et al.*, 2014).

C – Le système de la récompense est recruté par les odeurs selon leur valeur hédonique

Une odeur agréable suscite une attraction tandis qu'une odeur désagréable provoque un évitement. Nous émettons l'hypothèse que ces réponses comportementales hédoniques aux odeurs sont le fruit de la motivation et donc solliciterait le système de la récompense qui gère la composante motivationnelle des stimuli et permet un comportement adapté à la situation environnante. Le TO constitue une porte d'entrée sensorielle olfactive vers le système de la récompense qui pourrait intégrer l'information olfactive et la traduire en comportements motivés (Wesson & Wilson, 2011). Ainsi, le système de récompense serait sollicité dans le traitement de la composante hédonique olfactive avec pour finalité de motiver un comportement adéquat d'approche ou de retrait de la source odorante.

Bien que les neurones qui répondent à la récompense se trouvent partout dans le cerveau, les principaux centres du système de récompense comprennent le cortex orbitofrontal (OFC), le

striatum ventral (noyau accumbens et OT), le pallidum ventral (VP) et l'aire tegmentale ventrale (VTA) (Haber, 2011). Fait intéressant, le TO innerve toutes ces structures (Heimer & Wilson, 1975; Fallon, 1983; Barbas, 1993; Illig, 2005; Wesson & Wilson, 2011). Au moyen de notre méthode de cartographie, nous avons analysé l'activité neuronale (expression du gène c-Fos) des structures énoncées précédemment en réponse à notre panel d'odorants non-biologiques qui suscitent une approche ou un évitement spontané. Nous avons montré une activation différentielle du système de récompense en fonction de la valeur hédonique de l'odeur. Plus précisément, les odeurs plaisantes activent le VP, comme le TO. Les odeurs déplaisantes quant à elles provoquent une augmentation de l'activité de la VTA dans sa région postérieure (VTAp) et de l'OFC dans sa partie antéro-médiale, et une réduction de l'activité du NAc dans son domaine Shell.

Comme le TO, le VP répond spécifiquement aux odeurs plaisantes. Nous avons vu en introduction que le VP et le TO sont deux structures très enchevêtrées, si bien que pour certains auteurs, le VP est confondu avec le TO (Millhouse, 1986; Ikemoto, 2007; Wesson & Wilson, 2011). Ainsi, trouver un effet hédonique similaire sur l'activité de ces deux structures n'est pas surprenant et conforte nos données. Le VP semble crucial pour tous les aspects du comportement lié à la récompense, pour la motivation et pour la perception hédonique (Murray & Shizgal, 1996; Panagis *et al.*, 1997; Smith *et al.*, 2009). Par exemple, le VP semble être essentiel à l'attraction spontanée envers des signaux socio-sexuels (Novejarque *et al.*, 2011; Agustin-Pavon *et al.*, 2014; DiBenedictis *et al.*, 2014).

Nous l'avons abordé en introduction, il est bien établi que les comportements motivés/renforcés recrutent le système méso-limbique constitué de neurones DAergiques localisés dans la VTA qui se projettent sur le striatum ventral, en particulier sur le NAc. Par exemple, les odeurs socio-sexuelles peuvent induire une libération de DA dans le NAc qui guiderait l'attraction vers un partenaire sexuel potentiel et contribuerait au comportement sexuel (Pfaus *et al.*, 1990; Pfaus & Phillips, 1991; Damsma *et al.*, 1992; Wenkstern *et al.*, 1993). Ici, nous avons identifié que le NAcShell répondait différemment selon la valeur hédonique innée de l'odeur. Il est intéressant de rappeler que le domaine Shell est davantage impliqué dans les comportements de récompense et reçoit plus d'innervation de la VTA que le domaine Core (Gerfen *et al.*, 1987; Rodd-Henricks *et al.*, 2002; Berlanga *et al.*, 2003).

Toujours au sein du système méso-limbique, nous avons trouvé que la VTA était modulée par la valeur hédonique de l'odeur dans sa région postérieure. De manière importante, des données d'auto-administration intracrânienne de drogues qui ont ciblé différentes régions de la VTA montrent que la portion postérieure est plus importante que la portion antérieure pour

l'établissement des comportements motivés, et suggèrent un rôle particulier de la VTAp dans le traitement des stimuli renforçateurs/récompensants (Ikemoto, 2007; 2010). Fait intéressant, la VTAp est très reliée au domaine Shell du NAc et au domaine médial du TO, régions particulièrement cruciales dans l'orchestration des comportements motivés.

Il a été mis en évidence que la VTA humaine montrait une plus grande activité en réponse à un mélange agréable d'odeurs connues (orange et rose (Bensafi *et al.*, 2012)). Menegas *et al.* (2017) ont récemment montré que les neurones DAergiques de la VTA ne répondaient pas à une odeur avant que celle-ci n'ait été associée à une récompense, c'est-à-dire avant qu'elle n'acquière les caractéristiques hédoniques motivationnelles de la récompense qu'elle prédit. Dans le même ordre d'idée, certains auteurs ont démontré un recrutement de la VTA et du NAcShell dans la motivation pour obtenir des odeurs biologiques spontanément plaisantes (signaux olfactifs socio-sexuels), seulement après que les animaux aient expérimenté une première fois les odeurs (Moncho-Bogani *et al.*, 2005; Martinez-Ricos *et al.*, 2007). Ceci suggère que la VTA et le NAcShell ne réagissent pas spontanément aux odeurs attractives mais sont recrutés secondairement quand les animaux deviennent experts pour ces odeurs. Ceci expliquerait pourquoi nous ne révélons pas d'activation de la VTA (et du NAcShell) en réponse aux odeurs spontanément plaisantes étant donné que dans cette expérience, les odeurs sont non-expérimentées.

Nos travaux ont en revanche révélé une activité accrue de la VTAp en réponse aux odeurs spontanément déplaisantes peu attractives. Plusieurs scénarios possibles peuvent expliquer ce résultat. Tout d'abord, malgré une implication bien connue des neurones DAergiques de la VTA dans la signalisation des récompenses, chez l'homme (D'Ardenne *et al.*, 2008) comme chez l'animal (Flagel *et al.*, 2011), ces neurones peuvent également être activés par des événements aversifs, stressants et saillants (Abercrombie *et al.*, 1989; Mantz *et al.*, 1989; Guarraci *et al.*, 1999; Guarraci & Kapp, 1999; Bassareo *et al.*, 2002; Young, 2004; Anstrom & Woodward, 2005; Brischoux *et al.*, 2009; Matsumoto & Hikosaka, 2009; Bromberg-Martin *et al.*, 2010; Ungless *et al.*, 2010; Cohen *et al.*, 2012), tels que des odorants déplaisants. Deuxièmement, les neurones DAergiques de la VTA sont connus pour être inhibés par des neurones GABAergiques également présents en grande quantité dans la VTA (30% des neurones) (Johnson & North, 1992; Zhou *et al.*, 2009a). Ces neurones GABAergiques sont activés par des stimuli aversifs et guident les réponses de retrait (Tan *et al.*, 2012), probablement en supprimant l'activité des neurones DAergiques lors d'évènements aversifs.

Curieusement, il a été découvert, dans la partie postérieure de la VTA, un centre constitué presque exclusivement de neurones GABAergiques qui projettent massivement sur les

neurones DAergiques de la VTA (Perrotti *et al.*, 2005; Olson & Nestler, 2007; Jhou *et al.*, 2009a; Jhou *et al.*, 2009b; Kaufling *et al.*, 2009; Kaufling *et al.*, 2010; Barrot *et al.*, 2012; Ikemoto & Bonci, 2014). La stimulation de ces neurones GABAergiques par des stimuli aversifs conduit à une inhibition des neurones DAergiques (~90% (Hong *et al.*, 2011)) et donc à une diminution de la libération de DA.

Dans la même ligne de preuve, le domaine postérieur de la VTA est la cible de l'habénula latérale (HbL), une structure considérée cruciale dans les réponses comportementales aux stimuli aversifs (Hikosaka, 2010). De manière intéressante, la stimulation de la HbL active neurones GABAergiques du domaine postérieur de la VTA, qui conduit à l'inhibition du NAcShell et à l'excitation du PFCm (Lammel *et al.*, 2014). Ces dernières données sont en accord avec les résultats que nous mettons en évidence lors d'une stimulation olfactive déplaisante (activation de la VTAp qui fait concerne probablement les neurones GABAergiques, inhibition du NAcShell et activation du OFCm antérieur).

Enfin, il est à noter qu'une activation des neurones GABAergiques de la VTAp, permise par l'activation de la HbL, provoque une aversion de place conditionnée (Lammel *et al.*, 2012). Si l'activité que nous avons révélée dans la VTAp fait effectivement référence aux neurones GABAergiques (ce qui faudrait déterminer en identifiant le profil neurochimique des neurones activés par une double immunohistochimie par exemple), cela suggèrerait que des odeurs spontanément déplaisantes pourraient induire une aversion de place, ce que l'on observe effectivement (étude 3). De plus, il serait intéressant de regarder si la HbL est activée par les odeurs déplaisantes dans notre expérience.

Un autre fait intéressant est que les neurones GABAergiques de la VTA reçoivent notamment une innervation inhibitrice à partir des MSNs (Xia *et al.*, 2011), représentants neuronaux majeurs du TO (Millhouse & Heimer, 1984). Ceci suggèrerait que l'activation du TO et du VP par les odeurs plaisantes, pourrait rendre silencieux les neurones GABAergiques de la VTA et désinhiber en conséquence les neurones DAergiques se trouvant sous leur contrôle (Fallon, 1983). En revanche, les odeurs désagréables, qui n'activent pas le TO, ni le VP, permettraient le maintien de l'inhibition tonique réalisée par les neurones GABAergiques de la VTA sur les neurones DAergiques (Steffensen *et al.*, 1998; Jhou *et al.*, 2009b).

UNE ODEUR = UNE RECOMPENSE ?

Précédemment nous avons montré qu'une odeur à valeur hédonique positive, non-expérimentée et sans signification biologique particulière, sollicitait le système de récompense. Si une odeur non biologique recrute effectivement le système de récompense selon sa valeur hédonique innée, cela suppose qu'une telle odeur pourrait elle-même agir comme une récompense.

Nous l'avons vu en introduction, une récompense fait référence à un événement à valeur motivationnelle particulière qui renforce le comportement. En recherche animale, deux tests comportementaux sont classiquement utilisés pour évaluer le pouvoir renforçant d'un stimulus et sa valeur motivationnelle par la mise en jeu fonctionnelle du système de récompense : la préférence de place conditionnée (CPP ou conditioned place preference) et l'auto-stimulation intra-crânienne.

A – Préférence de place conditionnée

Le test de CPP utilise une cage expérimentale possédant deux compartiments que l'animal peut distinguer. L'objectif est de faire associer à l'animal un des deux compartiments à notre stimulus d'intérêt lors d'une phase de conditionnement. Si le stimulus est renforçateur, l'animal va préférer (passer plus de temps) dans le compartiment préalablement renforcé même en l'absence du stimulus. Le système de la récompense est connu pour sous-tendre ce comportement. Une préférence de place peut être obtenue au moyen de nourriture ou de drogues par exemple.

Grâce à ce test, nous avons évalué si notre panel d'odorants non-biologiques initialement non-expérimentés avait des propriétés renforçatrices. Nous avons révélé que les odorants spontanément plaisants induisaient une préférence de place, comme les drogues et la nourriture le feraient, et pouvaient donc servir de renforçateurs positif du comportement. Ces résultats sont en accord avec certaines études dans lesquelles les auteurs ont démontré par le test de CPP les propriétés renforçatrices de signaux olfactifs socio-sexuels (Martinez-Ricos *et al.*, 2007; Bell *et al.*, 2010; Roberts *et al.*, 2012), des odeurs spontanément attractives à forte connotation biologique pour les animaux. Ici, nous démontrons pour la première fois que les animaux orientent leur choix pour obtenir une odeur initialement non-expérimentée, non associée à une récompense et sans signification biologique particulière. En d'autres termes, nous démontrons qu'une telle odeur peut agir comme une récompense.

Fait intéressant, nous avons constaté que certaines odeurs spontanément déplaisantes provoquaient une aversion de place et agiraient donc comme des renforçateurs négatifs. Cependant, ce résultat mérite d'être étudié plus largement puisqu'il n'a pas été retrouvé pour tous les odorants déplaisants testés (absence d'effet avec l'odorant p-Cresol). Le p-Cresol est un odorant spontanément peu attractif pour les souris (études 1 et 3). L'absence d'une aversion conditionnée induite par le p-Cresol pourrait être expliquée par différents scénarios. D'une part, il est possible que la valeur hédonique de cet odorant, bien que spontanément déplaisant, soit modérément négative et insuffisante en rapport coût/bénéfice pour générer la motivation nécessaire au comportement d'évitement. D'autre part il est possible que la valeur hédonique négative d'une odeur ne soit pas le seul critère à l'origine d'un renforcement négatif et ne le dicte que partiellement.

Somme toute, nos résultats de CPP soutiennent très fortement nos données précédentes d'imagerie cellulaire et renforcent l'hypothèse d'une implication du système de récompense dans le traitement de l'odeur comme une récompense.

B – La dopamine joue un rôle central dans la motivation et la récompense

La dopamine (DA) est l'acteur principal du système de la récompense (cf. Introduction). Ainsi, si une odeur agit comme une récompense et donc sollicite ce circuit, une altération de la transmission DAergique devrait altérer le comportement motivé par l'odeur (Fibiger, 1978; Wise, 1978; Fibiger & Phillips, 1986; Wise & Bozarth, 1987; Ikemoto & Panksepp, 1999; Pierce & Kumaresan, 2006). En bloquant les récepteurs DAergiques D1 par l'injection intrapéritonéale de l'antagoniste DAergique SCH 23399 lors de la phase de conditionnement du test de CPP, nous avons aboli la préférence de place induite par une odeur plaisante (+Limonène). Ce résultat ne peut être expliqué par une altération de la détection de l'odeur au cours du conditionnement car nous avons montré que le +Limonène était effectivement détecté chez les souris injectées avec l'antagoniste DAergique.

Pour d'autres stimuli renforçants comme la nourriture par exemple, deux composantes sont connues pour dicter le niveau d'attractivité de la récompense : le « wanting » (désir) et le « liking » (plaisir) (Berridge *et al.*, 2009). Le plus souvent, nous aimons ce que nous désirons et désirons ce que nous aimons.

Ces deux composantes de l'attractivité comportementale sont sous-tendues par des mécanismes cérébraux différents. En effet, le « liking » est sous-tendu par plusieurs systèmes de neurotransmetteurs (les opioïdes, les endocannabinoïdes et les benzodiazépines) spécifiquement libérés dans des zones très restreintes du système limbique appelés « centres hédoniques », « centres du plaisir » ou encore « hedonic hotspots ». Ces petites zones ont été localisées au sein du NAc, du VP et du OFCm antérieur (Berridge & Kringelbach, 2015).

Il est intéressant de noter que ces « centres hédoniques » sont localisés précisément dans les régions au sein desquelles nous avons trouvé une modulation de l'activité neuronale (expression de c-Fos) selon la valeur hédonique des odeurs. Ce qui suggère que la composante « liking » est importante pour le codage de l'aspect hédonique des odeurs et l'attraction qui en découle. Evidemment il serait intéressant de rendre causale cette corrélation en modulant par exemple les systèmes de neurotransmission impliqués via des antagonistes pharmacologiques et déterminer l'effet comportemental d'une telle manipulation.

Le « wanting » lui est gouverné par la DA libérée à partir des neurones de la VTA dans les structures du système de la récompense telles que le NAc, le TO et le PFC, régions où nous avons également montré une modulation de l'activité neuronale (expression de c-Fos et enregistrements électrophysiologiques pour le TO) en réponse à la valeur hédonique des odeurs. Nous avons d'autre part démontré que le blocage de la DA pendant la phase de conditionnement du paradigme de CPP altérerait la préférence de place normalement induite par les odeurs spontanément plaisantes.

Ainsi, la composante « wanting » de la récompense semble requise dans le comportement d'attraction médié par les odeurs, et serait probablement assurée par la voie méso-limbique (Baker *et al.*, 1998). Il serait intéressant de moduler plus localement la libération de DA au sein des structures de la récompense afin de décortiquer plus finement les bases neurales du pouvoir renforçant des odeurs. Ceci pourrait être réalisé ciblant spécifiquement par optogénétique les neurones DAergiques de la VTA et en stimulant les différentes projections de ces neurones à destination du NAc ou du PFC par exemple (Tsai *et al.*, 2009; Witten *et al.*, 2011; Cohen *et al.*, 2012).

Les résultats de CPP obtenus indiquent que les odorants non biologiques sont capables d'induire une préférence de place et donc un renforcement comme d'autres stimuli récompensants tels que la nourriture ou les drogues, et que le substrat neuronal de ce conditionnement implique la dopamine, messenger principal du système de la récompense (Ikemoto, 2007; Berridge *et al.*, 2009).

C - Auto-stimulation du bulbe olfactif

Un autre moyen de tester si un stimulus tel qu'une odeur pourrait agir comme une récompense est d'évaluer si ce stimulus peut servir de renforçateur opérant. Un conditionnement opérant est un processus d'apprentissage au cours duquel la force du comportement est modifiée par une récompense (ou une punition). Dans notre première étude, nous avons démontré que la région ventrale du BO était impliquée dans le codage de l'attractivité des odeurs (Kermen *et al.*, 2016). Notamment, nous avons montré que la stimulation optogénétique (inhibition) des cellules GRs du BO postéro-ventral augmentait l'attractivité des odeurs.

Est-ce que cette même manipulation optogénétique représenterait une récompense suffisante pour induire un renforcement opérant ?

Nous avons ici testé si ces souris étaient capables de renforcer leur comportement (mettre le nez dans le trou) pour obtenir d'elles-mêmes la stimulation optogénétique (inhibition) des cellules GRs du BO postéro-ventral. Nos données révèlent que les souris NpHR augmentent leur temps d'exploration du trou au fil des jours, elles s'auto-stimulent donc de plus en plus lorsque la stimulation est effective. Lorsque la stimulation lumineuse n'est plus délivrée, nous observons une phase d'extinction du comportement, les souris NpHR apprennent rapidement (3 jours) que mettre le nez dans le trou ne conduit plus à une stimulation lumineuse et réduisent ainsi leur comportement. Ce dernier réapparaît très rapidement (1 jour) lorsque la stimulation lumineuse devient à nouveau disponible. Ces résultats ne sont pas retrouvés dans le cas de souris contrôles qui se désintéressent progressivement du trou au fil des jours malgré une stimulation lumineuse disponible.

D'autre part, la stimulation optogénétique de la partie antéro-ventrale du BO n'induit pas d'auto-stimulation. Cette différence de comportement basée sur la localisation du site d'injection du virus halorhodopsine (antérieur vs postérieur) confirme l'importance de l'axe antéro-postérieur du BO dans le codage de l'attractivité des odeurs mis en évidence dans notre première étude et souligne un rôle important du réseau olfactif bulbaire ventro-postérieur dans le comportement d'attraction.

Il est intéressant de noter que dans notre manipulation, les neurones ciblés étaient les interneurons GRs inhibiteurs des cellules principales (M et P) du BO postéro-ventral. La lumière induirait ainsi une inhibition des GRs inhibitrices et donc une désinhibition des cellules M et P, conduisant à une augmentation du message de sortie au niveau de la partie postéro-

ventrale du BO. De manière intéressante, les cellules P de la partie postéro-ventrale du BO envoient d'importantes projections au niveau du TO (Price & Powell, 1971; Scott *et al.*, 1980; Wesson & Wilson, 2011), qui pourrait donc supporter, directement et/ou par recrutement du système de la récompense, le comportement motivé d'attraction.

Il a été suggéré par Wesson et Wilson qu'une altération du message olfactif arrivant sur le TO pourrait perturber le développement normal des comportements motivés. Nos présents résultats soutiennent cette prédiction et indiquent que la stimulation optogénétique du BO postéro-ventral est renforçante car il est possible de motiver les animaux à agir pour obtenir une telle stimulation.

Dans une dernière série d'expériences, les souris devaient mettre leur nez dans un trou afin d'obtenir le stimulus olfactif (auto-administration) et non plus la stimulation optogénétique du BO. Si l'odorant est perçu comme une récompense, l'animal devrait là aussi maximiser ses chances d'obtention en augmentant l'exploration du trou. Les résultats indiquent que lorsque le stimulus utilisé est une odeur spontanément plaisante (+Limonène), l'animal n'augmente pas son exploration au fil des jours (données non présentées). Ce résultat indique qu'une stimulation avec une odeur non-biologique et non-expérimentée (+Limonène) n'est pas suffisante pour motiver l'animal à mettre davantage son nez dans le trou pour obtenir le stimulus. Ainsi, si une odeur plaisante peut induire un affect positif comme montré lors de notre expérience de CPP dans laquelle une odeur spontanément plaisante (+Limonène par exemple) est capable d'induire une préférence de place, elle ne semble pas suffisante à la mise en place d'un conditionnement opérant dans lequel l'odeur constitue la récompense. Cette divergence entre la capacité de l'odeur à induire une CPP mais pas de conditionnement à l'auto-administration, peut provenir du fait que, contrairement à la présente expérience d'auto-administration, la CPP met en jeu un apprentissage non-opérant où l'odeur est passivement associée à un compartiment. Ce type d'apprentissage est implicite et les animaux n'ont pas à réaliser d'action particulière pour obtenir le stimulus. En revanche, dans le cas d'un apprentissage opérant, les animaux doivent réaliser un effort, produire une action (mettre le nez dans le trou) potentiellement coûteuse en énergie, pour obtenir le stimulus. Le niveau différent de motivation requis dans les deux tests pourrait expliquer ces différences comportementales.

Le fait qu'une odeur non-biologique, bien que plaisante, ne semble pas représenter une récompense suffisamment motivante pour le conditionnement opérant (contrairement à la stimulation optogénétique) lorsque le coût de l'action est élevé rejoint les données obtenues avec des récompenses naturelles (nourriture) pour lesquelles le renforcement ne peut agir que

lorsque sa valeur récompensante est artificiellement accrue par privation préalable (Carelli, 2002; Minamimoto *et al.*, 2012; Skibicka *et al.*, 2012).

D – Quelle pourrait être la nature du pouvoir récompensant d'une odeur sans signification biologique ?

Nous avons vu en introduction que les récompenses induisent des sentiments subjectifs de plaisir (hédonie) et des états émotionnels positifs ce qui correspond parfaitement aux effets que peuvent avoir certaines odeurs.

Les odeurs sont reconnues pour leur pouvoir d'évoquer des réactions émotionnelles fortes ce qui pourrait expliquer leur valeur de récompense.

Mais est-ce qu'un odorant sans signification biologique particulière et non préalablement associé à un stimulus positif ou négatif pourrait induire des réactions émotionnelles ?

Dans ce contexte, j'ai émis l'hypothèse que les odeurs, reconnues pour leur pouvoir d'évoquer des réactions émotionnelles fortes, pouvaient moduler le niveau d'anxiété. Donc, en parallèle de mon projet principal, j'ai testé l'effet de l'exposition aux odeurs plaisantes sur l'anxiété grâce à la Black/White box, un test communément utilisé pour mesurer le niveau d'anxiété chez la souris (Fig.7). Il consiste en une cage expérimentale divisée en deux compartiments : un éclairé qui est anxiogène et un sombre qui ne l'est pas. Dans ce test, plus la souris va passer du temps passé dans la partie éclairée, plus son niveau d'anxiété sera considéré comme faible. Nous montrons que la diffusion d'odorants spontanément plaisants (c'est-à-dire fortement explorés ; le +Limonène et le cis-3-Hexenol) réduit l'anxiété des souris puisque ces dernières passent plus de temps dans le compartiment éclairé par rapport aux animaux contrôles non exposés aux odorants (Fig.7). Afin de valider le pouvoir anxiolytique des odorants plaisants nous avons d'autre part mesuré les niveaux d'anxiété des souris après diffusion d'odorants neutres (c'est-à-dire dont le temps d'exploration n'est pas différent de l'huile minérale contrôle sans odeur : le Dodécanal et le β -Caryophyllène). Nos données indiquent que les odorants neutres ne modifient pas le niveau d'anxiété des souris (temps dans le compartiment éclairé non différent de celui des animaux contrôles sans odeur) (Fig.7).

Ainsi, les odeurs non-biologiques plaisantes induiraient des émotions positives ce qui pourrait expliquer qu'elles agissent comme des récompenses. Les odeurs déplaisantes quant à elles pourraient induire des émotions négatives et générer un stress et un évitement (Morrow *et al.*, 2000; Morrow *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2007; Kobayakawa *et al.*, 2007; Nikaido & Nakashima, 2009; Horii *et al.*, 2010; Ferrero *et al.*, 2011; Dewan *et al.*, 2013; Li & Liberles, 2015).

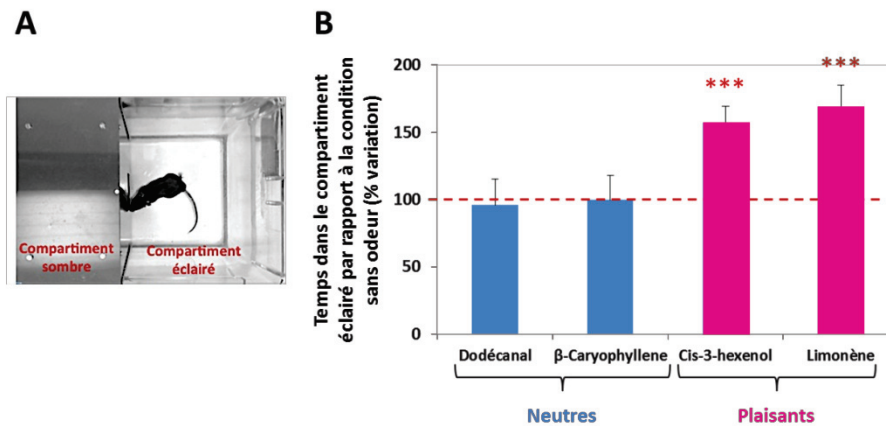


Figure 7. Les odorants plaisants auraient des propriétés anxiolytiques. L'anxiété a été évaluée en Black/White Box (photographie A). (B) Deux odorants spontanément neutres (Dodécanal et β-Caryophyllène) et deux odorants spontanément plaisants (Limonène et Cis-3-hexenol) ont été testées. Le temps passé dans la partie éclairée est en lien direct avec l'anxiété de sorte qu'il est réduit lorsque le taux d'anxiété augmente. Ce temps augmente avec la diffusion d'odeurs plaisantes par rapport aux odeurs neutres suggérant un effet anxiolytique des odeurs plaisantes. $n=10$ souris/odeur. Test de comparaison des moyennes (one sample t-test) à une valeur de référence d'animaux contrôles fixée à 100%. *** : $p<0,0001$. Les résultats représentent les moyennes (%) \pm sem.

LA REPRESENTATION DE LA VALENCE HEDONIQUE POURRAIT-ELLE ETRE LATERALISEE ?

Au cours de cette thèse nous avons évalué et comparé l'activité neuronale évoquée par des odeurs plaisantes et déplaisantes afin d'identifier les régions cérébrales modulées par la dimension hédonique des odeurs. Il est important de noter que nous avons choisi, dans un but de simplification, d'analyser l'activité évoquée par les odeurs dans un seul hémisphère, le droit, ce qui soulève la question de la latéralisation cérébrale. Les hommes comme les animaux présentent des asymétries en termes de structures et de fonctions cérébrales ainsi que de comportements (Toga & Thompson, 2003). Chez l'homme, la littérature suggère que les aspects émotionnels sont davantage traités par l'hémisphère droit (Silberman & Weingartner, 1986). Concernant la valeur hédonique des odeurs, l'existence d'une spécialisation hémisphérique n'a pas été clairement identifiée. Alors que certains résultats d'imagerie fonctionnelle suggèrent que

le jugement hédonique explicite est latéralisé à l'OFC gauche (Royet *et al.*, 1999; Royet *et al.*, 2000; Royet *et al.*, 2001), d'autres suggèrent que ce processus pourrait être latéralisé vers l'OFC droit (Zatorre *et al.*, 2000) ou peut se faire de manière bilatérale, symétrique entre les deux OFC (Royet *et al.*, 2003). Une autre étude a montré que les odeurs déplaisantes évoquaient une activité accrue à gauche, dans le PirCx et l'insula, et ceci lorsque l'odeur est présente ou en condition d'imagerie mentale (Bensafi *et al.*, 2007). Etant donné que, chez l'homme, la valeur hédonique est très dépendante des connaissances sémantiques et de la consigne de la tâche expérimentale (Zatorre *et al.*, 2000; Rouby *et al.*, 2009), et que l'activation corticale associée au traitement du langage est fortement latéralisée à l'hémisphère gauche (Binder *et al.*, 1997), l'interprétation des résultats devient complexe et l'existence d'une latéralisation de la perception hédonique demande à être clarifiée. Il serait intéressant d'examiner si une latéralisation cérébrale est observable dans nos expériences.

CONCLUSION GENERALE

L'ensemble des résultats rapportés par ce travail de thèse montre que la valeur hédonique innée d'odeurs non biologiques est codée dans le cerveau dès l'arrivée du message olfactif dans le BO, et est ensuite transmis principalement au TO et au circuit de la récompense, générant la motivation nécessaire à l'approche comportementale de l'odeur. Enfin, il montre qu'une odeur sans signification biologique particulière peut représenter une récompense en soi, révélant ainsi une nouvelle fonction des odeurs.

Le fait qu'une odeur agisse comme une récompense devra être pris en considération lors d'études utilisant un conditionnement entre une odeur et un renforçateur. En effet, il est probable que les caractéristiques hédoniques et motivationnelles des deux stimuli (odeur associée à une récompense alimentaire par exemple) soient incohérentes et interfèrent au niveau du codage cérébral, complexifiant l'interprétation des résultats (Devore *et al.*, 2013). Il serait intéressant de déterminer et de comparer les bases neurales de la valeur hédonique acquise des odeurs en fonction de leur valeur hédonique spontanée, c'est à dire après association d'une récompense (alimentaire par exemple) à une odeur spontanément plaisante vs à une odeur spontanément déplaisante. Dans les deux cas l'odeur prédirait la récompense (alimentaire) après conditionnement mais aurait initialement une valeur hédonique différente.

La valeur récompensante de l'odeur pourrait être utilisée pour stimuler le système de récompense dans des conditions pathologiques dans lesquelles il est altéré (vieillesse, addiction, maladie de Parkinson) et constituer un complément à l'arsenal thérapeutique.

PERSPECTIVES

Une perspective de travail très intéressante que nous avons à court terme est d'étudier l'effet du vieillissement sur les préférences olfactives. Chez l'homme comme chez l'animal, les déficits olfactifs liés au vieillissement ont largement été étudiés et recensent des altérations de la détection, de la discrimination et de la mémorisation des odeurs (Murphy *et al.*, 1991; Enwere *et al.*, 2004; Kraemer & Apfelbach, 2004; Hummel *et al.*, 2007; Dardou *et al.*, 2008; Patel & Larson, 2009; Rey *et al.*, 2012; Moreno *et al.*, 2014). Une seule étude chez l'homme s'est intéressée à la perception hédonique au cours du vieillissement et montre qu'elle serait altérée (les odeurs plaisantes deviennent moins plaisantes avec l'âge, tandis que les odeurs déplaisantes ou neutres ne sont pas modifiées (Joussain *et al.*, 2013)). Malgré les conséquences d'une telle modification sur la perception des odeurs et donc sur la qualité de vie des personnes âgées (altération de l'appréciation de la nourriture par exemple (Croy *et al.*, 2014)), les mécanismes neuronaux sous-jacent restent inconnus et très peu étudiés.

Au cours de ma thèse, nous avons testé des souris âgées de 22 mois avec le même panel d'odorants non-biologiques que celui utilisé dans mes précédents travaux. Comme montré chez l'homme (Joussain *et al.*, 2013), nous avons révélé un effet de l'âge sur la valeur hédonique des odeurs (Fig.8), ce qui confirme encore davantage l'utilisation valide du modèle animal pour l'étude des bases neurales de la valeur hédonique des odeurs. Actuellement les données histologiques (expression de c-Fos) sont en cours de traitement pour déterminer la réponse cérébrale aux odeurs. Les patrons cérébraux d'activation induits par les odeurs plaisantes et déplaisantes chez les souris âgées pourront prochainement être analysés et comparés à ceux induits par les mêmes odeurs chez les souris jeunes grâce à notre nouvelle méthode d'imagerie. Nous pourrions alors déterminer quelles structures sont altérées lorsqu'une odeur plaisante devient anhédonique.

En considérant nos données principales (études 1 et 3), nous supposons que l'altération comportementale visible au cours du vieillissement serait supportée par une altération des bases neurales précédemment identifiées au niveau du BO, du TO et du système de la récompense, et posons la question de savoir si une odeur peut toujours agir comme une récompense chez les

animaux âgés. Afin d'apporter un début d'élément de réponse, nous avons montré que l'effet positif de l'exposition aux odeurs plaisantes sur l'anxiété (test de Black/White box) est altéré précocement au cours du vieillissement (Fig.9).

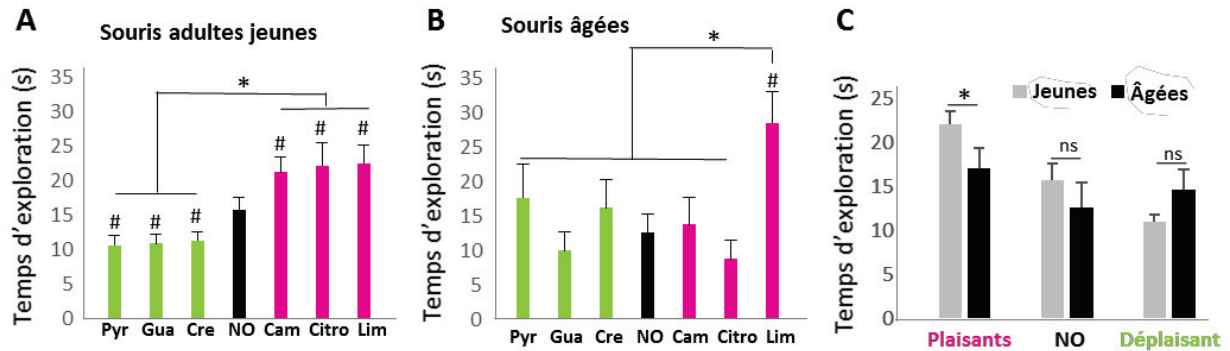


Figure 8. L'attraction spontanée des odorants est altérée au cours du vieillissement. Les temps d'exploration de chaque odorant ont été mesurés automatiquement pendant 2 minutes grâce au test de planche à un trou. Conditions : Pyridine (Pyr), guaiacol (Gua), p-cresol (Cre), citronellol (Citro), limonène (Lim), camphre (Cam) et contrôle sans odeur (NO). Un effet odeur est observé (A) chez les souris adultes jeunes (ANOVA à mesures répétées ; $F(1.174)=2,31$ $p<0.0001$, $n=30$ souris) et (B) chez les souris âgées (ANOVA à mesures répétées ; $F(1.174)=7,31$ $p<0.0001$; $n=30$ souris). (t-test unilatéral apparié, #: $p<0.05$ par rapport au NO et *: $p<0.05$ pour la différence entre les odorants). C. L'ANOVA à deux facteurs montre une interaction entre l'âge et les odorants indiquant l'impact de l'âge sur le niveau d'exploration des odorants ($F(6.406)=3.11$ $p=0.005$). Le vieillissement altère l'exploration des odorants plaisants (t-test bilatéral $p=0.03$) mais pas celle des déplaisants ($p=0.065$) ou de la condition contrôle NO ($p=0.18$). Les données sont représentées en moyennes \pm s.e.m. De manière intéressante, certains odorants plaisants sont conservés avec l'âge (Lim).

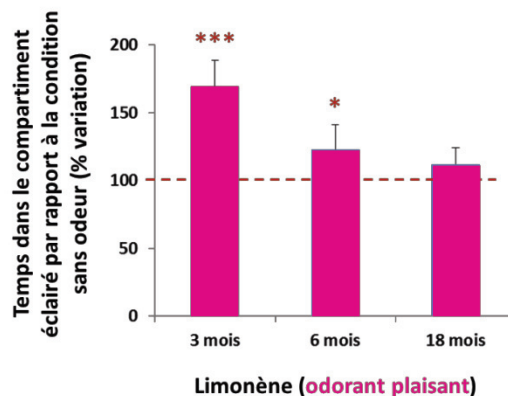


Figure 9. L'effet positif des odeurs plaisantes (Limonène) sur l'anxiété (cf. Fig.7) est altéré précocement au cours du vieillissement. Similairement à la Figure 7, l'anxiété a été évaluée grâce au test de Black/White box après diffusion d'une odeur plaisante (Limonène) chez des souris adultes jeunes (2-3 mois), d'âge moyen (6 mois) et âgées (18 mois). Le limonène a été choisi sur la base de données précédentes (cf. Fig.8) qui ont montré que cet odorant plaisant est conservé au cours du vieillissement. $n=6-9$ /groupe (Test de comparaison des moyennes (one sample t-test) à une valeur de référence d'animaux contrôles fixée à 100%. *** : $p<0,001$, * : $p<0.05$). Les résultats représentent les moyennes (%) \pm sem.

Références

- Abercrombie, E.D., Keefe, K.A., DiFrischia, D.S. & Zigmond, M.J. (1989) Differential effect of stress on in vivo dopamine release in striatum, nucleus accumbens, and medial frontal cortex. *Journal of neurochemistry*, **52**, 1655-1658.
- Abriat, A., Barkat, S., Bensafi, M., Rouby, C. & Fanchon, C. (2007) Psychological and physiological evaluation of emotional effects of a perfume in menopausal women. *International journal of cosmetic science*, **29**, 399-408.
- Ackerl, K., Atzmueller, M. & Grammer, K. (2002) The scent of fear. *Neuro endocrinology letters*, **23**, 79-84.
- Adipietro, K.A., Mainland, J.D. & Matsunami, H. (2012) Functional evolution of mammalian odorant receptors. *PLoS genetics*, **8**, e1002821.
- Adjei, S. & Wesson, D.W. (2015) Laminar and spatial localization of the islands of Calleja in mice. *Neuroscience*, **287**, 137-143.
- Agapakis, C.M. & Tolaas, S. (2012) Smelling in multiple dimensions. *Current opinion in chemical biology*, **16**, 569-575.
- Agster, K.L. & Burwell, R.D. (2009) Cortical efferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *Hippocampus*, **19**, 1159-1186.
- Agustin-Pavon, C., Martinez-Garcia, F. & Lanuza, E. (2014) Focal lesions within the ventral striato-pallidum abolish attraction for male chemosignals in female mice. *Behavioural brain research*, **259**, 292-296.
- Al Ain, S., Belin, L., Schaal, B. & Patris, B. (2013) How does a newly born mouse get to the nipple? Odor substrates eliciting first nipple grasping and sucking responses. *Developmental psychobiology*, **55**, 888-901.
- Alaoui-Ismaili, O., Robin, O., Rada, H., Dittmar, A. & Vernet-Maury, E. (1997a) Basic emotions evoked by odorants: comparison between autonomic responses and self-evaluation. *Physiology & behavior*, **62**, 713-720.
- Alaoui-Ismaili, O., Vernet-Maury, E., Dittmar, A., Delhomme, G. & Chanel, J. (1997b) Odor hedonics: connection with emotional response estimated by autonomic parameters. *Chemical senses*, **22**, 237-248.
- Alheid, G.F. & Heimer, L. (1988) New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: the striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. *Neuroscience*, **27**, 1-39.
- Anderson, A.K., Christoff, K., Stappen, I., Panitz, D., Ghahremani, D.G., Glover, G., Gabrieli, J.D. & Sobel, N. (2003) Dissociated neural representations of intensity and valence in human olfaction. *Nature neuroscience*, **6**, 196-202.
- Anstrom, K.K. & Woodward, D.J. (2005) Restraint increases dopaminergic burst firing in awake rats. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, **30**, 1832-1840.
- Apfelbach, R., Blanchard, C.D., Blanchard, R.J., Hayes, R.A. & McGregor, I.S. (2005) The effects of predator odors in mammalian prey species: a review of field and laboratory studies. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **29**, 1123-1144.
- Arctander (1994) Perfume and flavor chemicals: (aroma chemicals). *Carol Stream IL: Allured Pub. Corp.*

- Astic, L. & Saucier, D. (1986) Anatomical mapping of the neuroepithelial projection to the olfactory bulb in the rat. *Brain research bulletin*, **16**, 445-454.
- Astic, L. & Saucier, D. (1988) Topographical projection of the septal organ to the main olfactory bulb in rats: ontogenetic study. *Brain research*, **470**, 297-303.
- Astic, L., Saucier, D. & Holley, A. (1987) Topographical relationships between olfactory receptor cells and glomerular foci in the rat olfactory bulb. *Brain research*, **424**, 144-152.
- 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.
- Baker, D.A., Specio, S.E., Tran-Nguyen, L.T. & Neisewander, J.L. (1998) Amphetamine infused into the ventrolateral striatum produces oral stereotypies and conditioned place preference. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **61**, 107-111.
- Baliki, M.N., Mansour, A., Baria, A.T., Huang, L., Berger, S.E., Fields, H.L. & Apkarian, A.V. (2013) Parceling human accumbens into putative core and shell dissociates encoding of values for reward and pain. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **33**, 16383-16393.
- Balleine, B. & Dickinson, A. (1994) Role of cholecystokinin in the motivational control of instrumental action in rats. *Behavioral neuroscience*, **108**, 590-605.
- Barbas, H. (1993) Organization of cortical afferent input to orbitofrontal areas in the rhesus monkey. *Neuroscience*, **56**, 841-864.
- Barkai, E., Bergman, R.E., Horwitz, G. & Hasselmo, M.E. (1994) Modulation of associative memory function in a biophysical simulation of rat piriform cortex. *Journal of neurophysiology*, **72**, 659-677.
- Barkai, E. & Saar, D. (2001) Cellular correlates of olfactory learning in the rat piriform cortex. *Reviews in the neurosciences*, **12**, 111-120.
- Barkat, S., Poncelet, J., Landis, B.N., Rouby, C. & Bensafi, M. (2008) Improved smell pleasantness after odor-taste associative learning in humans. *Neuroscience letters*, **434**, 108-112.
- Barnes, D.C., Chapuis, J., Chaudhury, D. & Wilson, D.A. (2011) Odor fear conditioning modifies piriform cortex local field potentials both during conditioning and during post-conditioning sleep. *PloS one*, **6**, e18130.
- Barnes, D.C., Hofacer, R.D., Zaman, A.R., Rennaker, R.L. & Wilson, D.A. (2008) Olfactory perceptual stability and discrimination. *Nature neuroscience*, **11**, 1378-1380.
- Barrot, M., Sesack, S.R., Georges, F., Pistis, M., Hong, S. & Jhou, T.C. (2012) Braking dopamine systems: a new GABA master structure for mesolimbic and nigrostriatal functions. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **32**, 14094-14101.
- Bassareo, V., De Luca, M.A. & Di Chiara, G. (2002) Differential Expression of Motivational Stimulus Properties by Dopamine in Nucleus Accumbens Shell versus Core and Prefrontal Cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **22**, 4709-4719.
- Bassareo, V. & Di Chiara, G. (1997) Differential influence of associative and nonassociative learning mechanisms on the responsiveness of prefrontal and accumbal dopamine transmission to food stimuli in rats fed ad libitum. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **17**, 851-861.
- Bell, M.R., Meerts, S.H. & Sisk, C.L. (2010) Male Syrian hamsters demonstrate a conditioned place preference for sexual behavior and female chemosensory stimuli. *Hormones and behavior*, **58**, 410-414.

- Ben-Shaul, Y., Katz, L.C., Mooney, R. & Dulac, C. (2010) In vivo vomeronasal stimulation reveals sensory encoding of conspecific and allospecific cues by the mouse accessory olfactory bulb. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 5172-5177.
- Bennet, M.H. (1968) The role of the anterior limb of the anterior commissure in olfaction. *Physiology & behavior*, **3**, 507-515.
- Bensafi, M., Iannilli, E., Poncelet, J., Seo, H.S., Gerber, J., Rouby, C. & Hummel, T. (2012) Dissociated representations of pleasant and unpleasant olfacto-trigeminal mixtures: an fMRI study. *PloS one*, **7**, e38358.
- Bensafi, M., Porter, J., Pouliot, S., Mainland, J., Johnson, B., Zelano, C., Young, N., Bremner, E., Aframian, D., Khan, R. & Sobel, N. (2003) Olfactory motor activity during imagery mimics that during perception. *Nature neuroscience*, **6**, 1142-1144.
- Bensafi, M., Rouby, C., Farget, V., Bertrand, B., Vigouroux, M. & Holley, A. (2002a) Autonomic nervous system responses to odours: the role of pleasantness and arousal. *Chemical senses*, **27**, 703-709.
- Bensafi, M., Rouby, C., Farget, V., Vigouroux, M. & Holley, A. (2002b) Asymmetry of pleasant vs. unpleasant odor processing during affective judgment in humans. *Neuroscience letters*, **328**, 309-313.
- Bensafi, M., Sobel, N. & Khan, R.M. (2007) Hedonic-specific activity in piriform cortex during odor imagery mimics that during odor perception. *Journal of neurophysiology*, **98**, 3254-3262.
- Bensafi, M., Tsutsui, T., Khan, R., Levenson, R.W. & Sobel, N. (2004) Sniffing a human sex-steroid derived compound affects mood and autonomic arousal in a dose-dependent manner. *Psychoneuroendocrinology*, **29**, 1290-1299.
- Berkowicz, D.A., Trombley, P.Q. & Shepherd, G.M. (1994) Evidence for glutamate as the olfactory receptor cell neurotransmitter. *Journal of neurophysiology*, **71**, 2557-2561.
- Berlanga, M.L., Olsen, C.M., Chen, V., Ikegami, A., Herring, B.E., Duvauchelle, C.L. & Alcantara, A.A. (2003) Cholinergic interneurons of the nucleus accumbens and dorsal striatum are activated by the self-administration of cocaine. *Neuroscience*, **120**, 1149-1156.
- Berlyne, D.E. (1950) Novelty and curiosity as determinants of exploratory behaviour. *British Journal of Psychology. General*, **Section**, **41**, 68-80.
- Berlyne, D.E. (1960) Conflict, arousal, and curiosity. *McGraw-Hill, New York, NY*.
- Berridge, K.C. & Kringelbach, M.L. (2015) Pleasure systems in the brain. *Neuron*, **86**, 646-664.
- Berridge, K.C. & Robinson, T.E. (1998) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain research. Brain research reviews*, **28**, 309-369.
- Berridge, K.C., Robinson, T.E. & Aldridge, J.W. (2009) Dissecting components of reward: 'liking', 'wanting', and learning. *Current opinion in pharmacology*, **9**, 65-73.
- Bertran-Gonzalez, J., Bosch, C., Maroteaux, M., Matamalas, M., Herve, D., Valjent, E. & Girault, J.A. (2008) Opposing patterns of signaling activation in dopamine D1 and D2 receptor-expressing striatal neurons in response to cocaine and haloperidol. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **28**, 5671-5685.
- Binder, J.R., Frost, J.A., Hammeke, T.A., Cox, R.W., Rao, S.M. & Prieto, T. (1997) Human brain language areas identified by functional magnetic resonance imaging. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **17**, 353-362.
- Bingham, P.M., Churchill, D. & Ashikaga, T. (2007) Breast milk odor via olfactometer for tube-fed, premature infants. *Behavior research methods*, **39**, 630-634.

- Bjorklund, A. & Dunnett, S.B. (2007) Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in neurosciences*, **30**, 194-202.
- Boeijinga, P.H. & Lopes da Silva, F.H. (1989) Modulations of EEG activity in the entorhinal cortex and forebrain olfactory areas during odour sampling. *Brain research*, **478**, 257-268.
- Borowsky, B., Adham, N., Jones, K.A., Raddatz, R., Artymyshyn, R., Ogozalek, K.L., Durkin, M.M., Lakhiani, P.P., Bonini, J.A., Pathirana, S., Boyle, N., Pu, X., Kouranova, E., Lichtblau, H., Ochoa, F.Y., Branchek, T.A. & Gerald, C. (2001) Trace amines: identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 8966-8971.
- Brauchli, P., Ruegg, P.B., Etzweiler, F. & Zeier, H. (1995) Electrocortical and autonomic alteration by administration of a pleasant and an unpleasant odor. *Chemical senses*, **20**, 505-515.
- Breer, H. (2003) Olfactory receptors: molecular basis for recognition and discrimination of odors. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **377**, 427-433.
- Brischoux, F., Chakraborty, S., Brierley, D.I. & Ungless, M.A. (2009) Phasic excitation of dopamine neurons in ventral VTA by noxious stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 4894-4899.
- Brodman, K. (1909) Vergleichende lokalisationslehre der grobhirnrinde in ihren principien dargestellt auf grund des zellenbaues. *Leipzig: Barth*.
- Bromberg-Martin, E.S., Matsumoto, M. & Hikosaka, O. (2010) Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. *Neuron*, **68**, 815-834.
- Brown, R.E. (1986) Social and hormonal factors influencing infanticide and its suppression in adult male Long-Evans rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of comparative psychology*, **100**, 155-161.
- Buck, L. & Axel, R. (1991) A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell*, **65**, 175-187.
- Buck, L.B. (1996) Information coding in the mammalian olfactory system. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, **61**, 147-155.
- Budinger, E., Heil, P., Hess, A. & Scheich, H. (2006) Multisensory processing via early cortical stages: Connections of the primary auditory cortical field with other sensory systems. *Neuroscience*, **143**, 1065-1083.
- Bueno, C.H., Zangrossi, H., Jr. & Viana Mde, B. (2007) GABA/benzodiazepine receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus regulate both anxiety and panic-related defensive responses in the elevated T-maze. *Brain research bulletin*, **74**, 134-141.
- Bunzow, J.R., Sonders, M.S., Arttamangkul, S., Harrison, L.M., Zhang, G., Quigley, D.I., Darland, T., Suchland, K.L., Pasumamula, S., Kennedy, J.L., Olson, S.B., Magenis, R.E., Amara, S.G. & Grandy, D.K. (2001) Amphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, lysergic acid diethylamide, and metabolites of the catecholamine neurotransmitters are agonists of a rat trace amine receptor. *Molecular pharmacology*, **60**, 1181-1188.
- Buonviso, N. & Chaput, M. (2000) Olfactory experience decreases responsiveness of the olfactory bulb in the adult rat. *Neuroscience*, **95**, 325-332.
- Buonviso, N. & Chaput, M.A. (1990) Response similarity to odors in olfactory bulb output cells presumed to be connected to the same glomerulus: electrophysiological study using simultaneous single-unit recordings. *Journal of neurophysiology*, **63**, 447-454.
- Buonviso, N., Chaput, M.A. & Berthommier, F. (1992) Temporal pattern analyses in pairs of neighboring mitral cells. *Journal of neurophysiology*, **68**, 417-424.

- Buonviso, N., Revial, M.F. & Jourdan, F. (1991) The Projections of Mitral Cells from Small Local Regions of the Olfactory Bulb: An Anterograde Tracing Study Using PHA-L (Phaseolus vulgaris Leucoagglutinin). *The European journal of neuroscience*, **3**, 493-500.
- Bushdid, C., Magnasco, M.O., Vosshall, L.B. & Keller, A. (2014) Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli. *Science*, **343**, 1370-1372.
- Calleja, C. (1893) La region olfactoria del cerebro. *Madrid: Nicolas Moya*.
- Calu, D.J., Roesch, M.R., Stalnaker, T.A. & Schoenbaum, G. (2007) Associative encoding in posterior piriform cortex during odor discrimination and reversal learning. *Cerebral cortex*, **17**, 1342-1349.
- Canteras, N.S. (2002) The medial hypothalamic defensive system: hodological organization and functional implications. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **71**, 481-491.
- Canteras, N.S., Chiavegatto, S., Ribeiro do Valle, L.E. & Swanson, L.W. (1997) Severe reduction of rat defensive behavior to a predator by discrete hypothalamic chemical lesions. *Brain research bulletin*, **44**, 297-305.
- Caous, C.A. (2015) Modulation of cerebral haemodynamic response to olfactory stimuli by emotional valence detected by functional magnetic resonance imaging. *Dement. neuropsychol.*, **9**, 405-412.
- Carelli, R.M. (2002) Nucleus accumbens cell firing during goal-directed behaviors for cocaine vs. 'natural' reinforcement. *Physiology & behavior*, **76**, 379-387.
- Carlezon, W.A., Jr., Devine, D.P. & Wise, R.A. (1995) Habit-forming actions of nomifensine in nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, **122**, 194-197.
- Carlezon, W.A., Jr. & Wise, R.A. (1996) Rewarding actions of phencyclidine and related drugs in nucleus accumbens shell and frontal cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **16**, 3112-3122.
- Castro, D.C. & Berridge, K.C. (2017) Opioid and orexin hedonic hotspots in rat orbitofrontal cortex and insula. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **114**, E9125-E9134.
- Chabaud, P., Ravel, N., Wilson, D.A. & Gervais, R. (1999) Functional coupling in rat central olfactory pathways: a coherence analysis. *Neuroscience letters*, **276**, 17-20.
- Chabaud, P., Ravel, N., Wilson, D.A., Mouly, A.M., Vigouroux, M., Farget, V. & Gervais, R. (2000) Exposure to behaviourally relevant odour reveals differential characteristics in rat central olfactory pathways as studied through oscillatory activities. *Chemical senses*, **25**, 561-573.
- Chang, H.T. & Kitai, S.T. (1985) Projection neurons of the nucleus accumbens: an intracellular labeling study. *Brain research*, **347**, 112-116.
- Chapuis, J., Garcia, S., Messaoudi, B., Thevenet, M., Ferreira, G., Gervais, R. & Ravel, N. (2009) The way an odor is experienced during aversive conditioning determines the extent of the network recruited during retrieval: a multisite electrophysiological study in rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **29**, 10287-10298.
- Chapuis, J. & Wilson, D.A. (2011) Bidirectional plasticity of cortical pattern recognition and behavioral sensory acuity. *Nature neuroscience*, **15**, 155-161.
- Chen, D. & Haviland-Jones, J. (2000) Human olfactory communication of emotion. *Perceptual and motor skills*, **91**, 771-781.
- Chen, Y., Getchell, M.L., Ding, X. & Getchell, T.V. (1992) Immunolocalization of two cytochrome P450 isozymes in rat nasal chemosensory tissue. *Neuroreport*, **3**, 749-752.

- Choi, G.B., Stettler, D.D., Kallman, B.R., Bhaskar, S.T., Fleischmann, A. & Axel, R. (2011) Driving opposing behaviors with ensembles of piriform neurons. *Cell*, **146**, 1004-1015.
- Chu, S. & Downes, J.J. (2000) Odour-evoked autobiographical memories: psychological investigations of proustian phenomena. *Chemical senses*, **25**, 111-116.
- Cleland, T.A., Johnson, B.A., Leon, M. & Linster, C. (2007) Relational representation in the olfactory system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 1953-1958.
- Cleland, T.A. & Linster, C. (2003) Central olfactory processing. In Doty, R.L. (ed.), *Handbook of Olfaction and Gustation*, 2nd ed. *Marcel Dekker, New York*, 165–180.
- Cleland, T.A. & Sethupathy, P. (2006) Non-topographical contrast enhancement in the olfactory bulb. *BMC neuroscience*, **7**, 7.
- Cohen, J.Y., Haesler, S., Vong, L., Lowell, B.B. & Uchida, N. (2012) Neuron-type-specific signals for reward and punishment in the ventral tegmental area. *Nature*, **482**, 85-88.
- Cohen, Y., Reuveni, I., Barkai, E. & Maroun, M. (2008) Olfactory learning-induced long-lasting enhancement of descending and ascending synaptic transmission to the piriform cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **28**, 6664-6669.
- Colle, W. & A., W.R. (1980) Effects of nucleus accumbens amphetamine on lateral hypothalamus brain stimulation reward. *Brain research*, **459**: 356-360.
- Corbett, D. & Wise, R.A. (1980) Intracranial self-stimulation in relation to the ascending dopaminergic systems of the midbrain: a moveable electrode mapping study. *Brain research*, **185**, 1-15.
- Cromwell, H.C. & Berridge, K.C. (1993) Where does damage lead to enhanced food aversion: the ventral pallidum/substantia innominata or lateral hypothalamus? *Brain research*, **624**, 1-10.
- Croy, I., Nordin, S. & Hummel, T. (2014) Olfactory disorders and quality of life--an updated review. *Chemical senses*, **39**, 185-194.
- D'Ardenne, K., McClure, S.M., Nystrom, L.E. & Cohen, J.D. (2008) BOLD responses reflecting dopaminergic signals in the human ventral tegmental area. *Science*, **319**, 1264-1267.
- Dalley, J.W., Cardinal, R.N. & Robbins, T.W. (2004) Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **28**, 771-784.
- Damsma, G., Pfaus, J.G., Wenkstern, D., Phillips, A.G. & Fibiger, H.C. (1992) Sexual behavior increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of male rats: comparison with novelty and locomotion. *Behavioral neuroscience*, **106**, 181-191.
- Dardou, D., Datiche, F. & Cattarelli, M. (2008) Memory is differently impaired during aging according to the learning tasks in the rat. *Behavioural brain research*, **194**, 193-200.
- Datiche, F., Litaudon, P. & Cattarelli, M. (1996) Intrinsic association fiber system of the piriform cortex: a quantitative study based on a cholera toxin B subunit tracing in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **376**, 265-277.
- Datiche, F., Rouillet, F. & Cattarelli, M. (2001) Expression of Fos in the piriform cortex after acquisition of olfactory learning: an immunohistochemical study in the rat. *Brain research bulletin*, **55**, 95-99.
- David, S. (2002) Linguistic Expressions for Odors in French. In: *Olfaction, Taste, and Cognition* (Rouby C, Schaal B, Dubois D, Gervais R, Holley A, Rouby C, Schaal B, Dubois D, Gervais R, Holley A, eds). *Cambridge: Cambridge University Press*, 82–99.
- Davis, M. (1992) The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annual review of neuroscience*, **15**, 353-375.

- Day, H.E., Masini, C.V. & Campeau, S. (2004) The pattern of brain c-fos mRNA induced by a component of fox odor, 2,5-dihydro-2,4,5-trimethylthiazoline (TMT), in rats, suggests both systemic and processive stress characteristics. *Brain research*, **1025**, 139-151.
- de Araujo, I.E., Rolls, E.T., Velazco, M.I., Margot, C. & Cayeux, I. (2005) Cognitive modulation of olfactory processing. *Neuron*, **46**, 671-679.
- de Groot, J.H., Smeets, M.A., Kaldewaij, A., Duijndam, M.J. & Semin, G.R. (2012) Chemosignals communicate human emotions. *Psychological science*, **23**, 1417-1424.
- De Marchis, S., Fasolo, A. & Puche, A.C. (2004) Subventricular zone-derived neuronal progenitors migrate into the subcortical forebrain of postnatal mice. *The Journal of comparative neurology*, **476**, 290-300.
- de Olmos, J.S. & Heimer, L. (1999) The concepts of the ventral striatopallidal system and extended amygdala. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **877**, 1-32.
- De Saint Jan, D. & Westbrook, G.L. (2005) Detecting activity in olfactory bulb glomeruli with astrocyte recording. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **25**, 2917-2924.
- Del-Fava, F., Hasue, R.H., Ferreira, J.G. & Shammah-Lagnado, S.J. (2007) Efferent connections of the rostral linear nucleus of the ventral tegmental area in the rat. *Neuroscience*, **145**, 1059-1076.
- Deutch, A.Y. & Cameron, D.S. (1992) Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell. *Neuroscience*, **46**, 49-56.
- Devore, S., Lee, J. & Linster, C. (2013) Odor preferences shape discrimination learning in rats. *Behavioral neuroscience*, **127**, 498-504.
- Dewan, A., Pacifico, R., Zhan, R., Rinberg, D. & Bozza, T. (2013) Non-redundant coding of aversive odours in the main olfactory pathway. *Nature*, **497**, 486-489.
- Dhawale, A.K., Hagiwara, A., Bhalla, U.S., Murthy, V.N. & Albeanu, D.F. (2010) Non-redundant odor coding by sister mitral cells revealed by light addressable glomeruli in the mouse. *Nature neuroscience*, **13**, 1404-1412.
- Dias, B.G., Banerjee, S.B., Goodman, J.V. & Ressler, K.J. (2013) Towards new approaches to disorders of fear and anxiety. *Current opinion in neurobiology*, **23**, 346-352.
- DiBenedictis, B.T., Olugbemi, A.O., Baum, M.J. & Cherry, J.A. (2014) 6-Hydroxydopamine lesions of the anteromedial ventral striatum impair opposite-sex urinary odor preference in female mice. *Behavioural brain research*, **274**, 243-247.
- DiBenedictis, B.T., Olugbemi, A.O., Baum, M.J. & Cherry, J.A. (2015) DREADD-Induced Silencing of the Medial Olfactory Tubercle Disrupts the Preference of Female Mice for Opposite-Sex Chemosignals(1,2,3). *eNeuro*, **2**.
- Didier, A., Carleton, A., Bjaalie, J.G., Vincent, J.D., Ottersen, O.P., Storm-Mathisen, J. & Lledo, P.M. (2001) A dendrodendritic reciprocal synapse provides a recurrent excitatory connection in the olfactory bulb. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 6441-6446.
- Dielenberg, R.A. & McGregor, I.S. (2001) Defensive behavior in rats towards predatory odors: a review. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **25**, 597-609.
- Distel, H., Ayabe-Kanamura, S., Martinez-Gomez, M., Schicker, I., Kobayakawa, T., Saito, S. & Hudson, R. (1999) Perception of everyday odors--correlation between intensity, familiarity and strength of hedonic judgement. *Chemical senses*, **24**, 191-199.
- Djordjevic, J., Lundstrom, J.N., Clement, F., Boyle, J.A., Pouliot, S. & Jones-Gotman, M. (2008) A rose by any other name: would it smell as sweet? *Journal of neurophysiology*, **99**, 386-393.

- Doty, R. (2003) Methods for Determining Odor Preferences in Nonhuman Mammals. In: Handbook of Olfaction and Gustation (Doty R, ed). *Informa Healthcare*.
- Doty, R.L. (2012) Olfaction in Parkinson's disease and related disorders. *Neurobiology of disease*, **46**, 527-552.
- Dravnieks, A. (1985) Atlas of odor character profiles. *Philadelphia, Pa.: ASTM*.
- Dubois, D. & Rouby, C. (2002) Names and Categories for Odors: The Veridical Label. In: Olfaction, Taste, and Cognition (Rouby C, Schaal B, Dubois D, Gervais R, Holley A, Rouby C, Schaal B, Dubois D, Gervais R, Holley A, eds). *Cambridge: Cambridge University Press*, 47–66.
- Duchamp-Viret, P., Chaput, M.A. & Duchamp, A. (1999) Odor response properties of rat olfactory receptor neurons. *Science*, **284**, 2171-2174.
- Edmonds, D.E. & Gallistel, C.R. (1977) Reward versus performance in self-stimulation: electrode-specific effects of alpha-methyl-p-tyrosine on reward in the rat. *Journal of comparative and physiological psychology*, **91**, 962-974.
- Eeckman, F.H. & Freeman, W.J. (1990) Correlations between unit firing and EEG in the rat olfactory system. *Brain research*, **528**, 238-244.
- Engen, T. (1973) The sense of smell. *Annual review of psychology*, **24**, 187-206.
- Engen, T. (1991) Odor sensation and memory. *New York: Praeger*.
- Ennis, M., Zhou, F.M., Ciombor, K.J., Aroniadou-Anderjaska, V., Hayar, A., Borrelli, E., Zimmer, L.A., Margolis, F. & Shipley, M.T. (2001) Dopamine D2 receptor-mediated presynaptic inhibition of olfactory nerve terminals. *Journal of neurophysiology*, **86**, 2986-2997.
- Enwere, E., Shingo, T., Gregg, C., Fujikawa, H., Ohta, S. & Weiss, S. (2004) Aging results in reduced epidermal growth factor receptor signaling, diminished olfactory neurogenesis, and deficits in fine olfactory discrimination. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **24**, 8354-8365.
- Ezeh, P.I., Wellis, D.P. & Scott, J.W. (1993) Organization of inhibition in the rat olfactory bulb external plexiform layer. *Journal of neurophysiology*, **70**, 263-274.
- Fallon, J.H. (1983) The islands of Calleja complex of rat basal forebrain II: connections of medium and large sized cells. *Brain research bulletin*, **10**, 775-793.
- Fallon, J.H. & Moore, R.Y. (1978) Catecholamine innervation of the basal forebrain. IV. Topography of the dopamine projection to the basal forebrain and neostriatum. *The Journal of comparative neurology*, **180**, 545-580.
- Fallon, J.H., Riley, J.N., Sipe, J.C. & Moore, R.Y. (1978) The islands of Calleja: organization and connections. *The Journal of comparative neurology*, **181**, 375-395.
- Fenu, S., Spina, L., Rivas, E., Longoni, R. & Di Chiara, G. (2006) Morphine-conditioned single-trial place preference: role of nucleus accumbens shell dopamine receptors in acquisition, but not expression. *Psychopharmacology*, **187**, 143-153.
- Ferdenzi, C., Schirmer, A., Roberts, S.C., Delplanque, S., Porcherot, C., Cayeux, I., Velazco, M.I., Sander, D., Scherer, K.R. & Grandjean, D. (2011) Affective dimensions of odor perception: a comparison between Swiss, British, and Singaporean populations. *Emotion*, **11**, 1168-1181.
- Ferrero, D.M., Lemon, J.K., Fluegge, D., Pashkovski, S.L., Korzan, W.J., Datta, S.R., Spehr, M., Fendt, M. & Liberles, S.D. (2011) Detection and avoidance of a carnivore odor by prey. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 11235-11240.

- Fibiger, H.C. (1978) Drugs and reinforcement mechanisms: a critical review of the catecholamine theory. *Annual review of pharmacology and toxicology*, **18**, 37-56.
- Fibiger, H.C. & Phillips, A.G. (1986) Reward, motivation, cognition: Psychobiology of mesotelencephalic dopamine systems. In: Mountcastle VB, Bloom FE, Geiger SR, editors. *Handbook of Physiology: Vol. 4. The Nervous System. Bethesda, MD: American Physiological Society*, 647–675.
- Filipkowski, R.K. (2000) Inducing gene expression in barrel cortex--focus on immediate early genes. *Acta neurobiologiae experimentalis*, **60**, 411-418.
- Fillion, T.J. & Blass, E.M. (1986) Infantile experience with suckling odors determines adult sexual behavior in male rats. *Science*, **231**, 729-731.
- Fitzgerald, B.J., Richardson, K. & Wesson, D.W. (2014) Olfactory tubercle stimulation alters odor preference behavior and recruits forebrain reward and motivational centers. *Frontiers in behavioral neuroscience*, **8**, 81.
- Flagel, S.B., Clark, J.J., Robinson, T.E., Mayo, L., Czuj, A., Willuhn, I., Akers, C.A., Clinton, S.M., Phillips, P.E. & Akil, H. (2011) A selective role for dopamine in stimulus-reward learning. *Nature*, **469**, 53-57.
- Forestell, C.A. & Mennella, J.A. (2005) Children's hedonic judgments of cigarette smoke odor: effects of parental smoking and maternal mood. *Psychology of addictive behaviors : journal of the Society of Psychologists in Addictive Behaviors*, **19**, 423-432.
- Fouriez, G. & Wise, R.A. (1976) Pimozide-induced extinction of intracranial self-stimulation: response patterns rule out motor or performance deficits. *Brain research*, **103**, 377-380.
- Freitas, R.L., Uribe-Marino, A., Castiblanco-Urbina, M.A., Elias-Filho, D.H. & Coimbra, N.C. (2009) GABA(A) receptor blockade in dorsomedial and ventromedial nuclei of the hypothalamus evokes panic-like elaborated defensive behaviour followed by innate fear-induced antinociception. *Brain research*, **1305**, 118-131.
- Friedrich, R.W. & Korsching, S.I. (1997) Combinatorial and chemotopic odorant coding in the zebrafish olfactory bulb visualized by optical imaging. *Neuron*, **18**, 737-752.
- Fuster, J.M. (1997) *The Prefrontal Cortex-Anatomy Physiology, and Neuropsychology of the Frontal Lobe* (Third Edition), Lippincott-Raven, Philadelphia
- Fuster, J.M. (2001) The prefrontal cortex--an update: time is of the essence. *Neuron*, **30**, 319-333.
- Gadziola, M.A., Tylicki, K.A., Christian, D.L. & Wesson, D.W. (2015) The olfactory tubercle encodes odor valence in behaving mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **35**, 4515-4527.
- Gadziola, M.A. & Wesson, D.W. (2016) The Neural Representation of Goal-Directed Actions and Outcomes in the Ventral Striatum's Olfactory Tubercle. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **36**, 548-560.
- Gardner, E.L. & Ashby, C.R., Jr. (2000) Heterogeneity of the mesotelencephalic dopamine fibers: physiology and pharmacology. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **24**, 115-118.
- Gerfen, C.R., Herkenham, M. & Thibault, J. (1987) The neostriatal mosaic: II. Patch- and matrix-directed mesostriatal dopaminergic and non-dopaminergic systems. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **7**, 3915-3934.
- Gervais, R., Buonviso, N., Martin, C. & Ravel, N. (2007) What do electrophysiological studies tell us about processing at the olfactory bulb level? *Journal of physiology, Paris*, **101**, 40-45.
- Ghosh, S., Larson, S.D., Hefzi, H., Marnoy, Z., Cutforth, T., Dokka, K. & Baldwin, K.K. (2011) Sensory maps in the olfactory cortex defined by long-range viral tracing of single neurons. *Nature*, **472**, 217-220.

- Giessel, A.J. & Datta, S.R. (2014) Olfactory maps, circuits and computations. *Current opinion in neurobiology*, **24**, 120-132.
- Goeders, N.E., Dworkin, S.I. & Smith, J.E. (1986) Neuropharmacological assessment of cocaine self-administration into the medial prefrontal cortex. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **24**, 1429-1440.
- Goeders, N.E. & Smith, J.E. (1983) Cortical dopaminergic involvement in cocaine reinforcement. *Science*, **221**, 773-775.
- Gottfried, J.A. (2010) Central mechanisms of odour object perception. *Nature reviews. Neuroscience*, **11**, 628-641.
- Gottfried, J.A., Deichmann, R., Winston, J.S. & Dolan, R.J. (2002a) Functional heterogeneity in human olfactory cortex: an event-related functional magnetic resonance imaging study. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **22**, 10819-10828.
- Gottfried, J.A., O'Doherty, J. & Dolan, R.J. (2002b) Appetitive and aversive olfactory learning in humans studied using event-related functional magnetic resonance imaging. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **22**, 10829-10837.
- Gottfried, J.A. & Wu, K.N. (2009) Perceptual and neural pliability of odor objects. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1170**, 324-332.
- Grabenhorst, F. & Rolls, E.T. (2009) Different representations of relative and absolute subjective value in the human brain. *NeuroImage*, **48**, 258-268.
- Grabenhorst, F., Rolls, E.T., Margot, C., da Silva, M.A. & Velazco, M.I. (2007) How pleasant and unpleasant stimuli combine in different brain regions: odor mixtures. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **27**, 13532-13540.
- Gray, P.A. (1924) The cortical lamination pattern of the opossum. *The Journal of comparative neurology*, **37**, 221-263.
- Graziadei, P.P., Levine, R.R. & Graziadei, G.A. (1978) Regeneration of olfactory axons and synapse formation in the forebrain after bulbectomy in neonatal mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **75**, 5230-5234.
- Groenewegen, H.J. & Berendse, H.W. (1990) Connections of the subthalamic nucleus with ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **294**, 607-622.
- Guarraci, F.A., Frohardt, R.J., Young, S.L. & Kapp, B.S. (1999) A functional role for dopamine transmission in the amygdala during conditioned fear. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **877**, 732-736.
- Guarraci, F.A. & Kapp, B.S. (1999) An electrophysiological characterization of ventral tegmental area dopaminergic neurons during differential pavlovian fear conditioning in the awake rabbit. *Behavioural brain research*, **99**, 169-179.
- Guevara-Aguilar, R., Solano-Flores, L.P., Donatti-Albarran, O.A. & Aguilar-Baturoni, H.U. (1982) Differential projections from locus coeruleus to olfactory bulb and olfactory tubercle: an HRP study. *Brain research bulletin*, **8**, 711-719.
- Guthrie, K.M., Anderson, A.J., Leon, M. & Gall, C. (1993) Odor-induced increases in c-fos mRNA expression reveal an anatomical "unit" for odor processing in olfactory bulb. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **90**, 3329-3333.
- Haber, S.N. (2011) Neuroanatomy of Reward: A View from the Ventral Striatum. In Gottfried, J.A. (ed) *Neurobiology of Sensation and Reward*, Boca Raton (FL).

- Haber, S.N., Lynd, E., Klein, C. & Groenewegen, H.J. (1990) Topographic organization of the ventral striatal efferent projections in the rhesus monkey: an anterograde tracing study. *The Journal of comparative neurology*, **293**, 282-298.
- Haberly, L.B. (1998) Olfactory cortex. In Shepherd, G.M. (ed.), *The Synaptic Organization of the Brain*. Oxford University Press, New York, 377-416.
- Haberly, L.B. (2001) Parallel-distributed processing in olfactory cortex: new insights from morphological and physiological analysis of neuronal circuitry. *Chemical senses*, **26**, 551-576.
- Haberly, L.B. & Bower, J.M. (1989) Olfactory cortex: model circuit for study of associative memory? *Trends in neurosciences*, **12**, 258-264.
- Haberly, L.B. & Price, J.L. (1977) The axonal projection patterns of the mitral and tufted cells of the olfactory bulb in the rat. *Brain research*, **129**, 152-157.
- Haberly, L.B. & Price, J.L. (1978) Association and commissural fiber systems of the olfactory cortex of the rat. *The Journal of comparative neurology*, **178**, 711-740.
- Haddad, R., Weiss, T., Khan, R., Nadler, B., Mandairon, N., Bensafi, M., Schneidman, E. & Sobel, N. (2010) Global features of neural activity in the olfactory system form a parallel code that predicts olfactory behavior and perception. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **30**, 9017-9026.
- Halpern, M. & Martinez-Marcos, A. (2003) Structure and function of the vomeronasal system: an update. *Progress in neurobiology*, **70**, 245-318.
- Hamana, K. & Matsuzaki, S. (1984) Unusual polyamines in slime molds *Physarum polycephalum* and *Dictyostelium discoideum*. *Journal of biochemistry*, **95**, 1105-1110.
- Hasselmo, M.E., Wilson, M.A., Anderson, B.P. & Bower, J.M. (1990) Associative memory function in piriform (olfactory) cortex: computational modeling and neuropharmacology. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, **55**, 599-610.
- Heale, V.R., Petersen, K. & Vanderwolf, C.H. (1996) Effect of colchicine-induced cell loss in the dentate gyrus and Ammon's horn on the olfactory control of feeding in rats. *Brain research*, **712**, 213-220.
- Hegoburu, C., Sevelinges, Y., Thevenet, M., Gervais, R., Parrot, S. & Mouly, A.M. (2009) Differential dynamics of amino acid release in the amygdala and olfactory cortex during odor fear acquisition as revealed with simultaneous high temporal resolution microdialysis. *Learning & memory*, **16**, 687-697.
- Heimer, L. (1978) The olfactory cortex and the ventral striatum. In: Livingston KE, Hornykiewicz O, editors. *Limbic Mechanisms: The Continuing Evolution of the Limbic System Concept*. Plenum; New York, 95-187.
- Heimer, L. (2003) A new neuroanatomical framework for neuropsychiatric disorders and drug abuse. *Am J Psychiatry*, **160**, 1726-1739.
- Heimer, L., Switzer, R.D. & Van Hoesen, G.W. (1982) Ventral striatum and ventral pallidum. *Trends in neurosciences*, **5**, 83-87.
- Heimer, L. & Wilson, R.D. (1975) The subcortical projections of the allocortex: similarities in the neural connections of the hippocampus, the piriform cortex and the neocortex. *New York: Raven Press*.
- Henion, K.E. (1971) Odor pleasantness and intensity: a single dimension? *Journal of experimental psychology*, **90**, 275-279.
- Herz, R.S. (2003) The effect of verbal context on olfactory perception. *Journal of experimental psychology. General*, **132**, 595-606.

- Herz, R.S. (2004) A naturalistic analysis of autobiographical memories triggered by olfactory visual and auditory stimuli. *Chemical senses*, **29**, 217-224.
- Herz, R.S. & von Clef, J. (2001) The influence of verbal labeling on the perception of odors: evidence for olfactory illusions? *Perception*, **30**, 381-391.
- Hikosaka, O. (2010) The habenula: from stress evasion to value-based decision-making. *Nature reviews. Neuroscience*, **11**, 503-513.
- Hinds, J.W. (1968) Autoradiographic study of histogenesis in the mouse olfactory bulb. I. Time of origin of neurons and neuroglia. *The Journal of comparative neurology*, **134**, 287-304.
- Hitt, J.C., Bryon, D.M. & Modianos, D.T. (1973) Effects of rostral medial forebrain bundle and olfactory tubercle lesions upon sexual behavior of male rats. *Journal of comparative and physiological psychology*, **82**, 30-36.
- Ho, C.Y. & Berridge, K.C. (2014) Excessive disgust caused by brain lesions or temporary inactivations: mapping hotspots of the nucleus accumbens and ventral pallidum. *The European journal of neuroscience*, **40**, 3556-3572.
- Ho, S.L., Johnson, B.A., Chen, A.L. & Leon, M. (2006) Differential responses to branched and unsaturated aliphatic hydrocarbons in the rat olfactory system. *The Journal of comparative neurology*, **499**, 519-532.
- Hong, S., Jhou, T.C., Smith, M., Saleem, K.S. & Hikosaka, O. (2011) Negative reward signals from the lateral habenula to dopamine neurons are mediated by rostromedial tegmental nucleus in primates. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **31**, 11457-11471.
- Hoover, W.B. & Vertes, R.P. (2011) Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **519**, 3766-3801.
- Horii, Y., Nikaido, Y., Nagai, K. & Nakashima, T. (2010) Exposure to TMT odor affects adrenal sympathetic nerve activity and behavioral consequences in rats. *Behavioural brain research*, **214**, 317-322.
- Horowitz, L.F., Saraiva, L.R., Kuang, D., Yoon, K.H. & Buck, L.B. (2014) Olfactory receptor patterning in a higher primate. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **34**, 12241-12252.
- Howard, J.D., Plailly, J., Grueschow, M., Haynes, J.D. & Gottfried, J.A. (2009) Odor quality coding and categorization in human posterior piriform cortex. *Nature neuroscience*, **12**, 932-938.
- Hsieh, Y.C. & Puche, A.C. (2013) Development of the Islands of Calleja. *Brain research*, **1490**, 52-60.
- Hsieh, Y.C. & Puche, A.C. (2015) GABA modulation of SVZ-derived progenitor ventral cell migration. *Developmental neurobiology*, **75**, 791-804.
- Hu, J., Zhong, C., Ding, C., Chi, Q., Walz, A., Mombaerts, P., Matsunami, H. & Luo, M. (2007) Detection of near-atmospheric concentrations of CO₂ by an olfactory subsystem in the mouse. *Science*, **317**, 953-957.
- 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. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies*, **264**, 237-243.
- Hussain, A., Saraiva, L.R., Ferrero, D.M., Ahuja, G., Krishna, V.S., Liberles, S.D. & Korsching, S.I. (2013) High-affinity olfactory receptor for the death-associated odor cadaverine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **110**, 19579-19584.

- Igarashi, K.M., Ieki, N., An, M., Yamaguchi, Y., Nagayama, S., Kobayakawa, K., Kobayakawa, R., Tanifuji, M., Sakano, H., Chen, W.R. & Mori, K. (2012) Parallel mitral and tufted cell pathways route distinct odor information to different targets in the olfactory cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **32**, 7970-7985.
- Igarashi, K.M., Lu, L., Colgin, L.L., Moser, M.B. & Moser, E.I. (2014) Coordination of entorhinal-hippocampal ensemble activity during associative learning. *Nature*, **510**, 143-147.
- Ikemoto, S. (2003) Involvement of the olfactory tubercle in cocaine reward: intracranial self-administration studies. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **23**, 9305-9311.
- Ikemoto, S. (2007) Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain research reviews*, **56**, 27-78.
- Ikemoto, S. (2010) Brain reward circuitry beyond the mesolimbic dopamine system: a neurobiological theory. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **35**, 129-150.
- Ikemoto, S. & Bonci, A. (2014) Neurocircuitry of drug reward. *Neuropharmacology*, **76 Pt B**, 329-341.
- Ikemoto, S., Glazier, B.S., Murphy, J.M. & McBride, W.J. (1997) Role of dopamine D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens in mediating reward. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **17**, 8580-8587.
- Ikemoto, S. & Panksepp, J. (1999) The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain research. Brain research reviews*, **31**, 6-41.
- Ikemoto, S., Qin, M. & Liu, Z.H. (2005) The functional divide for primary reinforcement of D-amphetamine lies between the medial and lateral ventral striatum: is the division of the accumbens core, shell, and olfactory tubercle valid? *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **25**, 5061-5065.
- Ikemoto, S., Takahashi, M., Tsunoda, N., Maruyama, K., Itakura, H. & Ezaki, O. (1996) High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: differential effects of dietary oils. *Metabolism: clinical and experimental*, **45**, 1539-1546.
- Illig, K.R. (2005) Projections from orbitofrontal cortex to anterior piriform cortex in the rat suggest a role in olfactory information processing. *The Journal of comparative neurology*, **488**, 224-231.
- Illig, K.R. & Haberly, L.B. (2003) Odor-evoked activity is spatially distributed in piriform cortex. *The Journal of comparative neurology*, **457**, 361-373.
- Imai, T. (2014) Construction of functional neuronal circuitry in the olfactory bulb. *Seminars in cell & developmental biology*, **35**, 180-188.
- Imamura, F., Ayoub, A.E., Rakic, P. & Greer, C.A. (2011) Timing of neurogenesis is a determinant of olfactory circuitry. *Nature neuroscience*, **14**, 331-337.
- Inaki, K., Nishimura, S., Nakashiba, T., Itoharu, S. & Yoshihara, Y. (2004) Laminar organization of the developing lateral olfactory tract revealed by differential expression of cell recognition molecules. *The Journal of comparative neurology*, **479**, 243-256.
- Inaki, K., Takahashi, Y.K., Nagayama, S. & Mori, K. (2002) Molecular-feature domains with posterodorsal-anteroventral polarity in the symmetrical sensory maps of the mouse olfactory bulb: mapping of odourant-induced Zif268 expression. *The European journal of neuroscience*, **15**, 1563-1574.
- Iurilli, G. & Datta, S.R. (2017) Population Coding in an Innately Relevant Olfactory Area. *Neuron*, **93**, 1180-1197 e1187.

- Jacob, S., Spencer, N.A., Bullivant, S.B., Sellergren, S.A., Mennella, J.A. & McClintock, M.K. (2004) Effects of breastfeeding chemosignals on the human menstrual cycle. *Human reproduction*, **19**, 422-429.
- Jemiolo, B., Xie, T.M. & Novotny, M. (1991) Socio-sexual olfactory preference in female mice: attractiveness of synthetic chemosignals. *Physiology & behavior*, **50**, 1119-1122.
- Jhou, T.C., Fields, H.L., Baxter, M.G., Saper, C.B. & Holland, P.C. (2009a) The rostromedial tegmental nucleus (RMTg), a GABAergic afferent to midbrain dopamine neurons, encodes aversive stimuli and inhibits motor responses. *Neuron*, **61**, 786-800.
- Jhou, T.C., Geisler, S., Marinelli, M., Degarmo, B.A. & Zahm, D.S. (2009b) The mesopontine rostromedial tegmental nucleus: A structure targeted by the lateral habenula that projects to the ventral tegmental area of Tsai and substantia nigra compacta. *The Journal of comparative neurology*, **513**, 566-596.
- Jin, J., Zelano, C., Gottfried, J.A. & Mohanty, A. (2015) Human Amygdala Represents the Complete Spectrum of Subjective Valence. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **35**, 15145-15156.
- Johnson, B.A. & Leon, M. (2007) Chemotopic odorant coding in a mammalian olfactory system. *The Journal of comparative neurology*, **503**, 1-34.
- Johnson, D.M., Illig, K.R., Behan, M. & Haberly, L.B. (2000) New features of connectivity in piriform cortex visualized by intracellular injection of pyramidal cells suggest that "primary" olfactory cortex functions like "association" cortex in other sensory systems. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **20**, 6974-6982.
- Johnson, M.A., Tsai, L., Roy, D.S., Valenzuela, D.H., Mosley, C., Magklara, A., Lomvardas, S., Liberles, S.D. & Barnea, G. (2012) Neurons expressing trace amine-associated receptors project to discrete glomeruli and constitute an olfactory subsystem. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, 13410-13415.
- Johnson, S.W. & North, R.A. (1992) Two types of neurone in the rat ventral tegmental area and their synaptic inputs. *The Journal of physiology*, **450**, 455-468.
- Josephson, E., Padgett, M.L. & Buxton, D.F. (1997) The lateral and medial compartments of the olfactory tubercle and their relation to olfactory-related input as determined by artificial neural network. *Brain research*, **744**, 253-271.
- Jourdan, F., Dubeau, A., Astic, L. & Holley, A. (1980) Spatial distribution of [¹⁴C]2-deoxyglucose uptake in the olfactory bulbs of rats stimulated with two different odours. *Brain research*, **188**, 139-154.
- Joussain, P., Rouby, C. & Bensafi, M. (2014) A pleasant familiar odor influences perceived stress and peripheral nervous system activity during normal aging. *Frontiers in psychology*, **5**, 113.
- Joussain, P., Thevenet, M., Rouby, C. & Bensafi, M. (2013) Effect of aging on hedonic appreciation of pleasant and unpleasant odors. *PloS one*, **8**, e61376.
- Kaczmarek, L., Zangenehpour, S. & Chaudhuri, A. (1999) Sensory regulation of immediate-early genes c-fos and zif268 in monkey visual cortex at birth and throughout the critical period. *Cerebral cortex*, **9**, 179-187.
- Kadohisa, M. & Wilson, D.A. (2006) Separate encoding of identity and similarity of complex familiar odors in piriform cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 15206-15211.
- Kang, N., Baum, M.J. & Cherry, J.A. (2009) A direct main olfactory bulb projection to the 'vomeronasal' amygdala in female mice selectively responds to volatile pheromones from males. *The European journal of neuroscience*, **29**, 624-634.

- Kaplan, M.S., McNelly, N.A. & Hinds, J.W. (1985) Population dynamics of adult-formed granule neurons of the rat olfactory bulb. *The Journal of comparative neurology*, **239**, 117-125.
- Kapur, S. & Mamo, D. (2003) Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, **27**, 1081-1090.
- Kauer, J.S. (1981) Olfactory receptor cell staining using horseradish peroxidase. *The Anatomical record*, **200**, 331-336.
- Kaufling, J., Veinante, P., Pawlowski, S.A., Freund-Mercier, M.J. & Barrot, M. (2009) Afferents to the GABAergic tail of the ventral tegmental area in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **513**, 597-621.
- Kaufling, J., Waltisperger, E., Bourdy, R., Valera, A., Veinante, P., Freund-Mercier, M.J. & Barrot, M. (2010) Pharmacological recruitment of the GABAergic tail of the ventral tegmental area by acute drug exposure. *British journal of pharmacology*, **161**, 1677-1691.
- Kaupp, U.B. (2010) Olfactory signalling in vertebrates and insects: differences and commonalities. *Nature reviews. Neuroscience*, **11**, 188-200.
- Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., Augood, S.J. & Emson, P.C. (1995) Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends in neurosciences*, **18**, 527-535.
- Kay, L.M. (2014) Circuit oscillations in odor perception and memory. *Progress in brain research*, **208**, 223-251.
- Kay, L.M. & Freeman, W.J. (1998) Bidirectional processing in the olfactory-limbic axis during olfactory behavior. *Behavioral neuroscience*, **112**, 541-553.
- Kay, L.M. & Laurent, G. (1999) Odor- and context-dependent modulation of mitral cell activity in behaving rats. *Nature neuroscience*, **2**, 1003-1009.
- Keller, A., Zhuang, H., Chi, Q., Vosshall, L.B. & Matsunami, H. (2007) Genetic variation in a human odorant receptor alters odour perception. *Nature*, **449**, 468-472.
- Kermen, F., Chakirian, A., Sezille, C., Jousain, P., Le Goff, G., Ziesel, A., Chastrette, M., Mandairon, N., Didier, A., Rouby, C. & Bensafi, M. (2011) Molecular complexity determines the number of olfactory notes and the pleasantness of smells. *Scientific reports*, **1**, 206.
- Kermen, F., Midroit, M., Kuczewski, N., Forest, J., Thevenet, M., Sacquet, J., Benetollo, C., Richard, M., Didier, A. & Mandairon, N. (2016) Topographical representation of odor hedonics in the olfactory bulb. *Nature neuroscience*, **19**, 876-878.
- 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.
- Khan, R.M., Luk, C.H., Flinker, A., Aggarwal, A., Lapid, H., Haddad, R. & Sobel, N. (2007) Predicting odor pleasantness from odorant structure: pleasantness as a reflection of the physical world. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **27**, 10015-10023.
- Kikuta, S., Fletcher, M.L., Homma, R., Yamasoba, T. & Nagayama, S. (2013) Odorant response properties of individual neurons in an olfactory glomerular module. *Neuron*, **77**, 1122-1135.
- Kikuta, S., Sato, K., Kashiwadani, H., Tsunoda, K., Yamasoba, T. & Mori, K. (2010) From the Cover: Neurons in the anterior olfactory nucleus pars externa detect right or left localization of odor sources. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 12363-12368.
- Kim, J., Zhang, X., Muralidhar, S., LeBlanc, S.A. & Tonegawa, S. (2017) Basolateral to Central Amygdala Neural Circuits for Appetitive Behaviors. *Neuron*, **93**, 1464-1479 e1465.

- Kleene, S.J. (2008) The electrochemical basis of odor transduction in vertebrate olfactory cilia. *Chemical senses*, **33**, 839-859.
- Kobayakawa, K., Kobayakawa, R., Matsumoto, H., Oka, Y., Imai, T., Ikawa, M., Okabe, M., Ikeda, T., Itohara, S., Kikusui, T., Mori, K. & Sakano, H. (2007) Innate versus learned odour processing in the mouse olfactory bulb. *Nature*, **450**, 503-508.
- Kölliker, V.A. (1896) Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6 Edition. Leipzig: W. Engelmann.
- Koob, G.F. & Bloom, F.E. (1988) Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science*, **242**, 715-723.
- Kosaka, T. & Kosaka, K. (2004) Neuronal gap junctions between intraglomerular mitral/tufted cell dendrites in the mouse main olfactory bulb. *Neuroscience research*, **49**, 373-378.
- Kosaka, T. & Kosaka, K. (2011) "Interneurons" in the olfactory bulb revisited. *Neuroscience research*, **69**, 93-99.
- Köster, E.P. (2002) The specific characteristics of the sense of smell," in Olfaction, Taste and Cognition eds Rouby C., Schaal B., Dubois D., Gervais R., Holley A., editors. . Cambridge: University Press, **27**.
- Kraemer, S. & Apfelbach, R. (2004) Olfactory sensitivity, learning and cognition in young adult and aged male Wistar rats. *Physiology & behavior*, **81**, 435-442.
- Krettek, J.E. & Price, J.L. (1978) Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat. *The Journal of comparative neurology*, **178**, 225-254.
- Krieger, N.R., Megill, J.R. & Sterling, P. (1983) Granule cells in the rat olfactory tubercle accumulate 3H-gamma-aminobutyric acid. *The Journal of comparative neurology*, **215**, 465-471.
- Kromer, J., Hummel, T., Pietrowski, D., Giani, A.S., Sauter, J., Ehninger, G., Schmidt, A.H. & Croy, I. (2016) Influence of HLA on human partnership and sexual satisfaction. *Scientific reports*, **6**, 32550.
- Kunzle, H. (2005) An extrahippocampal projection from the dentate gyrus to the olfactory tubercle. *BMC neuroscience*, **6**, 38.
- Lammel, S., Lim, B.K. & Malenka, R.C. (2014) Reward and aversion in a heterogeneous midbrain dopamine system. *Neuropharmacology*, **76 Pt B**, 351-359.
- Lammel, S., Lim, B.K., Ran, C., Huang, K.W., Betley, M.J., Tye, K.M., Deisseroth, K. & Malenka, R.C. (2012) Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area. *Nature*, **491**, 212-217.
- Lapid, H., Shushan, S., Plotkin, A., Voet, H., Roth, Y., Hummel, T., Schneidman, E. & Sobel, N. (2011) Neural activity at the human olfactory epithelium reflects olfactory perception. *Nature neuroscience*, **14**, 1455-1461.
- Lazarini, F. & Lledo, P.M. (2011) Is adult neurogenesis essential for olfaction? *Trends in neurosciences*, **34**, 20-30.
- Le Guéner, A. (1998) Les pouvoirs de l'odeur. Paris: Odile Jacob.
- Le Moine, C. & Bloch, B. (1995) D1 and D2 dopamine receptor gene expression in the rat striatum: sensitive cRNA probes demonstrate prominent segregation of D1 and D2 mRNAs in distinct neuronal populations of the dorsal and ventral striatum. *The Journal of comparative neurology*, **355**, 418-426.
- Leon, M. & Moltz, H. (1971) Maternal pheromone: discrimination by pre-weanling albino rats. *Physiology & behavior*, **7**, 265-267.
- Leon, M. & Moltz, H. (1972) The development of the pheromonal bond in the albino rat. *Physiology & behavior*, **8**, 683-686.

- Lepousez, G., Valley, M.T. & Lledo, P.M. (2013) The impact of adult neurogenesis on olfactory bulb circuits and computations. *Annual review of physiology*, **75**, 339-363.
- Levai, O., Breer, H. & Strotmann, J. (2003) Subzonal organization of olfactory sensory neurons projecting to distinct glomeruli within the mouse olfactory bulb. *The Journal of comparative neurology*, **458**, 209-220.
- Li, C.I., Maglinao, T.L. & Takahashi, L.K. (2004) Medial amygdala modulation of predator odor-induced unconditioned fear in the rat. *Behavioral neuroscience*, **118**, 324-332.
- Li, Q., Korzan, W.J., Ferrero, D.M., Chang, R.B., Roy, D.S., Buchi, M., Lemon, J.K., Kaur, A.W., Stowers, L., Fendt, M. & Liberles, S.D. (2013) Synchronous evolution of an odor biosynthesis pathway and behavioral response. *Current biology : CB*, **23**, 11-20.
- Li, Q. & Liberles, S.D. (2015) Aversion and attraction through olfaction. *Current biology : CB*, **25**, R120-129.
- Li, W. (2014) Learning to smell danger: acquired associative representation of threat in the olfactory cortex. *Frontiers in behavioral neuroscience*, **8**, 98.
- Li, W., Howard, J.D., Parrish, T.B. & Gottfried, J.A. (2008) Aversive learning enhances perceptual and cortical discrimination of indiscriminable odor cues. *Science*, **319**, 1842-1845.
- Li, W., Lopez, L., Osher, J., Howard, J.D., Parrish, T.B. & Gottfried, J.A. (2010) Right orbitofrontal cortex mediates conscious olfactory perception. *Psychological science*, **21**, 1454-1463.
- Li, W., Luxenberg, E., Parrish, T. & Gottfried, J.A. (2006) Learning to smell the roses: experience-dependent neural plasticity in human piriform and orbitofrontal cortices. *Neuron*, **52**, 1097-1108.
- Liberles, S.D. (2015) Trace amine-associated receptors: ligands, neural circuits, and behaviors. *Current opinion in neurobiology*, **34**, 1-7.
- Liberles, S.D. & Buck, L.B. (2006) A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium. *Nature*, **442**, 645-650.
- Lin, D.Y., Zhang, S.Z., Block, E. & Katz, L.C. (2005) Encoding social signals in the mouse main olfactory bulb. *Nature*, **434**, 470-477.
- Linster, C., Johnson, B.A., Yue, E., Morse, A., Xu, Z., Hingco, E.E., Choi, Y., Choi, M., Messiha, A. & Leon, M. (2001) Perceptual correlates of neural representations evoked by odorant enantiomers. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **21**, 9837-9843.
- Litaudon, P., Amat, C., Bertrand, B., Vigouroux, M. & Buonviso, N. (2003) Piriform cortex functional heterogeneity revealed by cellular responses to odours. *The European journal of neuroscience*, **17**, 2457-2461.
- Litaudon, P., Datiche, F. & Cattarelli, M. (1997) Optical recording of the rat piriform cortex activity. *Progress in neurobiology*, **52**, 485-510.
- Lledo, P.M., Alonso, M. & Grubb, M.S. (2006) Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nature reviews. Neuroscience*, **7**, 179-193.
- Lledo, P.M., Gheusi, G. & Vincent, J.D. (2005) Information processing in the mammalian olfactory system. *Physiological reviews*, **85**, 281-317.
- Lledo, P.M. & Valley, M. (2016) Adult Olfactory Bulb Neurogenesis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **8**.
- Lodovichi, C. & Belluscio, L. (2012) Odorant receptors in the formation of the olfactory bulb circuitry. *Physiology*, **27**, 200-212.

- Lois, C., Garcia-Verdugo, J.M. & Alvarez-Buylla, A. (1996) Chain migration of neuronal precursors. *Science*, **271**, 978-981.
- Lowry, C.A. & Kay, L.M. (2007) Chemical factors determine olfactory system beta oscillations in waking rats. *Journal of neurophysiology*, **98**, 394-404.
- Luo, M. & Katz, L.C. (2004) Encoding pheromonal signals in the mammalian vomeronasal system. *Current opinion in neurobiology*, **14**, 428-434.
- Luskin, M.B. & Price, J.L. (1982) 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. *The Journal of comparative neurology*, **209**, 249-263.
- Luskin, M.B. & Price, J.L. (1983) The topographic organization of associational fibers of the olfactory system in the rat, including centrifugal fibers to the olfactory bulb. *The Journal of comparative neurology*, **216**, 264-291.
- Lynch, G. & Granger, R. (1989) Simulation and analysis of a simple cortical network. *Psychol. Learn. Motiv.*, **23**, 205-241.
- Macrides, F. & Schneider, S.P. (1982) Laminar organization of mitral and tufted cells in the main olfactory bulb of the adult hamster. *The Journal of comparative neurology*, **208**, 419-430.
- Mahler, S.V., Vazey, E.M., Beckley, J.T., Keistler, C.R., McGlinchey, E.M., Kauffling, J., Wilson, S.P., Deisseroth, K., Woodward, J.J. & Aston-Jones, G. (2014) Designer receptors show role for ventral pallidum input to ventral tegmental area in cocaine seeking. *Nature neuroscience*, **17**, 577-585.
- Majak, K., Ronkko, S., Kemppainen, S. & Pitkanen, A. (2004) Projections from the amygdaloid complex to the piriform cortex: A PHA-L study in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **476**, 414-428.
- Malenka, R.C., Nestler, E.J. & Hyman, S.E. (2009) Sydor A, Brown RY, eds. *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience* (2nd ed.). *New York: McGraw-Hill Medical*.
- Malnic, B., Hirono, J., Sato, T. & Buck, L.B. (1999) Combinatorial receptor codes for odors. *Cell*, **96**, 713-723.
- Mandairon, N., Didier, A. & Linstner, C. (2008a) Odor enrichment increases interneurons responsiveness in spatially defined regions of the olfactory bulb correlated with perception. *Neurobiology of learning and memory*, **90**, 178-184.
- Mandairon, N., Peace, S., Karnow, A., Kim, J., Ennis, M. & Linstner, C. (2008b) Noradrenergic modulation in the olfactory bulb influences spontaneous and reward-motivated discrimination, but not the formation of habituation memory. *The European journal of neuroscience*, **27**, 1210-1219.
- Mandairon, N., Poncelet, J., Bensafi, M. & Didier, A. (2009) Humans and mice express similar olfactory preferences. *PloS one*, **4**, e4209.
- Mandairon, N., Stack, C., Kiselycznyk, C. & Linstner, C. (2006) Enrichment to odors improves olfactory discrimination in adult rats. *Behavioral neuroscience*, **120**, 173-179.
- Mandairon, N., Sultan, S., Nouvian, M., Sacquet, J. & Didier, A. (2011) Involvement of newborn neurons in olfactory associative learning? The operant or non-operant component of the task makes all the difference. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **31**, 12455-12460.
- Mantz, J., Thierry, A.M. & Glowinski, J. (1989) Effect of noxious tail pinch on the discharge rate of mesocortical and mesolimbic dopamine neurons: selective activation of the mesocortical system. *Brain research*, **476**, 377-381.

- Martel, K.L. & Baum, M.J. (2007) Sexually dimorphic activation of the accessory, but not the main, olfactory bulb in mice by urinary volatiles. *The European journal of neuroscience*, **26**, 463-475.
- Martel, K.L. & Baum, M.J. (2009) A centrifugal pathway to the mouse accessory olfactory bulb from the medial amygdala conveys gender-specific volatile pheromonal signals. *The European journal of neuroscience*, **29**, 368-376.
- 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? *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **24**, 389-397.
- Martin, C. & Ravel, N. (2014) Beta and gamma oscillatory activities associated with olfactory memory tasks: different rhythms for different functional networks? *Frontiers in behavioral neuroscience*, **8**, 218.
- Martinez-Ricos, J., Agustin-Pavon, C., Lanuza, E. & Martinez-Garcia, F. (2007) Intraspecific communication through chemical signals in female mice: reinforcing properties of involatile male sexual pheromones. *Chemical senses*, **32**, 139-148.
- Martinez-Ricos, J., Agustin-Pavon, C., Lanuza, E. & Martinez-Garcia, F. (2008) Role of the vomeronasal system in intersexual attraction in female mice. *Neuroscience*, **153**, 383-395.
- Matsumoto, M. & Hikosaka, O. (2009) Two types of dopamine neuron distinctly convey positive and negative motivational signals. *Nature*, **459**, 837-841.
- Matsutani, S. (2010) Trajectory and terminal distribution of single centrifugal axons from olfactory cortical areas in the rat olfactory bulb. *Neuroscience*, **169**, 436-448.
- Matsutani, S. & Yamamoto, N. (2008) Centrifugal innervation of the mammalian olfactory bulb. *Anatomical science international*, **83**, 218-227.
- Mauss, I.B. & Robinson, M.D. (2009) Measures of emotion: A review. *Cognition & emotion*, **23**, 209-237.
- Mavridis, I., Boviatsis, E. & Anagnostopoulou, S. (2011) Anatomy of the human nucleus accumbens: a combined morphometric study. *Surgical and radiologic anatomy : SRA*, **33**, 405-414.
- 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. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **7**, 3016-3028.
- Meierhenrich, U., Golebiowski, J., Fernandez, X. & D., C.-B. (2005) De la molécule à l'odeur. *L'actualité chimique*, **289**, 29-40.
- Meisami, E. & Safari, L. (1981) A quantitative study of the effects of early unilateral olfactory deprivation on the number and distribution of mitral and tufted cells and of glomeruli in the rat olfactory bulb. *Brain research*, **221**, 81-107.
- Menegas, W., Babayan, B.M., Uchida, N. & Watabe-Uchida, M. (2017) Opposite initialization to novel cues in dopamine signaling in ventral and posterior striatum in mice. *eLife*, **6**.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K. (1997) Mothers' milk enhances the acceptance of cereal during weaning. *Pediatric research*, **41**, 188-192.
- Mennella, J.A. & Forestell, C.A. (2008) Children's hedonic responses to the odors of alcoholic beverages: a window to emotions. *Alcohol*, **42**, 249-260.
- Mennella, J.A., Griffin, C.E. & Beauchamp, G.K. (2004) Flavor programming during infancy. *Pediatrics*, **113**, 840-845.
- Meredith, G.E., Pennartz, C.M. & Groenewegen, H.J. (1993) The cellular framework for chemical signalling in the nucleus accumbens. *Progress in brain research*, **99**, 3-24.

- Meredith, M. (2001) Human vomeronasal organ function: a critical review of best and worst cases. *Chemical senses*, **26**, 433-445.
- Meyer, G., Gonzalez-Hernandez, T., Carrillo-Padilla, F. & Ferres-Torres, R. (1989) Aggregations of granule cells in the basal forebrain (islands of Calleja): Golgi and cytoarchitectonic study in different mammals, including man. *The Journal of comparative neurology*, **284**, 405-428.
- Meyer, G. & Wahle, P. (1986) The olfactory tubercle of the cat. I. Morphological components. *Experimental brain research*, **62**, 515-527.
- Mick, G., Cooper, H. & Magnin, M. (1993) Retinal projection to the olfactory tubercle and basal telencephalon in primates. *The Journal of comparative neurology*, **327**, 205-219.
- Millhouse, O.E. (1986) Pallidal neurons in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **254**, 209-227.
- Millhouse, O.E. & Heimer, L. (1984) Cell configurations in the olfactory tubercle of the rat. *The Journal of comparative neurology*, **228**, 571-597.
- Minamimoto, T., Yamada, H., Hori, Y. & Suhara, T. (2012) Hydration level is an internal variable for computing motivation to obtain water rewards in monkeys. *Experimental brain research*, **218**, 609-618.
- Miyamichi, K., Amat, F., Moussavi, F., Wang, C., Wickersham, I., Wall, N.R., Taniguchi, H., Tasic, B., Huang, Z.J., He, Z., Callaway, E.M., Horowitz, M.A. & Luo, L. (2011) Cortical representations of olfactory input by trans-synaptic tracing. *Nature*, **472**, 191-196.
- Mobley, A.S., Rodriguez-Gil, D.J., Imamura, F. & Greer, C.A. (2014) Aging in the olfactory system. *Trends in neurosciences*, **37**, 77-84.
- Mombaerts, P. (1999) Seven-transmembrane proteins as odorant and chemosensory receptors. *Science*, **286**, 707-711.
- Mombaerts, P. (2001) The human repertoire of odorant receptor genes and pseudogenes. *Annual review of genomics and human genetics*, **2**, 493-510.
- 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.
- Moncho-Bogani, J., Lanuza, E., Hernandez, A., Novejarque, A. & Martinez-Garcia, F. (2002) Attractive properties of sexual pheromones in mice: innate or learned? *Physiology & behavior*, **77**, 167-176.
- Moncho-Bogani, J., Martinez-Garcia, F., Novejarque, A. & Lanuza, E. (2005) Attraction to sexual pheromones and associated odorants in female mice involves activation of the reward system and basolateral amygdala. *The European journal of neuroscience*, **21**, 2186-2198.
- Moran, D.T., Rowley, J.C., 3rd, Jafek, B.W. & Lovell, M.A. (1982) The fine structure of the olfactory mucosa in man. *Journal of neurocytology*, **11**, 721-746.
- Moreno, M., Richard, M., Landrein, B., Sacquet, J., Didier, A. & Mandairon, N. (2014) Alteration of olfactory perceptual learning and its cellular basis in aged mice. *Neurobiology of aging*, **35**, 680-691.
- Moreno, M.M., Bath, K., Kuczewski, N., Sacquet, J., Didier, A. & Mandairon, N. (2012) Action of the noradrenergic system on adult-born cells is required for olfactory learning in mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **32**, 3748-3758.
- Moreno, M.M., Linster, C., Escanilla, O., Sacquet, J., Didier, A. & Mandairon, N. (2009) Olfactory perceptual learning requires adult neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 17980-17985.

- Mori, K. (1987) Membrane and synaptic properties of identified neurons in the olfactory bulb. *Progress in neurobiology*, **29**, 275-320.
- Mori, K. (2014) The Olfactory System: From Odor Molecules to Motivational Behaviors. *Springer, Tokyo*.
- Mori, K., Kishi, K. & Ojima, H. (1983) Distribution of dendrites of mitral, displaced mitral, tufted, and granule cells in the rabbit olfactory bulb. *The Journal of comparative neurology*, **219**, 339-355.
- Mori, K., Nagao, H. & Yoshihara, Y. (1999) The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science*, **286**, 711-715.
- Mori, K. & Sakano, H. (2011) How is the olfactory map formed and interpreted in the mammalian brain? *Annual review of neuroscience*, **34**, 467-499.
- Mori, K. & Shepherd, G.M. (1994) Emerging principles of molecular signal processing by mitral/tufted cells in the olfactory bulb. *Seminars in cell biology*, **5**, 65-74.
- Mori, K. & Yoshihara, Y. (1995) Molecular recognition and olfactory processing in the mammalian olfactory system. *Progress in neurobiology*, **45**, 585-619.
- Moriceau, S. & Sullivan, R.M. (2004a) Corticosterone influences on Mammalian neonatal sensitive-period learning. *Behavioral neuroscience*, **118**, 274-281.
- Moriceau, S. & Sullivan, R.M. (2004b) Unique neural circuitry for neonatal olfactory learning. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **24**, 1182-1189.
- Moriceau, S., Wilson, D.A., Levine, S. & Sullivan, R.M. (2006) Dual circuitry for odor-shock conditioning during infancy: corticosterone switches between fear and attraction via amygdala. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **26**, 6737-6748.
- Morrot, G., Brochet, F. & Dubourdiou, D. (2001) The color of odors. *Brain and language*, **79**, 309-320.
- Morrow, B.A., Elsworth, J.D. & Roth, R.H. (2002) Fear-like biochemical and behavioral responses in rats to the predator odor, TMT, are dependent on the exposure environment. *Synapse*, **46**, 11-18.
- Morrow, B.A., Redmond, A.J., Roth, R.H. & Elsworth, J.D. (2000) The predator odor, TMT, displays a unique, stress-like pattern of dopaminergic and endocrinological activation in the rat. *Brain research*, **864**, 146-151.
- Motta, S.C., Goto, M., Gouveia, F.V., Baldo, M.V., Canteras, N.S. & Swanson, L.W. (2009) Dissecting the brain's fear system reveals the hypothalamus is critical for responding in subordinate conspecific intruders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 4870-4875.
- 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.
- Mouly, A.M., Kindermann, U., Gervais, R. & Holley, A. (1993) Involvement of the olfactory bulb in consolidation processes associated with long-term memory in rats. *Behavioral neuroscience*, **107**, 451-457.
- Mouly, A.M. & Sullivan, R. (2010) Memory and Plasticity in the Olfactory System: From Infancy to Adulthood. In Menini, A. (ed) *The Neurobiology of Olfaction*, Boca Raton (FL).
- Mower, G.D. & Kaplan, I.V. (2002) Immediate early gene expression in the visual cortex of normal and dark reared cats: differences between fos and egr-1. *Brain research. Molecular brain research*, **105**, 157-160.

- Mujica-Parodi, L.R., Strey, H.H., Frederick, B., Savoy, R., Cox, D., Botanov, Y., Tolkunov, D., Rubin, D. & Weber, J. (2009) Chemosensory cues to conspecific emotional stress activate amygdala in humans. *PloS one*, **4**, e6415.
- Murakami, M., Kashiwadani, H., Kirino, Y. & Mori, K. (2005) State-dependent sensory gating in olfactory cortex. *Neuron*, **46**, 285-296.
- Murata, K., Kanno, M., Ieki, N., Mori, K. & Yamaguchi, M. (2015) Mapping of Learned Odor-Induced Motivated Behaviors in the Mouse Olfactory Tubercle. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **35**, 10581-10599.
- 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. *The American journal of psychology*, **104**, 161-192.
- Murray, B. & Shizgal, P. (1996) Physiological measures of conduction velocity and refractory period for putative reward-relevant MFB axons arising in the rostral MFB. *Physiology & behavior*, **59**, 427-437.
- Murthy, V.N. (2011) Olfactory maps in the brain. *Annual review of neuroscience*, **34**, 233-258.
- Nagayama, S., Enerva, A., Fletcher, M.L., Masurkar, A.V., Igarashi, K.M., Mori, K. & Chen, W.R. (2010) Differential axonal projection of mitral and tufted cells in the mouse main olfactory system. *Frontiers in neural circuits*, **4**.
- Nagayama, S., Homma, R. & Imamura, F. (2014) Neuronal organization of olfactory bulb circuits. *Frontiers in neural circuits*, **8**, 98.
- Nagayama, S., Takahashi, Y.K., Yoshihara, Y. & Mori, K. (2004) Mitral and tufted cells differ in the decoding manner of odor maps in the rat olfactory bulb. *Journal of neurophysiology*, **91**, 2532-2540.
- Nakashima, T., Akamatsu, M., Hatanaka, A. & Kiyohara, T. (2004) Attenuation of stress-induced elevations in plasma ACTH level and body temperature in rats by green odor. *Physiology & behavior*, **80**, 481-488.
- Nauta, W.J., Smith, G.P., Faull, R.L. & Domesick, V.B. (1978) Efferent connections and nigral afferents of the nucleus accumbens septi in the rat. *Neuroscience*, **3**, 385-401.
- Nei, M., Niimura, Y. & Nozawa, M. (2008) The evolution of animal chemosensory receptor gene repertoires: roles of chance and necessity. *Nature reviews. Genetics*, **9**, 951-963.
- Nemitz, J.W. & Goldberg, S.J. (1983) Neuronal responses of rat pyriform cortex to odor stimulation: an extracellular and intracellular study. *Journal of neurophysiology*, **49**, 188-203.
- Neto, L.L., Oliveira, E., Correia, F. & Ferreira, A.G. (2008) The human nucleus accumbens: where is it? A stereotactic, anatomical and magnetic resonance imaging study. *Neuromodulation : journal of the International Neuromodulation Society*, **11**, 13-22.
- Neville, K.R. & Haberly, L. (2004) Olfactory cortex. The synaptic organization of the brain. 415-454.
- Neville, K.R. & Haberly, L.B. (2003) Beta and gamma oscillations in the olfactory system of the urethane-anesthetized rat. *Journal of neurophysiology*, **90**, 3921-3930.
- Newhall, N. (1943) A psychological color solid. *J Opt Soc Am.*, **33**, 419-422.
- Nikaido, Y. & Nakashima, T. (2009) Effects of environmental novelty on fear-related behavior and stress responses of rats to emotionally relevant odors. *Behavioural brain research*, **199**, 241-246.
- Novejarque, A., Gutierrez-Castellanos, N., Lanuza, E. & Martinez-Garcia, F. (2011) Amygdaloid projections to the ventral striatum in mice: direct and indirect chemosensory inputs to the brain reward system. *Frontiers in neuroanatomy*, **5**, 54.

- Numan, M. (2006) Hypothalamic neural circuits regulating maternal responsiveness toward infants. *Behavioral and cognitive neuroscience reviews*, **5**, 163-190.
- Nyakas, C. & Endroczi, E. (1970) Olfaction guided approaching behaviour of infantile rats to the mother in maze box. *Acta physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, **38**, 59-65.
- O'Doherty, J., Rolls, E.T., Francis, S., Bowtell, R., McGlone, F., Kobal, G., Renner, B. & Ahne, G. (2000) Sensory-specific satiety-related olfactory activation of the human orbitofrontal cortex. *Neuroreport*, **11**, 399-403.
- Olds, J. & Milner, P. (1954) Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of comparative and physiological psychology*, **47**, 419-427.
- Olsen, R.W. (2011) Extrasynaptic GABAA receptors in the nucleus accumbens are necessary for alcohol drinking. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 4699-4700.
- Olson, V.G. & Nestler, E.J. (2007) Topographical organization of GABAergic neurons within the ventral tegmental area of the rat. *Synapse*, **61**, 87-95.
- Ongur, D. & Price, J.L. (2000) The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral cortex*, **10**, 206-219.
- Onoda, N. (1992) Odor-induced fos-like immunoreactivity in the rat olfactory bulb. *Neuroscience letters*, **137**, 157-160.
- Orona, E., Rainer, E.C. & Scott, J.W. (1984) Dendritic and axonal organization of mitral and tufted cells in the rat olfactory bulb. *The Journal of comparative neurology*, **226**, 346-356.
- Pacifico, R., Dewan, A., Cawley, D., Guo, C. & Bozza, T. (2012) An olfactory subsystem that mediates high-sensitivity detection of volatile amines. *Cell reports*, **2**, 76-88.
- Pan, W.X., Schmidt, R., Wickens, J.R. & Hyland, B.I. (2005) Dopamine cells respond to predicted events during classical conditioning: evidence for eligibility traces in the reward-learning network. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **25**, 6235-6242.
- Panagis, G., Nomikos, G.G., Miliaressis, E., Chergui, K., Kastellakis, A., Svensson, T.H. & Spyraiki, C. (1997) Ventral pallidum self-stimulation induces stimulus dependent increase in c-fos expression in reward-related brain regions. *Neuroscience*, **77**, 175-186.
- Pangborn, R.M., Guinard, J.-X. & Davis, R.G. (1988) Regional aroma preferences. *Food Quality and Preference*, **1**, 11-19.
- Pantazopoulos, H., Dolatshad, H. & Davis, F.C. (2011) A fear-inducing odor alters PER2 and c-Fos expression in brain regions involved in fear memory. *PloS one*, **6**, e20658.
- Papes, F., Logan, D.W. & Stowers, L. (2010) The vomeronasal organ mediates interspecies defensive behaviors through detection of protein pheromone homologs. *Cell*, **141**, 692-703.
- Parrish-Aungst, S., Shipley, M.T., Erdelyi, F., Szabo, G. & Puche, A.C. (2007) Quantitative analysis of neuronal diversity in the mouse olfactory bulb. *The Journal of comparative neurology*, **501**, 825-836.
- Patel, R.C. & Larson, J. (2009) Impaired olfactory discrimination learning and decreased olfactory sensitivity in aged C57Bl/6 mice. *Neurobiology of aging*, **30**, 829-837.
- Patin, A. & Pause, B.M. (2015) Human amygdala activations during nasal chemoreception. *Neuropsychologia*, **78**, 171-194.
- Payton, C.A., Wilson, D.A. & Wesson, D.W. (2012) Parallel odor processing by two anatomically distinct olfactory bulb target structures. *PloS one*, **7**, e34926.

- Pennartz, C.M., Dolleman-Van der Weel, M.J., Kitai, S.T. & Lopes da Silva, F.H. (1992) Presynaptic dopamine D1 receptors attenuate excitatory and inhibitory limbic inputs to the shell region of the rat nucleus accumbens studied in vitro. *Journal of neurophysiology*, **67**, 1325-1334.
- Perez-Gomez, A., Bleyemehl, K., Stein, B., Pyrski, M., Birnbaumer, L., Munger, S.D., Leinders-Zufall, T., Zufall, F. & Chamero, P. (2015) Innate Predator Odor Aversion Driven by Parallel Olfactory Subsystems that Converge in the Ventromedial Hypothalamus. *Current biology : CB*, **25**, 1340-1346.
- Perrotti, L.I., Bolanos, C.A., Choi, K.H., Russo, S.J., Edwards, S., Ulery, P.G., Wallace, D.L., Self, D.W., Nestler, E.J. & Barrot, M. (2005) DeltaFosB accumulates in a GABAergic cell population in the posterior tail of the ventral tegmental area after psychostimulant treatment. *The European journal of neuroscience*, **21**, 2817-2824.
- Perry, R.E., Al Ain, S., Raineke, C., Sullivan, R.M. & Wilson, D.A. (2016) Development of Odor Hedonics: Experience-Dependent Ontogeny of Circuits Supporting Maternal and Predator Odor Responses in Rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **36**, 6634-6650.
- Petrulis, A., Alvarez, P. & Eichenbaum, H. (2005) Neural correlates of social odor recognition and the representation of individual distinctive social odors within entorhinal cortex and ventral subiculum. *Neuroscience*, **130**, 259-274.
- Pfaus, J.G., Damsma, G., Nomikos, G.G., Wenkstern, D.G., Blaha, C.D., Phillips, A.G. & Fibiger, H.C. (1990) Sexual behavior enhances central dopamine transmission in the male rat. *Brain research*, **530**, 345-348.
- Pfaus, J.G. & Phillips, A.G. (1991) Role of dopamine in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in the male rat. *Behavioral neuroscience*, **105**, 727-743.
- Pierce, R.C. & Kumaresan, V. (2006) The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **30**, 215-238.
- Pigache, R.M. (1970) The anatomy of "paleocortex". A critical review. *Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte*, **43**, 3-62.
- Pinching, A.J. & Powell, T.P. (1971a) The neuron types of the glomerular layer of the olfactory bulb. *Journal of cell science*, **9**, 305-345.
- Pinching, A.J. & Powell, T.P. (1971b) The neuropil of the glomeruli of the olfactory bulb. *Journal of cell science*, **9**, 347-377.
- Pinching, A.J. & Powell, T.P. (1971c) The neuropil of the periglomerular region of the olfactory bulb. *Journal of cell science*, **9**, 379-409.
- Pinching, A.J. & Powell, T.P. (1972a) Experimental studies on the axons intrinsic to the glomerular layer of the olfactory bulb. *Journal of cell science*, **10**, 637-655.
- Pinching, A.J. & Powell, T.P. (1972b) The termination of centrifugal fibres in the glomerular layer of the olfactory bulb. *Journal of cell science*, **10**, 621-635.
- Pointer, A. (1998) The number of discernible colours. *Color Res Appl*, **23**, 52-54.
- Poncelet, J., Rinck, F., Bourgeat, F., Schaal, B., Rouby, C., Bensafi, M. & Hummel, T. (2010) The effect of early experience on odor perception in humans: psychological and physiological correlates. *Behavioural brain research*, **208**, 458-465.
- Porter, R.H. & Etscorn, F. (1974) Olfactory imprinting resulting from brief exposure in *Acomys cahirinus*. *Nature*, **250**, 732-733.
- Prado-Alcala, R. & Wise, R.A. (1984) Brain stimulation reward and dopamine terminal fields. I. Caudate-putamen, nucleus accumbens and amygdala. *Brain research*, **297**, 265-273.

- Prehn, A., Ohrt, A., Sojka, B., Ferstl, R. & Pause, B.M. (2006) Chemosensory anxiety signals augment the startle reflex in humans. *Neuroscience letters*, **394**, 127-130.
- Price, J.L. (1973) An autoradiographic study of complementary laminar patterns of termination of afferent fibers to the olfactory cortex. *The Journal of comparative neurology*, **150**, 87-108.
- Price, J.L. (1985) Beyond the primary olfactory cortex-olfactory-related areas in the neocortex, thalamus and hypothalamus. *Chem. Senses*, **10**, 239-258.
- Price, J.L. & Powell, T.P. (1970a) The afferent connexions of the nucleus of the horizontal limb of the diagonal band. *Journal of anatomy*, **107**, 239-256.
- Price, J.L. & Powell, T.P. (1970b) An experimental study of the origin and the course of the centrifugal fibres to the olfactory bulb in the rat. *Journal of anatomy*, **107**, 215-237.
- Price, J.L. & Powell, T.P. (1970c) The morphology of the granule cells of the olfactory bulb. *Journal of cell science*, **7**, 91-123.
- Price, J.L. & Powell, T.P. (1971) Certain observations on the olfactory pathway. *Journal of anatomy*, **110**, 105-126.
- Price, S. (1987) Effects of odorant mixtures on olfactory receptor cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **510**, 55-60.
- Prounis, G.S. & Shields, W.M. (2013) Necrophobic behavior in small mammals. *Behavioural processes*, **94**, 41-44.
- Proust, M. (1922) À la recherche du temps perdu. Paris, Gallimard, coll. « La Pléiade » 1954, **1**, 870-873.
- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Katz, L.C., LaMantia, A., McNamara, J.o. & Williams, S.M. (2001) The Olfactory Epithelium and Olfactory Receptor Neurons. *Neuroscience. 2nd edition*.
- Rampin, O., Bellier, C. & Maurin, Y. (2012) Electrophysiological responses of rat olfactory tubercle neurons to biologically relevant odours. *The European journal of neuroscience*, **35**, 97-105.
- Ravel, N., Elaagouby, A. & Gervais, R. (1994) Scopolamine injection into the olfactory bulb impairs short-term olfactory memory in rats. *Behavioral neuroscience*, **108**, 317-324.
- Ray, J.P. & Price, J.L. (1992) The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral forebrain-prefrontal cortex topography. *The Journal of comparative neurology*, **323**, 167-197.
- Rennaker, R.L., Chen, C.F., Ruyle, A.M., Sloan, A.M. & Wilson, D.A. (2007) Spatial and temporal distribution of odorant-evoked activity in the piriform cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **27**, 1534-1542.
- Ressler, K.J., Sullivan, S.L. & Buck, L.B. (1993) A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium. *Cell*, **73**, 597-609.
- Ressler, K.J., Sullivan, S.L. & Buck, L.B. (1994) A molecular dissection of spatial patterning in the olfactory system. *Current opinion in neurobiology*, **4**, 588-596.
- Rey, N.L., Sacquet, J., Veyrac, A., Jourdan, F. & Didier, A. (2012) Behavioral and cellular markers of olfactory aging and their response to enrichment. *Neurobiology of aging*, **33**, 626 e629-626 e623.
- Richardson, J.T. & Zucco, G.M. (1989) Cognition and olfaction: a review. *Psychological bulletin*, **105**, 352-360.

- Rinck, F., Barkat-Defradas, M., Chakirian, A., Joussain, P., Bourgeat, F., Thevenet, M., Rouby, C. & Bensafi, M. (2011) Ontogeny of odor liking during childhood and its relation to language development. *Chemical senses*, **36**, 83-91.
- Roberts, S.A., Davidson, A.J., McLean, L., Beynon, R.J. & Hurst, J.L. (2012) Pheromonal induction of spatial learning in mice. *Science*, **338**, 1462-1465.
- Robin, O., Alaoui-Ismaili, O., Dittmar, A. & Vernet-Maury, E. (1999) Basic emotions evoked by eugenol odor differ according to the dental experience. A neurovegetative analysis. *Chemical senses*, **24**, 327-335.
- Rodd-Henricks, Z.A., McKinzie, D.L., Li, T.K., Murphy, J.M. & McBride, W.J. (2002) Cocaine is self-administered into the shell but not the core of the nucleus accumbens of Wistar rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **303**, 1216-1226.
- Rodriguez, I. (2004) Pheromone receptors in mammals. *Hormones and behavior*, **46**, 219-230.
- Rolen, S.H., Sorensen, P.W., Mattson, D. & Caprio, J. (2003) Polyamines as olfactory stimuli in the goldfish *Carassius auratus*. *The Journal of experimental biology*, **206**, 1683-1696.
- Rolls, E.T. (1997) Taste and olfactory processing in the brain and its relation to the control of eating. *Critical reviews in neurobiology*, **11**, 263-287.
- Rolls, E.T. (2000) The orbitofrontal cortex and reward. *Cerebral cortex*, **10**, 284-294.
- Rolls, E.T. (2001) The rules of formation of the olfactory representations found in the orbitofrontal cortex olfactory areas in primates. *Chemical senses*, **26**, 595-604.
- Rolls, E.T., Critchley, H.D., Browning, A.S., Hernadi, I. & Lenard, L. (1999) Responses to the sensory properties of fat of neurons in the primate orbitofrontal cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **19**, 1532-1540.
- Rolls, E.T., Kringelbach, M.L. & de Araujo, I.E. (2003) Different representations of pleasant and unpleasant odours in the human brain. *The European journal of neuroscience*, **18**, 695-703.
- Rolls, E.T. & Rolls, J.H. (1997) Olfactory sensory-specific satiety in humans. *Physiology & behavior*, **61**, 461-473.
- Rolls, E.T. & Treves, A. (1998) Neural networks and brain function. *Oxford: Oxford University Press*.
- Root, C.M., Denny, C.A., Hen, R. & Axel, R. (2014) The participation of cortical amygdala in innate, odour-driven behaviour. *Nature*, **515**, 269-273.
- Rouby, C., Pouliot, S. & Bensafi, M. (2009) Odor hedonics and their modulators. *Food Quality and Preference*, **20**, 545-549.
- Royet, J.P., Hudry, J., Zald, D.H., Godinot, D., Gregoire, M.C., Lavenne, F., Costes, N. & Holley, A. (2001) Functional neuroanatomy of different olfactory judgments. *NeuroImage*, **13**, 506-519.
- Royet, J.P., Koenig, O., Gregoire, M.C., Cinotti, L., Lavenne, F., Le Bars, D., Costes, N., Vigouroux, M., Farget, V., Sicard, G., Holley, A., Mauguier, F., Comar, D. & Froment, J.C. (1999) Functional anatomy of perceptual and semantic processing for odors. *Journal of cognitive neuroscience*, **11**, 94-109.
- Royet, J.P., Plailly, J., Delon-Martin, C., Kareken, D.A. & Segebarth, C. (2003) fMRI of emotional responses to odors: influence of hedonic valence and judgment, handedness, and gender. *NeuroImage*, **20**, 713-728.
- Royet, J.P., Sicard, G., Souchier, C. & Jourdan, F. (1987) Specificity of spatial patterns of glomerular activation in the mouse olfactory bulb: computer-assisted image analysis of 2-deoxyglucose autoradiograms. *Brain research*, **417**, 1-11.

- Royet, J.P., Zald, D., Versace, R., Costes, N., Lavenne, F., Koenig, O. & Gervais, R. (2000) Emotional responses to pleasant and unpleasant olfactory, visual, and auditory stimuli: a positron emission tomography study. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **20**, 7752-7759.
- Rubin, B.D. & Katz, L.C. (2001) Spatial coding of enantiomers in the rat olfactory bulb. *Nature neuroscience*, **4**, 355-356.
- Russchen, F.T. & Price, J.L. (1984) Amygdalostriatal projections in the rat. Topographical organization and fiber morphology shown using the lectin PHA-L as an anterograde tracer. *Neuroscience letters*, **47**, 15-22.
- Saddoris, M.P., Cacciapaglia, F., Wightman, R.M. & Carelli, R.M. (2015) Differential Dopamine Release Dynamics in the Nucleus Accumbens Core and Shell Reveal Complementary Signals for Error Prediction and Incentive Motivation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **35**, 11572-11582.
- Sadrian, B. & Wilson, D.A. (2015) Optogenetic Stimulation of Lateral Amygdala Input to Posterior Piriform Cortex Modulates Single-Unit and Ensemble Odor Processing. *Frontiers in neural circuits*, **9**, 81.
- Sah, P., Faber, E.S., Lopez De Armentia, M. & Power, J. (2003) The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiological reviews*, **83**, 803-834.
- Saito, H., Chi, Q., Zhuang, H., Matsunami, H. & Mainland, J.D. (2009) Odor coding by a Mammalian receptor repertoire. *Science signaling*, **2**, ra9.
- Sakamoto, M., Kageyama, R. & Imayoshi, I. (2014) The functional significance of newly born neurons integrated into olfactory bulb circuits. *Frontiers in neuroscience*, **8**, 121.
- Sakano, H. (2010) Neural map formation in the mouse olfactory system. *Neuron*, **67**, 530-542.
- Salesse, R. & Gervais, R. (2013) *Odorat et goût. Editions Quae.*
- Salgado, S. & Kaplitt, M.G. (2015) The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review. *Stereotactic and functional neurosurgery*, **93**, 75-93.
- Sallaz, M. & Jourdan, F. (1993) C-fos expression and 2-deoxyglucose uptake in the olfactory bulb of odour-stimulated awake rats. *Neuroreport*, **4**, 55-58.
- Sanchez-Andrade, G., James, B.M. & Kendrick, K.M. (2005) Neural encoding of olfactory recognition memory. *The Journal of reproduction and development*, **51**, 547-558.
- Saucier, D. & Astic, L. (1986) Analysis of the topographical organization of olfactory epithelium projections in the rat. *Brain research bulletin*, **16**, 455-462.
- Savic, I. (2001) Processing of odorous signals in humans. *Brain research bulletin*, **54**, 307-312.
- Schaal, B., Marlier, L. & Soussignan, R. (2000) Human foetuses learn odours from their pregnant mother's diet. *Chemical senses*, **25**, 729-737.
- Schafer, J.R., Kida, I., Xu, F., Rothman, D.L. & Hyder, F. (2006) Reproducibility of odor maps by fMRI in rodents. *NeuroImage*, **31**, 1238-1246.
- Schall, J.D. (2004) On the role of frontal eye field in guiding attention and saccades. *Vision research*, **44**, 1453-1467.
- Schiffman, S.S. (1974) Contributions to the physicochemical dimensions of odor: a psychophysical approach. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **237**, 164-183.
- Schiffman, S.S., Sattely-Miller, E.A., Suggs, M.S. & Graham, B.G. (1995a) The effect of pleasant odors and hormone status on mood of women at midlife. *Brain research bulletin*, **36**, 19-29.

- Schiffman, S.S., Suggs, M.S. & Sattely-Miller, E.A. (1995b) Effect of pleasant odors on mood of males at midlife: comparison of African-American and European-American men. *Brain research bulletin*, **36**, 31-37.
- Schild, D. & Restrepo, D. (1998) Transduction mechanisms in vertebrate olfactory receptor cells. *Physiological reviews*, **78**, 429-466.
- Schneider, S.P. & Macrides, F. (1978) Laminar distributions of interneurons in the main olfactory bulb of the adult hamster. *Brain research bulletin*, **3**, 73-82.
- Schoenbaum, G., Chiba, A.A. & Gallagher, M. (1999) Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **19**, 1876-1884.
- Schoenbaum, G. & Eichenbaum, H. (1995) Information coding in the rodent prefrontal cortex. I. Single-neuron activity in orbitofrontal cortex compared with that in pyriform cortex. *Journal of neurophysiology*, **74**, 733-750.
- Schoenbaum, G. & Esber, G.R. (2010) How do you (estimate you will) like them apples? Integration as a defining trait of orbitofrontal function. *Current opinion in neurobiology*, **20**, 205-211.
- Schoenbaum, G. & Roesch, M. (2005) Orbitofrontal cortex, associative learning, and expectancies. *Neuron*, **47**, 633-636.
- Schoenbaum, G., Roesch, M.R. & Stalnaker, T.A. (2006) Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction. *Trends in neurosciences*, **29**, 116-124.
- Schoenbaum, G., Saddoris, M.P. & Stalnaker, T.A. (2007) Reconciling the roles of orbitofrontal cortex in reversal learning and the encoding of outcome expectancies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1121**, 320-335.
- Schoenbaum, G., Setlow, B., Nugent, S.L., Saddoris, M.P. & Gallagher, M. (2003) Lesions of orbitofrontal cortex and basolateral amygdala complex disrupt acquisition of odor-guided discriminations and reversals. *Learning & memory*, **10**, 129-140.
- Schoenfeld, T.A., Clancy, A.N., Forbes, W.B. & Macrides, F. (1994) The spatial organization of the peripheral olfactory system of the hamster. Part I: Receptor neuron projections to the main olfactory bulb. *Brain research bulletin*, **34**, 183-210.
- Schoppa, N.E. (2006) Synchronization of olfactory bulb mitral cells by precisely timed inhibitory inputs. *Neuron*, **49**, 271-283.
- Schoppa, N.E., Kinzie, J.M., Sahara, Y., Segerson, T.P. & Westbrook, G.L. (1998) Dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb is driven by NMDA receptors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **18**, 6790-6802.
- Schoppa, N.E. & Westbrook, G.L. (2001) Glomerulus-specific synchronization of mitral cells in the olfactory bulb. *Neuron*, **31**, 639-651.
- Schultz, W. (1986) Responses of midbrain dopamine neurons to behavioral trigger stimuli in the monkey. *Journal of neurophysiology*, **56**, 1439-1461.
- Schultz, W. (1998) Predictive reward signal of dopamine neurons. *Journal of neurophysiology*, **80**, 1-27.
- Schultz, W. (2016) Dopamine reward prediction-error signalling: a two-component response. *Nature reviews. Neuroscience*, **17**, 183-195.
- Schultz, W., Apicella, P. & Ljungberg, T. (1993) Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **13**, 900-913.

- Schultz, W., Dayan, P. & Montague, P.R. (1997) A neural substrate of prediction and reward. *Science*, **275**, 1593-1599.
- Schwabe, K., Ebert, U. & Loscher, W. (2004) Bilateral microinjections of vigabatrin in the central piriform cortex retard amygdala kindling in rats. *Neuroscience*, **129**, 425-429.
- Schwob, J.E. (2002) Neural regeneration and the peripheral olfactory system. *The Anatomical record*, **269**, 33-49.
- Schwob, J.E. & Price, J.L. (1978) The cortical projection of the olfactory bulb: development in fetal and neonatal rats correlated with quantitative variations in adult rats. *Brain research*, **151**, 369-374.
- Schwob, J.E. & Price, J.L. (1984a) The development of axonal connections in the central olfactory system of rats. *The Journal of comparative neurology*, **223**, 177-202.
- Schwob, J.E. & Price, J.L. (1984b) The development of lamination of afferent fibers to the olfactory cortex in rats, with additional observations in the adult. *The Journal of comparative neurology*, **223**, 203-222.
- Scott, J.W. (1981) Electrophysiological identification of mitral and tufted cells and distributions of their axons in olfactory system of the rat. *Journal of neurophysiology*, **46**, 918-931.
- Scott, J.W., McBride, R.L. & Schneider, S.P. (1980) The organization of projections from the olfactory bulb to the piriform cortex and olfactory tubercle in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **194**, 519-534.
- Sevelinges, Y., Gervais, R., Messaoudi, B., Granjon, L. & Mouly, A.M. (2004) Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala. *Learning & memory*, **11**, 761-769.
- Sevelinges, Y., Moriceau, S., Holman, P., Miner, C., Muzny, K., Gervais, R., Mouly, A.M. & Sullivan, R.M. (2007) Enduring effects of infant memories: infant odor-shock conditioning attenuates amygdala activity and adult fear conditioning. *Biological psychiatry*, **62**, 1070-1079.
- Sevelinges, Y., Sullivan, R.M., Messaoudi, B. & Mouly, A.M. (2008) Neonatal odor-shock conditioning alters the neural network involved in odor fear learning at adulthood. *Learning & memory*, **15**, 649-656.
- Shepherd, G.M. (2007) Perspectives on olfactory processing, conscious perception, and orbitofrontal cortex. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1121**, 87-101.
- Shepherd, G.M., Chen, W.R. & Greer, C.A. (2004) Olfactory bulb. In: Shepherd GM, editor. *The Synaptic Organization of the Brain*. Oxford University Press; New York: 2004, 165-216.
- Shiple, M.T. & Ennis, M. (1996) Functional organization of olfactory system. *Journal of neurobiology*, **30**, 123-176.
- Shiple, M.T., McLean, J.H., Zimmer, L.A. & Ennis, M. (1996) « part III ». In *Integrated systems of the CNS*. L.W. Swanson, A. Bjorklund and T. Hokfelt ed. Elsevier, New York, 469- 575.
- Silberman, E.K. & Weingartner, H. (1986) Hemispheric lateralization of functions related to emotion. *Brain and cognition*, **5**, 322-353.
- Silva, B.A., Mattucci, C., Krzywkowski, P., Murana, E., Illarionova, A., Grinevich, V., Canteras, N.S., Ragozzino, D. & Gross, C.T. (2013) Independent hypothalamic circuits for social and predator fear. *Nature neuroscience*, **16**, 1731-1733.
- Skibicka, K.P., Hansson, C., Egecioglu, E. & Dickson, S.L. (2012) Role of ghrelin in food reward: impact of ghrelin on sucrose self-administration and mesolimbic dopamine and acetylcholine receptor gene expression. *Addiction biology*, **17**, 95-107.

- Smith, K.S. & Berridge, K.C. (2005) The ventral pallidum and hedonic reward: neurochemical maps of sucrose "liking" and food intake. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **25**, 8637-8649.
- Smith, K.S., Tindell, A.J., Aldridge, J.W. & Berridge, K.C. (2009) Ventral pallidum roles in reward and motivation. *Behavioural brain research*, **196**, 155-167.
- Smith, Y. & Kieval, J.Z. (2000) Anatomy of the dopamine system in the basal ganglia. *Trends in neurosciences*, **23**, S28-33.
- Smythies, J. (1997) The functional neuroanatomy of awareness: with a focus on the role of various anatomical systems in the control of intermodal attention. *Consciousness and cognition*, **6**, 455-481.
- Sobel, N., Khan, R.M., Hartley, C.A., Sullivan, E.V. & Gabrieli, J.D. (2000) Sniffing longer rather than stronger to maintain olfactory detection threshold. *Chemical senses*, **25**, 1-8.
- Sobel, N., Prabhakaran, V., Desmond, J.E., Glover, G.H., Goode, R.L., Sullivan, E.V. & Gabrieli, J.D. (1998) Sniffing and smelling: separate subsystems in the human olfactory cortex. *Nature*, **392**, 282-286.
- Solano-Flores, L.P., Aguilar-Baturoni, H.U. & Guevara-Aguilar, R. (1980) Locus coeruleus influences upon the olfactory tubercle. *Brain research bulletin*, **5**, 383-389.
- Sosulski, D.L., Bloom, M.L., Cutforth, T., Axel, R. & Datta, S.R. (2011) Distinct representations of olfactory information in different cortical centres. *Nature*, **472**, 213-216.
- Soussignan, R. & Schaal, B. (2001) Les systèmes émotionnels chez le nouveau-né humain : invariance et malléabilité des réponses aux odeurs. *Enfance*, **3**, 236-246.
- Soussignan, R., Schaal, B., Marlier, L. & Jiang, T. (1997) Facial and autonomic responses to biological and artificial olfactory stimuli in human neonates: re-examining early hedonic discrimination of odors. *Physiology & behavior*, **62**, 745-758.
- Spencer, N.A., McClintock, M.K., Sellergren, S.A., Bullivant, S., Jacob, S. & Mennella, J.A. (2004) Social chemosignals from breastfeeding women increase sexual motivation. *Hormones and behavior*, **46**, 362-370.
- Spina, L., Fenu, S., Longoni, R., Rivas, E. & Di Chiara, G. (2006) Nicotine-conditioned single-trial place preference: selective role of nucleus accumbens shell dopamine D1 receptors in acquisition. *Psychopharmacology*, **184**, 447-455.
- Staples, L.G., McGregor, I.S., Apfelbach, R. & Hunt, G.E. (2008) Cat odor, but not trimethylthiazoline (fox odor), activates accessory olfactory and defense-related brain regions in rats. *Neuroscience*, **151**, 937-947.
- Steffensen, S.C., Svingos, A.L., Pickel, V.M. & Henriksen, S.J. (1998) Electrophysiological characterization of GABAergic neurons in the ventral tegmental area. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **18**, 8003-8015.
- Stein, L. (1964) Self-Stimulation of the Brain and the Central Stimulant Action of Amphetamine. *Federation proceedings*, **23**, 836-850.
- Stettler, D.D. & Axel, R. (2009) Representations of odor in the piriform cortex. *Neuron*, **63**, 854-864.
- Stevens, S.D., H. (1938) Hearing, its psychology and physiology. *John Wiley; New York*, 152-154.
- Stevens, S.S. (1958) Problems and methods of psychophysics. *Psychological bulletin*, **55**, 177-196.
- Steward, O. & Scoville, S.A. (1976) Cells of origin of entorhinal cortical afferents to the hippocampus and fascia dentata of the rat. *The Journal of comparative neurology*, **169**, 347-370.

- Striano, B.M., Barker, D.J., Pawlak, A.P., Root, D.H., Fabbriatore, A.T., Coffey, K.R., Stamos, J.P. & West, M.O. (2014) Olfactory tubercle neurons exhibit slow-phasic firing patterns during cocaine self-administration. *Synapse*, **68**, 321-323.
- Strotmann, J., Wanner, I., Helfrich, T., Beck, A., Meinken, C., Kubick, S. & Breer, H. (1994) Olfactory neurones expressing distinct odorant receptor subtypes are spatially segregated in the nasal neuroepithelium. *Cell and tissue research*, **276**, 429-438.
- Strotmann, J., Wanner, I., Helfrich, T. & Breer, H. (1995) Receptor expression in olfactory neurons during rat development: in situ hybridization studies. *The European journal of neuroscience*, **7**, 492-500.
- Sullivan, R.M., Hofer, M.A. & Brake, S.C. (1986) Olfactory-guided orientation in neonatal rats is enhanced by a conditioned change in behavioral state. *Developmental psychobiology*, **19**, 615-623.
- Sullivan, R.M., Landers, M., Yeaman, B. & Wilson, D.A. (2000) Good memories of bad events in infancy. *Nature*, **407**, 38-39.
- Sullivan, R.M. & Leon, M. (1986) Early olfactory learning induces an enhanced olfactory bulb response in young rats. *Brain research*, **392**, 278-282.
- Sullivan, R.M. & Wilson, D.A. (1991) Neural correlates of conditioned odor avoidance in infant rats. *Behavioral neuroscience*, **105**, 307-312.
- Sullivan, R.M. & Wilson, D.A. (1993) Role of the amygdala complex in early olfactory associative learning. *Behavioral neuroscience*, **107**, 254-263.
- Sullivan, R.M., Wilson, D.A., Wong, R., Correa, A. & Leon, M. (1990) Modified behavioral and olfactory bulb responses to maternal odors in preweanling rats. *Brain research. Developmental brain research*, **53**, 243-247.
- Sultan, S., Lefort, J.M., Sacquet, J., Mandairon, N. & Didier, A. (2011a) Acquisition of an olfactory associative task triggers a regionalized down-regulation of adult born neuron cell death. *Frontiers in neuroscience*, **5**, 52.
- 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 journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, **24**, 2355-2363.
- Sultan, S., Rey, N., Sacquet, J., Mandairon, N. & Didier, A. (2011b) Newborn neurons in the olfactory bulb selected for long-term survival through olfactory learning are prematurely suppressed when the olfactory memory is erased. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **31**, 14893-14898.
- Swanson, L.W. (1982) The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain research bulletin*, **9**, 321-353.
- Swanson, L.W. & Petrovich, G.D. (1998) What is the amygdala? *Trends in neurosciences*, **21**, 323-331.
- Takahashi, L.K. (2014) Olfactory systems and neural circuits that modulate predator odor fear. *Frontiers in behavioral neuroscience*, **8**, 72.
- Takahashi, L.K., Chan, M.M. & Pilar, M.L. (2008) Predator odor fear conditioning: current perspectives and new directions. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **32**, 1218-1227.
- 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. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **29**, 1157-1167.

- Tan, K.R., Yvon, C., Turiault, M., Mirzabekov, J.J., Doehner, J., Labouebe, G., Deisseroth, K., Tye, K.M. & Luscher, C. (2012) GABA neurons of the VTA drive conditioned place aversion. *Neuron*, **73**, 1173-1183.
- Temple, S. & Alvarez-Buylla, A. (1999) Stem cells in the adult mammalian central nervous system. *Current opinion in neurobiology*, **9**, 135-141.
- Toga, A.W. & Thompson, P.M. (2003) Mapping brain asymmetry. *Nature reviews. Neuroscience*, **4**, 37-48.
- Toida, K., Kosaka, K., Heizmann, C.W. & Kosaka, T. (1998) Chemically defined neuron groups and their subpopulations in the glomerular layer of the rat main olfactory bulb: III. Structural features of calbindin D28K-immunoreactive neurons. *The Journal of comparative neurology*, **392**, 179-198.
- Tong, M.T., Peace, S.T. & Cleland, T.A. (2014) Properties and mechanisms of olfactory learning and memory. *Frontiers in behavioral neuroscience*, **8**, 238.
- Touhara, K., Sengoku, S., Inaki, K., Tsuboi, A., Hirono, J., Sato, T., Sakano, H. & Haga, T. (1999) Functional identification and reconstitution of an odorant receptor in single olfactory neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**, 4040-4045.
- Tsai, H.C., Zhang, F., Adamantidis, A., Stuber, G.D., Bonci, A., de Lecea, L. & Deisseroth, K. (2009) Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning. *Science*, **324**, 1080-1084.
- Ubeda-Banon, I., Novejarque, A., Mohedano-Moriano, A., Pro-Sistiaga, P., de la Rosa-Prieto, C., Insausti, R., Martinez-Garcia, F., Lanuza, E. & Martinez-Marcos, A. (2007) Projections from the posterolateral olfactory amygdala to the ventral striatum: neural basis for reinforcing properties of chemical stimuli. *BMC neuroscience*, **8**, 103.
- Ubeda-Banon, I., Novejarque, A., Mohedano-Moriano, A., Pro-Sistiaga, P., Insausti, R., Martinez-Garcia, F., Lanuza, E. & Martinez-Marcos, A. (2008) Vomeronasal inputs to the rodent ventral striatum. *Brain research bulletin*, **75**, 467-473.
- Ungless, M.A., Argilli, E. & Bonci, A. (2010) Effects of stress and aversion on dopamine neurons: implications for addiction. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **35**, 151-156.
- Usunoff, K.G., Schmitt, O., Itzev, D.E., Haas, S.J., Lazarov, N.E., Rolfs, A. & Wree, A. (2009) Efferent projections of the anterior and posterodorsal regions of the medial nucleus of the amygdala in the mouse. *Cells, tissues, organs*, **190**, 256-285.
- Uylings, H.B., Groenewegen, H.J. & Kolb, B. (2003) Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural brain research*, **146**, 3-17.
- Uylings, H.B. & van Eden, C.G. (1990) Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Progress in brain research*, **85**, 31-62.
- van Groen, T., Miettinen, P. & Kadish, I. (2003) The entorhinal cortex of the mouse: organization of the projection to the hippocampal formation. *Hippocampus*, **13**, 133-149.
- Van Hartevelt, T.J. & Kringelbach, M.L. (2012) *The Human Nervous System (Third Edition)*. Juergen K. Mai and George Paxinos (ed.).
- Varendi, H., Porter, R.H. & Winberg, J. (1994) Does the newborn baby find the nipple by smell? *Lancet*, **344**, 989-990.
- Vassar, R., Chao, S.K., Sitcheran, R., Nunez, J.M., Vosshall, L.B. & Axel, R. (1994) Topographic organization of sensory projections to the olfactory bulb. *Cell*, **79**, 981-991.
- Vassar, R., Ngai, J. & Axel, R. (1993) Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell*, **74**, 309-318.

- Vertes, R.P. & Hoover, W.B. (2008) Projections of the paraventricular and paratenial nuclei of the dorsal midline thalamus in the rat. *The Journal of comparative neurology*, **508**, 212-237.
- Voorn, P., Vanderschuren, L.J., Groenewegen, H.J., Robbins, T.W. & Pennartz, C.M. (2004) Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends in neurosciences*, **27**, 468-474.
- Wacker, D.W., Engelmann, M., Tobin, V.A., Meddle, S.L. & Ludwig, M. (2011) Vasopressin and social odor processing in the olfactory bulb and anterior olfactory nucleus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1220**, 106-116.
- Wauquier, A. & Niemegeers, C.J. (1976) Restoration of self-stimulation inhibited by neuroleptics. *European journal of pharmacology*, **40**, 191-194.
- Wedekind, C. & Furi, S. (1997) Body odour preferences in men and women: do they aim for specific MHC combinations or simply heterozygosity? *Proceedings. Biological sciences*, **264**, 1471-1479.
- Wedekind, C., Seebeck, T., Bettens, F. & Paepke, A.J. (1995) MHC-dependent mate preferences in humans. *Proceedings. Biological sciences*, **260**, 245-249.
- Welker, W.I. (1957) "Free" versus "forced" exploration of a novel situation by rats. *Psychological Reports*, **3**, 95-108.
- Wenkstern, D., Pfaus, J.G. & Fibiger, H.C. (1993) Dopamine transmission increases in the nucleus accumbens of male rats during their first exposure to sexually receptive female rats. *Brain research*, **618**, 41-46.
- Wenzel, J.M., Rauscher, N.A., Cheer, J.F. & Oleson, E.B. (2015) A role for phasic dopamine release within the nucleus accumbens in encoding aversion: a review of the neurochemical literature. *ACS chemical neuroscience*, **6**, 16-26.
- Wesson, D.W. & Wilson, D.A. (2010) Smelling sounds: olfactory-auditory sensory convergence in the olfactory tubercle. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **30**, 3013-3021.
- Wesson, D.W. & Wilson, D.A. (2011) Sniffing out the contributions of the olfactory tubercle to the sense of smell: hedonics, sensory integration, and more? *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **35**, 655-668.
- White, L.E. (1965) Olfactory bulb projections of the rat. *The Anatomical record*, **152**, 65-479.
- Whitman, M.C. & Greer, C.A. (2009) Adult neurogenesis and the olfactory system. *Progress in neurobiology*, **89**, 162-175.
- Wicker, B., Keysers, C., Plailly, J., Royet, J.P., Gallese, V. & Rizzolatti, G. (2003) Both of us disgusted in My insula: the common neural basis of seeing and feeling disgust. *Neuron*, **40**, 655-664.
- 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 12592-12597.
- Willner, P., Muscat, R. & Papp, M. (1992) Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **16**, 525-534.
- Wilson, D.A. (1998) Synaptic correlates of odor habituation in the rat anterior piriform cortex. *Journal of neurophysiology*, **80**, 998-1001.
- Wilson, D.A., Fletcher, M.L. & Sullivan, R.M. (2004) Acetylcholine and olfactory perceptual learning. *Learning & memory*, **11**, 28-34.
- Wilson, D.A. & Linster, C. (2008) Neurobiology of a simple memory. *Journal of neurophysiology*, **100**, 2-7.

- Wilson, D.A. & Rennaker, R.L. (2010) Cortical Activity Evoked by Odors. In Menini, A. (ed) *The Neurobiology of Olfaction*, Boca Raton (FL).
- Wilson, D.A. & Stevenson, R.J. (2003) The fundamental role of memory in olfactory perception. *Trends in neurosciences*, **26**, 243-247.
- Wilson, D.A. & Sullivan, R.M. (2011) Cortical processing of odor objects. *Neuron*, **72**, 506-519.
- Wilson, D.I. & Bowman, E.M. (2005) Rat nucleus accumbens neurons predominantly respond to the outcome-related properties of conditioned stimuli rather than their behavioral-switching properties. *Journal of neurophysiology*, **94**, 49-61.
- Wilson, R.I. & Mainen, Z.F. (2006) Early events in olfactory processing. *Annual review of neuroscience*, **29**, 163-201.
- Winston, J.S., Gottfried, J.A., Kilner, J.M. & Dolan, R.J. (2005) Integrated neural representations of odor intensity and affective valence in human amygdala. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **25**, 8903-8907.
- Wise, P.M., Olsson, M.J. & Cain, W.S. (2000) Quantification of odor quality. *Chemical senses*, **25**, 429-443.
- Wise, R.A. (1978) Catecholamine theories of reward: a critical review. *Brain research*, **152**, 215-247.
- Wise, R.A. & Bozarth, M.A. (1987) A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological review*, **94**, 469-492.
- Wise, R.A. & Rompre, P.P. (1989) Brain dopamine and reward. *Annual review of psychology*, **40**, 191-225.
- Wisman, A. & Shrira, I. (2015) The smell of death: evidence that putrescine elicits threat management mechanisms. *Frontiers in psychology*, **6**, 1274.
- Witten, I.B., Steinberg, E.E., Lee, S.Y., Davidson, T.J., Zalocusky, K.A., Brodsky, M., Yizhar, O., Cho, S.L., Gong, S., Ramakrishnan, C., Stuber, G.D., Tye, K.M., Janak, P.H. & Deisseroth, K. (2011) Recombinase-driver rat lines: tools, techniques, and optogenetic application to dopamine-mediated reinforcement. *Neuron*, **72**, 721-733.
- Wright, C.I. & Groenewegen, H.J. (1996) Patterns of overlap and segregation between insular cortical, intermediodorsal thalamic and basal amygdaloid afferents in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience*, **73**, 359-373.
- Wysocki, C.J., Pierce, J.D.J. & Gilbert, A.N. (1991) Geographic, cross-cultural, and individual variation in human olfaction. In T.V. Getchell, L.M. Bartoshuk, R.L. Doty, & J.B. Snow, Jr. (Eds.), *Smell and taste in health and disease*. New York: Raven Press, 287-314.
- Xia, C.Z., Adjei, S. & Wesson, D.W. (2015) Coding of odor stimulus features among secondary olfactory structures. *Journal of neurophysiology*, **114**, 736-745.
- Xia, Y., Driscoll, J.R., Wilbrecht, L., Margolis, E.B., Fields, H.L. & Hjelmstad, G.O. (2011) Nucleus accumbens medium spiny neurons target non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **31**, 7811-7816.
- Xiong, A. & Wesson, D.W. (2016) Illustrated Review of the Ventral Striatum's Olfactory Tubercle. *Chemical senses*, **41**, 549-555.
- Xiong, W. & Chen, W.R. (2002) Dynamic gating of spike propagation in the mitral cell lateral dendrites. *Neuron*, **34**, 115-126.
- Xu, F., Liu, N., Kida, I., Rothman, D.L., Hyder, F. & Shepherd, G.M. (2003) Odor maps of aldehydes and esters revealed by functional MRI in the glomerular layer of the mouse olfactory bulb. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 11029-11034.

- Xu, F., Schaefer, M., Kida, I., Schafer, J., Liu, N., Rothman, D.L., Hyder, F., Restrepo, D. & Shepherd, G.M. (2005) Simultaneous activation of mouse main and accessory olfactory bulbs by odors or pheromones. *The Journal of comparative neurology*, **489**, 491-500.
- Xu, W. & Wilson, D.A. (2012) Odor-evoked activity in the mouse lateral entorhinal cortex. *Neuroscience*, **223**, 12-20.
- Yamaguchi, M. (2017) Functional Sub-Circuits of the Olfactory System Viewed from the Olfactory Bulb and the Olfactory Tubercle. *Frontiers in neuroanatomy*, **11**, 33.
- Yan, Z., Tan, J., Qin, C., Lu, Y., Ding, C. & Luo, M. (2008) Precise circuitry links bilaterally symmetric olfactory maps. *Neuron*, **58**, 613-624.
- Yao, M., Rosenfeld, J., Attridge, S., Sidhu, S., Aksenov, V. & Rollo, C.D. (2009) The ancient chemistry of avoiding risks of predation and disease. *Evol. Biol.*, **36**, 267-281.
- Yeomans, M.R., Mobini, S., Elliman, T.D., Walker, H.C. & Stevenson, R.J. (2006) Hedonic and sensory characteristics of odors conditioned by pairing with tastants in humans. *Journal of experimental psychology. Animal behavior processes*, **32**, 215-228.
- Yeshurun, Y. & Sobel, N. (2010) An odor is not worth a thousand words: from multidimensional odors to unidimensional odor objects. *Annual review of psychology*, **61**, 219-241, C211-215.
- Young, A.M. (2004) Increased extracellular dopamine in nucleus accumbens in response to unconditioned and conditioned aversive stimuli: studies using 1 min microdialysis in rats. *Journal of neuroscience methods*, **138**, 57-63.
- Young, B.J., Otto, T., Fox, G.D. & Eichenbaum, H. (1997) Memory representation within the parahippocampal region. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **17**, 5183-5195.
- Zaghloul, K.A., Blanco, J.A., Weidemann, C.T., McGill, K., Jaggi, J.L., Baltuch, G.H. & Kahana, M.J. (2009) Human substantia nigra neurons encode unexpected financial rewards. *Science*, **323**, 1496-1499.
- Zahm, D.S. & Heimer, L. (1993) Specificity in the efferent projections of the nucleus accumbens in the rat: comparison of the rostral pole projection patterns with those of the core and shell. *The Journal of comparative neurology*, **327**, 220-232.
- Zald, D.H., Donndelinger, M.J. & Pardo, J.V. (1998) Elucidating dynamic brain interactions with across-subjects correlational analyses of positron emission tomographic data: the functional connectivity of the amygdala and orbitofrontal cortex during olfactory tasks. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **18**, 896-905.
- Zald, D.H. & Pardo, J.V. (1997) Emotion, olfaction, and the human amygdala: amygdala activation during aversive olfactory stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 4119-4124.
- Zarzo, M. (2011) Hedonic judgments of chemical compounds are correlated with molecular size. *Sensors*, **11**, 3667-3686.
- Zatorre, R.J., Jones-Gotman, M., Evans, A.C. & Meyer, E. (1992) Functional localization and lateralization of human olfactory cortex. *Nature*, **360**, 339-340.
- Zatorre, R.J., Jones-Gotman, M. & Rouby, C. (2000) Neural mechanisms involved in odor pleasantness and intensity judgments. *Neuroreport*, **11**, 2711-2716.
- Zelano, C., Bensafi, M., Porter, J., Mainland, J., Johnson, B., Bremner, E., Telles, C., Khan, R. & Sobel, N. (2005) Attentional modulation in human primary olfactory cortex. *Nature neuroscience*, **8**, 114-120.

- Zelano, C., Montag, J., Johnson, B., Khan, R. & Sobel, N. (2007) Dissociated representations of irritation and valence in human primary olfactory cortex. *Journal of neurophysiology*, **97**, 1969-1976.
- Zhang, X. & Firestein, S. (2002) The olfactory receptor gene superfamily of the mouse. *Nature neuroscience*, **5**, 124-133.
- Zhao, H. & Firestein, S. (1999) Vertebrate odorant receptors. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, **56**, 647-659.
- Zhou, J., Dong, Q., Zhuang, L.J., Li, R. & Wang, P. (2012) Rapid odor perception in rat olfactory bulb by microelectrode array. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, **13**, 1015-1023.
- Zhou, W. & Chen, D. (2009) Fear-related chemosignals modulate recognition of fear in ambiguous facial expressions. *Psychological science*, **20**, 177-183.
- Zou, D.J., Chesler, A. & Firestein, S. (2009) How the olfactory bulb got its glomeruli: a just so story? *Nature reviews. Neuroscience*, **10**, 611-618.

Table des illustrations

Figure 1. Organisation anatomique et cellulaire du bulbe olfactif. **p.24**

Figure 2. Représentation schématique des projections des cellules relais M/P du bulbe olfactif sur les structures olfactives secondaires. **p.30**

Figure 3. Anatomie générale du tubercule olfactif. **p.36**

Figure 4. Représentation 3D illustrée des afférences olfactives du tubercule olfactif. **p.37**

Figure 5. Illustration 3D de la connectivité du tubercule olfactif au sein du complexe striato-pallidal ventral. **p.38**

Figure 6. Représentation des connexions anatomiques actuellement connues du tubercule olfactif. **p.39**

Résumé étude 1. Le bulbe olfactif est un lieu de codage de la valeur hédonique innée des odeurs. **p.85**

Résumé étude 2. Développement d'une procédure de recalage de l'activité neuronale issue de coupes histologiques dans un atlas commun de référence. **p.114**

Résumé étude 3. L'attraction innée des odeurs non biologiques est médiée par le système de la récompense. **p.158**

Figure 7. Les odorants plaisants auraient des propriétés anxiolytiques. **p.181**

Figure 8. L'attraction spontanée des odorants est altérée au cours du vieillissement. **p.184**

Figure 9. L'effet positif des odeurs plaisantes sur l'anxiété est altéré précocement au cours du vieillissement. **p.184**

Annexes

Annexe 1 : Forest J.* , Midroit M.* & Mandairon M.* (2017)

La plasticité hors du commun du système olfactif (Extraordinary olfactory system plasticity). *Pollution atmosphérique* n°234 avril

La plasticité hors du commun du système olfactif

Extraordinary olfactory system plasticity

Jérémy Forest¹, Maëllie Midroit¹, Nathalie Mandairon¹,

Résumé

Le cerveau de mammifère adulte est remarquablement plastique ; en effet, il est capable de se modifier constamment en réponse aux stimulations environnementales changeantes. Ces modifications induites par l'expérience façonnent notre perception de l'environnement.

Dans de nombreuses régions du cerveau, cette plasticité se manifeste par des modifications de la morphologie des neurones ainsi que des changements du nombre et de la position de leurs connexions. Ces modifications anatomiques et fonctionnelles du cerveau permettent les apprentissages et sous-tendent la mémoire. Cependant, dans deux régions cérébrales, cette plasticité devient « extra-ordinaire » puisqu'elle consiste également en l'ajout de nouveaux neurones dans des réseaux complexes de neurones préexistants. Ce phénomène s'appelle la neurogenèse adulte. Les deux régions du cerveau qui sont les cibles de la neurogenèse adulte sont l'hippocampe et le bulbe olfactif, structures importantes pour le traitement de l'information spatiale et olfactive respectivement. Entre ces deux sites de neurogenèse, c'est le bulbe olfactif qui reçoit l'apport le plus important de nouveaux neurones. Ces nouveaux neurones bulbaires sont issus de cellules souches qui vont donner des neuroblastes (neurones immatures) qui migrent jusqu'au bulbe olfactif pour donner des neurones matures et fonctionnels. La neurogenèse adulte, bien que spatialement restreinte dans le cerveau de mammifère, constituerait un processus de plasticité accrue permettant l'apprentissage et la mise en mémoire des informations.

Même si l'olfaction est, parmi nos cinq sens, celui auquel nous attachons souvent le moins d'importance, il est extrêmement présent dans notre quotidien et influence notre qualité de vie. En effet, les odeurs modulent nos humeurs, notre cognition et notre comportement. Ce sens est non seulement essentiel à la prise alimentaire, puisque l'olfaction est un composant majeur de la perception de la saveur des aliments, mais il intervient également dans l'évitement des dangers comme, par exemple, des incendies, des fuites de gaz, et enfin il joue un rôle dans les interactions sociales. Pour analyser ces milliers d'odeurs que nous percevons tous les jours, nous disposons d'un système olfactif capable de détecter, d'identifier et de discriminer les odeurs. Le traitement sensoriel des odeurs est un processus dynamique tout au long de notre vie, qui est permis par la neurogenèse adulte. Cependant la neurogenèse adulte peut être altérée par le stress ou la pollution, conditions provoquant inévitablement des troubles de la perception des odeurs.

Mots-clés

olfaction, neurogenèse adulte, stress, pollution

(1) Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM, U1028, CNRS, UMR 5292, Université Lyon 1, F-69000, France

Abstract

The adult mammalian brain is highly plastic. Indeed it is constantly able to remodel itself in response to changing environmental stimulations. These modifications induced by experience shape our environmental perception.

In several brain regions, this plasticity is underlined by changes in the morphology of neurons including modifications of the number or position of their connections. These anatomical and functional modifications allow learning process and memory formation. However in two specific brain regions, this plasticity becomes extraordinary in the sense that new neurons are constantly added in complex preexisting networks. This phenomenon is called adult neurogenesis. The two brain regions where adult neurogenesis occurs are the hippocampus and the olfactory bulb, structures important respectively for spatial and olfactory information processing. Among these two structures, the olfactory bulb receives the most important number of neurons. These new bulbar neurons come from stem cells which divide into neuroblasts (immature neurons) that migrate to the olfactory bulb where they give rise to mature and functioning neurons. Adult neurogenesis, even if spatially restricted in the brain, provides a higher level of plasticity allowing learning and memory.

Even if, among our five senses, olfaction is the one we pay the less attention to, it is extremely present on a daily basis and influences our quality of life. Indeed, odors can have an effect on mood, cognition and behavior.

This sense is not only of primary importance in nutrition behavior because of its importance in flavor perception but it is also essential to avoid dangers like fires or gas leaks. It is also playing a crucial role in social interactions. In order to analyze these millions of odors that we perceive each day, we have an olfactory system capable of detecting, identifying and discriminating odors. The odor sensory processing is a dynamic process occurring during our whole life and permitted by adult neurogenesis. However adult neurogenesis can be altered by stress or pollution, both causing trouble with our odor perception.

Keywords

olfaction, adult neurogenesis, stress, pollution

Introduction

Même si l'olfaction est, parmi nos cinq sens, celui auquel nous attachons souvent le moins d'importance, il est extrêmement présent dans notre quotidien et influence notre qualité de vie. En effet, les odeurs modulent nos humeurs, notre cognition et notre comportement. Ce sens est non seulement essentiel à la prise alimentaire puisque l'olfaction est un composant majeur de la flaveur des aliments (en association avec la gustation et les entrées somatosensorielles) mais il est important également dans l'évitement des dangers tels qu'un incendie, une fuite de gaz ou un prédateur, et enfin il intervient dans les interactions sociales et la reproduction. Les odeurs guident ainsi notre comportement pour répondre aux besoins essentiels à la survie et, au-delà, contribuent fortement aux plaisirs sensoriels et à l'attractivité de l'environnement.

Pour analyser les milliers d'odeurs que nous percevons tous les jours, nous disposons d'un système olfactif capable de les détecter, de les identifier et de les discriminer. Le traitement sensoriel des odeurs est un processus dynamique tout au long de la vie, qui nécessite des apprentissages et met donc en jeu des mécanismes de plasticité cérébrale. Cependant, ce système olfactif très performant peut être perturbé par différents paramètres, comme le stress et la pollution, qui altèrent les réseaux neuronaux sous-jacents.

1. Le bulbe olfactif, première étape de la représentation des odeurs

La perception olfactive se fait schématiquement en trois étapes. Tout d'abord, un odorant, molécule chimique volatile, va atteindre la cavité nasale grâce à la respiration. Cet odorant va alors se lier à des récepteurs olfactifs présents sur les neurones sensoriels de l'épithélium au fond de la cavité nasale. La reconnaissance odorant-récepteur va initier la transformation du message chimique porté par l'odeur en un message électrique. Ensuite, *via* les axones des neurones sensoriels, le message olfactif est acheminé jusqu'au bulbe olfactif, cortex sensoriel et premier relai cérébral de l'information olfactive (figure 1).

Le rôle du bulbe olfactif est d'élaborer une représentation neurale de l'odorant à partir des signaux issus des neurones sensoriels olfactifs de la cavité nasale, mais également de moduler cette représentation en fonction des influences issues d'autres régions du cerveau puisque l'activité du bulbe olfactif est régulée, entre autres, par des voies neuromodulatrices cholinergiques, noradrénergiques et sérotoninergiques. Ces voies neuromodulatrices sont importantes dans les processus d'attention et de mémoire. Ainsi, l'odeur sera encodée dès le bulbe olfactif sous ses aspects perceptifs (identité, intensité...) et mnésiques (contextes, associations diverses...).

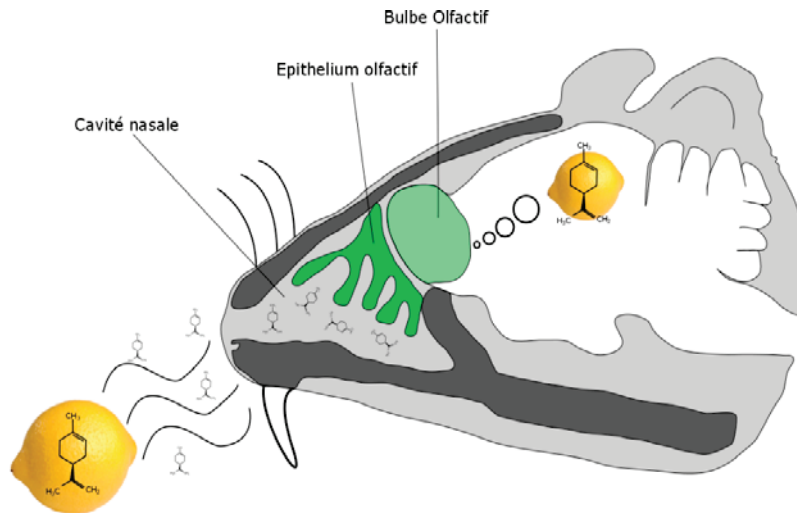


Figure 1. Système olfactif.

Les molécules odorantes entrent dans la cavité nasale où elles se lient avec les récepteurs olfactifs des neurones sensoriels présents au niveau de l'épithélium olfactif. L'information est ensuite transmise au bulbe olfactif puis vers d'autres structures cérébrales, aboutissant ainsi à la perception olfactive.

Olfactory system.

Odorants penetrate into the nasal cavity where they bind the olfactory receptors of the sensory neurons at the level of the olfactory epithelium. The information is then transmitted to the olfactory bulb and to higher brain structures leading to olfactory perception.

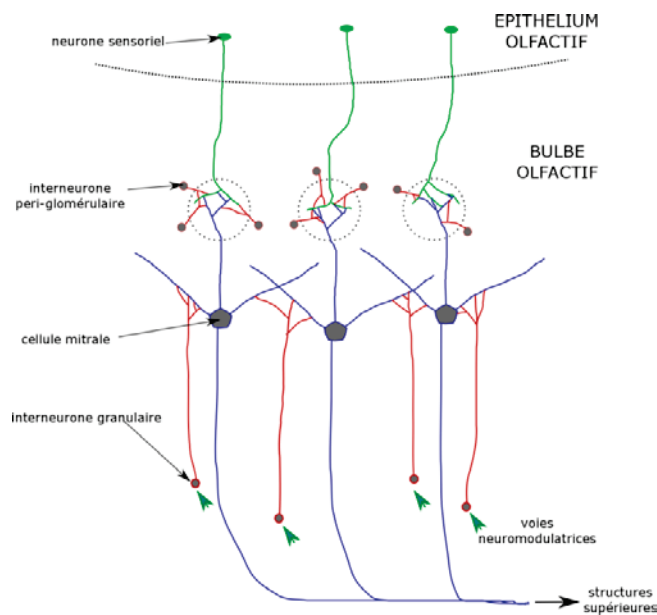


Figure 2. Organisation du bulbe olfactif.

Les neurones sensoriels de l'épithélium olfactif envoient leurs axones vers le bulbe olfactif où ils se connectent aux neurones relais du bulbe (les cellules mitrales) qui, à leur tour, transmettent l'information vers des structures supérieures de traitement. Au niveau du bulbe olfactif, deux populations d'interneurones modulent l'information : les interneurones périglomérulaires et les interneurones granulaires. De plus, les voies neuromodulatrices modulent l'activité des interneurones inhibiteurs.

Olfactory bulb cellular organization.

Olfactory sensory neurons present in the epithelium send their axons to the olfactory bulb where they connect relay neurons (mitral cells) which send the information to higher centers. At the level of the olfactory bulb, two populations of interneurons modulate the information : periglomerular interneurons and granule interneurons. In addition, neuromodulatory fibers modulate inhibitory interneurons activity.

Plus précisément, le bulbe olfactif est constitué de neurones relais (les cellules mitrales), qui reçoivent l'information olfactive grâce à une connexion avec les neurones sensoriels et qui envoient ensuite l'information vers le reste du cerveau. L'information portée par ces cellules mitrales sera sculptée par de petits interneurones inhibiteurs avec qui elles sont connectées (figure 2). Ces petites cellules sont la cible de la neurogenèse adulte.

2. La neurogenèse adulte, une forme originale de plasticité

2. 1. Découverte

La neurogenèse adulte consiste en l'apport permanent de nouveaux neurones dans le circuit neuronal préexistant. En 1906, le neurobiologiste espagnol Santiago Ramon y Cajal (1852-1934) obtient le prix Nobel pour ses travaux sur l'histologie du cerveau. Un de ses postulats affirme que le cerveau adulte est un organe incapable de se régénérer : « *Une fois le développement terminé, la pousse et la régénération axonales et dendritiques s'arrêtent de manière irrévocable. Dans le système nerveux central adulte, le réseau nerveux est fixe, terminé et immuable* ». Ainsi, à la naissance, nous disposons d'un stock de neurones établissant entre eux de nouvelles connexions, mais il n'y aurait pas d'apparition de nouveaux neurones chez l'adulte. Cet énoncé s'érigea en dogme pendant près d'un siècle. Cependant, depuis les années 60, beaucoup de certitudes concernant l'absence de neurogenèse chez l'adulte se sont effondrées. En effet, Joseph Altman, un chercheur américain, découvre dans le cerveau de mammifère des cellules formées à l'âge adulte qui ressemblent à des neurones et qui seront formellement identifiées comme tels grâce à la microscopie électronique par Michael Kaplan quelques années plus tard (Altman, 1969). Après avoir été longtemps ignorée, cette découverte a été confirmée dans les années 90, et il est maintenant bien établi que la neurogenèse persiste tout au long de la vie, principalement dans deux régions du cerveau de mammifère adulte, le gyrus denté de l'hippocampe et le bulbe olfactif (figure 3). Cette neurogenèse a été décrite chez de nombreux mammifères, y compris l'homme (même si la question de la neurogenèse olfactive chez l'homme est discutée par certains auteurs). Entre ces deux sites de neurogenèse, c'est le bulbe olfactif qui reçoit le plus grand nombre de nouveaux neurones.

La neurogenèse adulte, même si spatialement restreinte dans le cerveau de mammifère, permettrait une plasticité accrue dans des structures clés de l'apprentissage et de la mémoire que sont l'hippocampe et le bulbe olfactif. Les études récentes se sont donc attachées à comprendre les interactions entre neurogenèse et apprentissages.

2. 2. Description

2. 2. 1. Mise en évidence de la cellule souche

La cellule souche, cellule capable de donner tous les types cellulaires, a été mise en évidence après mise en culture du tissu neural de mammifère adulte. Les chercheurs ont observé que différentes régions

du cerveau, dont la zone sous-ventriculaire bordant les ventricules latéraux, étaient capables de donner des neurosphères, amas de cellules pouvant se différencier en neurones ou en cellules gliales (Reynolds et Weiss, 1992). C'est de cette région que sont issus les neurones formés chez l'adulte du système olfactif.

2. 2. 2. Migration des neurones immatures et intégration dans le réseau neuronal préexistant

La cellule souche adulte présente dans la zone sous-ventriculaire va se différencier en neuroblaste (neurone immature), qui va migrer pendant environ six jours le long d'un trajet très stéréotypé, appelé le flux rostral migratoire, pour rejoindre le centre du bulbe olfactif. Ensuite, ces neuroblastes vont entamer une migration radiale pour rejoindre leur destination finale, la couche granulaire, où ils vont se différencier en interneurons inhibiteurs granulaires (94 %), et la couche glomérulaire où ils donneront des interneurons périglomérulaires (4 %) (Lledo, Valley, 2016). Ainsi, des dizaines de milliers de nouveaux neurones arrivent et s'intègrent chaque jour au niveau du bulbe olfactif. Dans des conditions de base, environ un mois après leur naissance, la moitié de ces neurones meurt par un phénomène d'apoptose, et l'autre moitié va survivre à plus long terme dans le réseau neuronal bulbaire. Cependant cet équilibre mort/survie des nouveaux neurones peut être modulé et jouer un rôle crucial dans de nombreux comportements.

3. Quels rôles pourraient jouer les neurones formés à l'âge adulte dans la fonction olfactive ?

Une question clé associée à la découverte de ce phénomène de neurogenèse concerne le rôle fonctionnel de ces nouveaux neurones. Quelle est leur fonction dans le système olfactif ?

Comme le bulbe olfactif a été impliqué dans de nombreux apprentissages olfactifs et qu'il est le siège d'une neurogenèse importante, l'hypothèse d'un rôle central de la neurogenèse dans les processus d'apprentissage a été proposée. Plusieurs études ont montré que l'activité olfactive simple (être exposé à des odeurs) peut moduler le taux de formation des nouveaux neurones en agissant sur leur capacité à survivre dans le réseau préexistant (Mandairon *et al.*, 2006b, Rochefort *et al.*, 2002). En effet, il existe une fenêtre temporelle (environ un mois après leur naissance) où les nouveaux neurones sont particulièrement sensibles à la présence ou l'absence de stimulation olfactive.

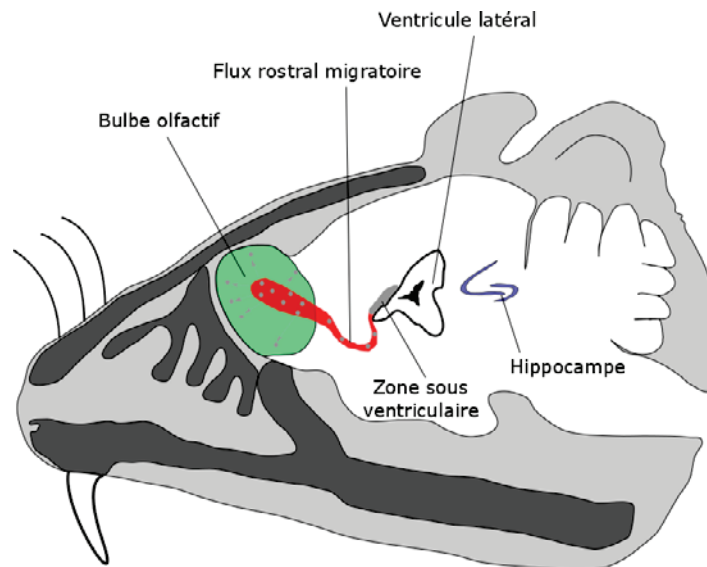


Figure 3. Neurogenèse adulte.

Les nouveaux neurones olfactifs ont pour origine des cellules souches situées dans la zone sous-ventriculaire, le long des ventricules latéraux. Ces cellules souches se différencient en neurones immatures (neuroblastes) qui migrent le long du flux rostral migratoire jusqu'au centre du bulbe olfactif. Ensuite, au sein du bulbe olfactif, ces neurones immatures migrent pour rejoindre leur destination finale et se différencier interneurone granulaire ou périglomérulaire.

Adult neurogenesis.

Olfactory newborn neurons originate from stem cells present in the subventricular zone located along the lateral ventricles. Stem cells differentiate into immature neurons (neuroblasts) that migrate along the rostral migratory stream to reach the olfactory bulb. Within the olfactory bulb, the neuroblasts migrate radially to reach their final destination and differentiate interneurone granule or periglomerular interneurons.

Pour comprendre la signification fonctionnelle de la neurogenèse adulte, plusieurs laboratoires ont étudié le rôle de la neurogenèse dans des contextes d'apprentissage et de mémoire. Le paradigme d'apprentissage le plus couramment utilisé est celui de l'apprentissage associatif de discrimination (apprentissage explicite), qui consiste à apprendre à un animal à associer une odeur à une récompense. Au fil des essais d'apprentissage, l'animal parvient à mieux discriminer l'odeur pour trouver sa récompense. Cet apprentissage augmente la neurogenèse (Mandairon *et al.*, 2006a, Sultan *et al.*, 2010). Dans cette lignée, il est maintenant possible, grâce à des vecteurs viraux, de stimuler spécifiquement ces nouveaux neurones, ce qui provoque une amélioration de la discrimination (Alonso *et al.*, 2012). Les nouveaux neurones sélectionnés lors de l'apprentissage deviennent alors le support de la trace mnésique. Ainsi leur suppression pharmacologique, génétique ou par irradiation, entraîne un déficit de la mémoire (Imayoshi *et al.*, 2008, Lazarini *et al.*, 2009, Sultan *et al.*, 2010). Inversement, un effacement de cette mémoire provoque la suppression prématurée de ces neurones (Sultan *et al.*, 2011).

Parmi les différents types d'apprentissages existe également l'« apprentissage perceptif » qui s'oppose à l'« apprentissage associatif » par son côté impli-

cite, dans le sens où il n'implique pas de conditionnement et pas d'action ciblée de la part de l'animal. L'apprentissage perceptif se traduit par une amélioration de la discrimination entre deux stimuli très similaires, suite à l'exposition répétée à ces mêmes stimuli. Chez les rongeurs, l'apprentissage perceptif olfactif a été mis en évidence par l'exposition répétée à deux odeurs très proches sur le plan perceptuel, donc non discriminées (Mandairon *et al.*, 2006c). Il s'avère que la simple exposition quotidienne à ces odeurs proches pendant une dizaine de jours améliore leur discrimination. Cette amélioration de la perception olfactive est sous-tendue par la neurogenèse, puisque si l'on supprime de façon pharmacologique l'approvisionnement du bulbe olfactif en nouveaux neurones, l'exposition aux odeurs n'améliore plus les performances de discrimination (Moreno *et al.*, 2009). Les mécanismes gouvernant l'intégration et la survie des nouveaux neurones pendant l'apprentissage restent cependant encore mal connus.

Enfin, la neurogenèse adulte semble impliquée dans les apprentissages sociaux et les stratégies de reproduction. Ainsi, les phéromones du mâle dominant sont capables de stimuler la neurogenèse dans le cerveau de souris femelle qui développe une préférence pour l'odeur de ce mâle. Si la neurogenèse est bloquée par

l'injection d'antimitotique, cette préférence sociale n'a plus lieu (Mak *et al.*, 2007). La neurogenèse semble également impliquée lors de la gestation. En effet, ce processus est stimulé par une hormone, la prolactine qui, lorsqu'elle est inhibée, induit une diminution de la neurogenèse (Shingo *et al.*, 2003).

Ainsi, ces différentes études montrent qu'en fonction du nombre de nouveaux neurones présents dans le bulbe olfactif, la perception et la mémoire olfactives peuvent être modulées. Au-delà de leur nombre, la morphologie des nouveaux neurones peut être façonnée par l'apprentissage (Daroles *et al.*, 2016, Lepousez *et al.*, 2014) afin d'améliorer les performances olfactives.

Ainsi, les nouveaux neurones bulbaires, de par une modulation de leur nombre, de leur morphologie ou de leur niveau d'excitabilité (Nissant *et al.*, 2009) changent le message envoyé aux autres régions du cerveau et donc la perception et la mémoire de l'odeur. Il est maintenant de plus en plus évident au sein de la littérature que cette neurogenèse est non seulement essentielle au fonctionnement normal du cerveau mais est en plus extrêmement sensible aux changements de l'environnement, qu'ils soient positifs ou négatifs.

4. Effets du stress et de la pollution

4. 1. Les effets du stress sur la neurogenèse

Nous sommes confrontés quotidiennement à des situations aversives qui émergent de notre environnement : un piéton qui traverse un peu trop précipitamment, un entretien d'embauche, l'odeur de gaz indiquant une fuite, une pollution, auxquelles notre organisme répond par un stress. Le stress est généralement défini comme un état de menace de l'homéostasie, c'est-à-dire de notre équilibre physiologique (Smith et Vale, 2006), auquel nous réagissons en activant une large gamme de réponses comportementales et physiologiques appelée communément la réponse au stress. En situation aversive, le maintien de l'homéostasie nécessite l'activation de nombreux systèmes impliquant le système endocrinien, le système nerveux et le système immunitaire formant la réponse au stress (Chrousos et Gold, 1992, Carrasco et Van De Kar, 2003) ayant pour rôle de maximiser les chances de survie de l'organisme face à une situation menaçante.

Le principal effecteur de la réponse au stress est le système corticotrope ou axe HPA, impliquant l'hypothalamus, l'hypophyse et les glandes surrénales. Son activation, induite par une situation aversive, aboutit à la libération spécifique « d'hormones de stress », appelées glucocorticoïdes et corticostéroïdes, qui agiront entre autres au niveau du cortex préfrontal qui

gère les informations et gouverne la prise de décision (comme, par exemple, une fuite), mais également sur l'ensemble de l'organisme grâce à la présence de nombreux récepteurs. Ainsi, en réponse à un challenge de court terme, le stress favorise notre survie en guidant notre comportement et permettant une réponse adaptée de notre organisme. Cependant, lors de situations aversives prolongées et/ou répétées, l'activation de l'axe HPA peut être dérégulée (Miller *et al.*, 2007 ; Mizoguchi *et al.*, 2008), on parle alors de stress chronique. En affectant 13,6 % de la population européenne (95 millions d'individus) et 20 % des personnes âgées, le stress chronique fait partie des troubles les plus fréquents dans nos sociétés selon le National Institute of Mental Health, il est délétère pour l'organisme, notamment pour le système cérébral, et pourrait contribuer au développement de nombreuses pathologies (McEwen et Stellar, 1993).

Le stress favorise notre survie grâce à la mise en place d'une réponse adaptative extrêmement demandeur en énergie mais qui s'avère être délétère sur le long terme, lors de stress chronique. Cette réponse représente donc un coût pour certaines régions de l'organisme, mais quel est l'impact sur la neurogenèse ?

Des travaux ont montré que le stress entraîne une profonde perturbation de la neurogenèse adulte, conduisant à une réduction rapide et prolongée des taux de prolifération des neuroblastes et de survie neuronale. Chez le rongeur, un stress chronique établi à l'âge adulte ou un stress précoce après la naissance conduit à un dérèglement de l'axe HPA et à l'élévation de la libération de glucocorticoïdes (Lehmann *et al.*, 2013), qui seraient les médiateurs des altérations de la neurogenèse adulte. En effet, des études ont rapporté une diminution de la prolifération des cellules souches ainsi qu'une diminution de la survie des neurones néoformés dans le bulbe olfactif après apport exogène de glucocorticoïdes (Lau *et al.*, 2007 ; Siopi *et al.*, 2016). Les auteurs rapportent également une perturbation des fonctions olfactives (acuité, discrimination entre deux odeurs et mémoire olfactive). À l'inverse, un traitement avec un antagoniste des récepteurs aux glucocorticoïdes, après l'établissement d'un stress chronique, restaure la neurogenèse à des niveaux contrôlés (Oomen *et al.*, 2007). D'autre part, la prolifération des cellules souches est favorisée par la suppression des glucocorticoïdes circulants (Guo *et al.*, 2010). Ces résultats suggèrent donc que la quantité de neurones néoformés est modulée par les glucocorticoïdes qui doivent, pour agir, se lier à leurs récepteurs. Ces récepteurs sont présents en très grande quantité dans le bulbe olfactif (Morimoto *et al.*, 1996) et, de façon intéressante, au niveau des cellules granulaires qui correspondent au type neuronal majoritairement produit lors de la neurogenèse adulte (Winner *et al.*, 2002).

Dans nos sociétés vieillissantes, il est intéressant de noter que le niveau de stress s'accroît avec l'âge (Bryant *et al.*, 2008) ainsi que les taux de glucocorticoïdes circulants (Van Cauter *et al.*, 1996) et pourrait expliquer, au moins en partie, la réduction drastique de la neurogenèse observée (Mobley *et al.*, 2014).

Le stress altère donc la neurogenèse, et nous savons aujourd'hui que cette altération est médiée par l'élévation des taux sanguins de glucocorticoïdes (David *et al.*, 2009 ; Mirescu et Gould, 2006). Toutefois, il n'est pas le seul facteur perturbateur de la neurogenèse.

4. 2. La pollution de l'air

12,6 millions est le nombre de décès causés par la pollution en 2012 selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Il existe différents types de pollution, mais nous traiterons uniquement des effets de la pollution de l'air, qui est à l'origine de plus de la moitié des décès recensés (7 millions).

Selon le code de l'environnement, « *Constitue une pollution atmosphérique [...] l'introduction par l'homme [...] d'agents chimiques, biologiques ou physiques ayant des conséquences préjudiciables de nature à mettre en danger la santé humaine, à nuire aux ressources biologiques et aux écosystèmes, à influencer sur les changements climatiques, à détériorer les biens matériels, à provoquer des nuisances olfactives excessives.* ». Il est largement admis que la pollution de l'air impacte notre système nerveux central et pourrait, à force d'exposition, contribuer au développement de pathologies (Genc *et al.*, 2012). Plus particulièrement, l'exposition aux particules en suspension dans l'air a été associée à la perte de l'odorat et à certaines formes de dégénérescence du système nerveux central (Tjalve et Henriksson, 1999). En effet, les individus vivant dans des régions à forte pollution sont susceptibles de présenter un risque accru de développer des maladies telles qu'Alzheimer (Chen *et al.*, 2017), Parkinson ou des scléroses en plaques (Calderon-Garciduenas *et al.*, 2004 ; Calderon-Garciduenas *et al.*, 2013 ; Calderon-Garciduenas et Villarreal-Rios, 2017). Récemment, des travaux ont mis en évidence un effet néfaste de la pollution atmosphérique sur la neurogenèse adulte (Costa *et al.*, 2015). Mais par quels processus ?

4. 2. 1. Neuro-inflammation et stress oxydatif

L'inflammation et le stress oxydatif sont synonymes d'agression cellulaire et représentent les effets les plus importants causés par la pollution de l'air chez l'homme et l'animal (Costa *et al.*, 2015). De par son organisation, le système olfactif est directement

exposé et constitue alors une voie d'entrée idéale par laquelle la pollution de l'air pourrait exercer ses méfaits sur l'organisme. En effet, les molécules volatiles présentes dans l'environnement sont constamment en contact avec notre épithélium olfactif, localisé au fond des cavités nasales, qui contient les neurones olfactifs. Ces derniers projettent directement sur le cerveau et plus particulièrement le bulbe olfactif. Ainsi, les particules présentes dans l'air pollué pourraient aisément pénétrer dans la cavité nasale, interagir avec l'épithélium olfactif, accéder au système nerveux central par l'intermédiaire des neurones olfactifs (Calderon-Garciduenas *et al.*, 2003) et y déclencher une réaction inflammatoire et un stress oxydatif. En effet, la présence de particules polluantes a été identifiée dans le bulbe olfactif de rats après inhalation (Oberdorster *et al.*, 2004) et également chez des personnes vivant dans une atmosphère très polluée (Calderon-Garciduenas *et al.*, 2008). Des études montrent une augmentation des niveaux de cytokines pro-inflammatoires et de la peroxydation lipidique, témoins de l'inflammation et du stress oxydatif respectivement, dans le bulbe olfactif des rongeurs exposés à un air pollué (Costa *et al.*, 2015 ; Tin Tin Win *et al.*, 2008), mais également chez l'homme (Calderon-Garciduenas *et al.*, 2004). D'autres soulignent l'action délétère de l'inflammation et du stress oxydatif sur la neurogenèse, qui peut être restaurée par un traitement anti-inflammatoire et antioxydant (Herrera *et al.*, 2003 ; Monje *et al.*, 2003).

4. 2. 2. La pollution de l'air : une source de stress

De par son action durable et néfaste sur notre organisme, la pollution de l'air représente une situation aversive répétée et prolongée et donc une source de stress. En effet, plusieurs études menées chez l'homme et l'animal suggèrent que l'exposition aux polluants atmosphériques augmenterait les taux sanguins d'hormones de stress (Raff *et al.*, 1981 ; Tomei *et al.*, 2003). Les travaux réalisés chez le rat ont montré une activation de l'axe HPA (augmentation de corticostérone) après 8 heures d'exposition à un air concentré en particules ambiantes (Sirivelu *et al.*, 2006). De façon intéressante, cette étude montre une augmentation des taux de noradrénaline dans le bulbe olfactif, qui est un neuromodulateur essentiel à l'activation de l'axe HPA et qui est également connu pour moduler la neurogenèse bulbaire (Bauer *et al.*, 2003). D'autres recherches ont montré que la pollution de l'air altérait les processus cognitifs, induisait un état de stress et une réaction inflammatoire (Fonken *et al.*, 2011), également connue pour activer l'axe HPA (Berkenbosch *et al.*, 1987).

Outre la toxicité induite par les particules polluantes, la pollution de l'air peut être une source de nuisances

olfactives et générer par-là un stress. En faisant partie intégrante du réseau limbique impliqué dans la gestion des émotions, le système olfactif confère aux odeurs une charge émotionnelle importante. Tandis que les odeurs agréables sont largement utilisées en pratique pour réduire le stress et procurer un état de bien-être (aromathérapie, diffuseurs d'odeur...), les odeurs désagréables quant à elles pourraient induire des émotions négatives et générer un stress (Horii *et al.*, 2010). Effectivement, des personnes exposées à des nuisances olfactives se sentent plus stressées (Carlsson *et al.*, 2006).

4. 3. Altérations de la neurogenèse du bulbe olfactif, quelles conséquences ?

La neurogenèse est un mécanisme essentiel à la fonction olfactive. Lors d'un apport exogène chronique de corticostérone, l'apport en nouveaux neurones est réduit de moitié (Siopi *et al.*, 2016), induisant inévitablement des troubles importants de la fonction olfactive. En effet, cette même étude rapporte une altération de l'acuité olfactive, de la détection, de la discrimination et de la mémorisation, qui peuvent être restaurées, en parallèle de la neurogenèse (Hitoshi *et al.*, 2007 ; Oomen *et al.*, 2007), par un traitement pharmacologique réduisant le stress.

Ces altérations peuvent avoir des conséquences dramatiques sur notre organisme en altérant profondément les interactions sociales (perception des parfums, odeurs corporelles), ainsi que notre qualité de vie (Croy *et al.*, 2014), en perturbant les émotions et souvenirs qu'une odeur peut évoquer, mais aussi la reconnaissance et l'appréciation de la nourriture. En conséquence, les déficits olfactifs engendrés par la baisse de neurogenèse induite par le stress et/ou la pollution affecteraient notre santé en provoquant des troubles de la prise alimentaire, des syndromes dépressifs et une incapacité d'adaptation comportementale face à une situation d'urgence (feu, fuite de gaz, par exemple). À l'inverse, un système olfactif défaillant accroît les niveaux de stress (Glinka *et al.*, 2012), suggérant que les déficits olfactifs induits par le stress et/ou la pollution, peuvent en retour conduire à un état de stress chronique. L'état de stress s'aggraverait au fil du temps et, en conséquence, l'altération de la neurogenèse, augmentant à terme les facteurs de risque des troubles psychotiques tels que la schizophrénie (Walker *et al.*, 2008), de la dépression (Van Praag, 2004) et des maladies neurodégénératives (Esch *et al.*, 2002).

Conclusion, traitements et stratégies de prévention

La neurogenèse adulte nous offre de surprenantes capacités de traitement de l'information olfactive, nous permettant ainsi d'évoluer dans un environnement très riche sur le plan sensoriel. Mais cette plasticité « hors du commun » est vulnérable et est aisément perturbée par le stress et la pollution qui nous entourent.

Les niveaux de pollution (OMS, 2016) et de stress (Cohen *et al.*, 2012) étant actuellement en hausse dans nos sociétés, il est important de déployer des stratégies de remédiation pour prévenir, voire compenser ou restaurer, l'altération de la neurogenèse qui en résulte. Des traitements pharmacologiques tels que les antidépresseurs ont révélé des effets bénéfiques sur la neurogenèse. Ils la stimulent chez les rats naïfs (Malberg *et al.*, 2000), la restaurent après l'induction d'un stress chronique (Siopi *et al.*, 2016) et pourrait ainsi limiter voire inverser les dommages causés par le stress. Les anti-inflammatoires et antioxydants ont également fait leurs preuves dans la préservation de la neurogenèse (Herrera *et al.*, 2003 ; Monje *et al.*, 2003).

Outre les approches médicamenteuses, des alternatives plus écologiques existent pour réduire le stress et restaurer la neurogenèse, telles que des épisodes de marche dans la nature (Tyrvaïnen *et al.*, 2014) et la diffusion d'odeurs. Nous savons aujourd'hui qu'une exposition journalière à une odeur plaisante diminue le stress (Joussain *et al.*, 2014) et que la neurogenèse peut être régulée positivement par des enrichissements olfactifs (Moreno *et al.*, 2009 ; Rey *et al.*, 2012 ; Rochefort *et al.*, 2002). La diffusion répétée d'odeurs plaisantes dans notre environnement pourrait permettre de pallier la réduction de la neurogenèse médiée par le stress et la pollution. En particulier, les odeurs dites « vertes », qui émanent des feuilles des plantes, sont connues pour réduire le stress (Nakashima *et al.*, 2004) et pourraient expliquer la diminution du stress perçu lors d'épisodes de marche dans la nature (Tyrvaïnen *et al.*, 2014).

Références bibliographiques

Alonso M., Lepousez G., Sebastien W. *et al.*, 2012 : Activation of adult-born neurons facilitates learning and memory. *Nat Neurosci*, 15, 897-904.

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.

Bauer S., Moyse E., Jourdan F. *et al.*, 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.

Berkenbosch F., Van Oers J., Del Rey A. *et al.*, 1987 : Corticotropin-releasing factor-producing neurons in the rat activated by interleukin-1. *Science*, 238, 524-526.

Bryant C., Jackson H., Ames D., 2008 : The prevalence of anxiety in older adults : methodological issues and a review of the literature. *J Affect Disord*, 109, 233-250.

Calderon-Garciduenas L., Franco-Lira M., Mora-Tiscareno A. *et al.*, 2013 : Early Alzheimer's and Parkinson's disease pathology in urban children : Friend versus Foe responses--it is time to face the evidence. *Biomed Res Int*, 2013, 161687.

Calderon-Garciduenas L., Maronpot R., Torres-Jardon R. *et al.*, 2003 : DNA damage in nasal and brain tissues of canines exposed to air pollutants is associated with evidence of chronic brain inflammation and neurodegeneration. *Toxicol Pathol*, 31, 524-538.

Calderon-Garciduenas L., Reed W., Maronpot R., *et al.*, 2004 : Brain inflammation and Alzheimer's-like pathology in individuals exposed to severe air pollution. *Toxicol Pathol*, 32, 650-658.

Calderon-Garciduenas L., Solt A.C., Henriquez-Roldan C., *et al.*, 2008 : Long-term air pollution exposure is associated with neuroinflammation, an altered innate immune response, disruption of the blood-brain barrier, ultrafine particulate deposition, and accumulation of amyloid beta-42 and alpha-synuclein in children and young adults. *Toxicol Pathol*, 36, 289-310.

Calderon-Garciduenas L., Villarreal-Rios R., 2017 : Living close to heavy traffic roads, air pollution, and dementia. *Lancet*.

Carlsson F., Persson R., Karlson B., *et al.*, 2006 : Salivary cortisol and self-reported stress among persons with environmental annoyance. *Scand J Work Environ Health*, 32, 109-120.

Carrasco G.A., Van De Kar L.D., 2003 : Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol*, 463, 235-272.

Chen H., Kwong J.C., Copes R., *et al.*, 2017 : Living near major roads and the incidence of dementia, Parkinson's disease, and multiple sclerosis : a population-based cohort study. *Lancet*.

Chrousos G.P., Gold P.W., 1992 : The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*, 267, 1244-1252.

Cohen S., Janicki-Deverts D., Doyle W.J., *et al.*, 2012 : Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109, 5995-5999.

Costa L.G., Cole T.B., Coburn J., *et al.*, 2015 : Neurotoxicity of traffic-related air pollution. *Neurotoxicology*.

Croy I., Nordin S., Hummel T., 2014 : Olfactory disorders and quality of life--an updated review. *Chem Senses*, 39, 185-194.

Daroles L., Gribaudo S., Doulazmi M., *et al.*, 2016 : Fragile X Mental Retardation Protein and Dendritic Local Translation of the Alpha Subunit of the Calcium/Calmodulin-Dependent Kinase II Messenger RNA Are Required for the Structural Plasticity Underlying Olfactory Learning. *Biol Psychiatry*, 80, 149-159.

- David D.J., Samuels B.A., Rainer Q., *et al.*, 2009 : Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron*, 62, 479-493.
- Esch T., Stefano G.B., Fricchione G.L., *et al.*, 2002 : The role of stress in neurodegenerative diseases and mental disorders. *Neuro Endocrinol Lett*, 23, 199-208.
- Fonken L.K., Xu X., Weil Z.M., *et al.*, 2011 : Air pollution impairs cognition, provokes depressive-like behaviors and alters hippocampal cytokine expression and morphology. *Mol Psychiatry*, 16, 987-995, 973.
- Genc S., Zadeoglulari Z., Fuss S.H., *et al.*, 2012 : The adverse effects of air pollution on the nervous system. *J Toxicol*, 2012, 782462.
- Glinka M.E., Samuels B.A., Diodato A., *et al.*, 2012 : Olfactory deficits cause anxiety-like behaviors in mice. *J Neurosci*, 32, 6718-6725.
- Guo J., Yu C., Li H., *et al.*, 2010 : Impaired neural stem/progenitor cell proliferation in streptozotocin-induced and spontaneous diabetic mice. *Neurosci Res*, 68, 329-336.
- Herrera D.G., Yague A.G., Johnsen-Soriano S., *et al.*, 2003 : Selective impairment of hippocampal neurogenesis by chronic alcoholism : protective effects of an antioxidant. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 7919-7924.
- Hitoshi S., Maruta N., Higashi M., *et al.*, 2007 : Antidepressant drugs reverse the loss of adult neural stem cells following chronic stress. *J Neurosci Res*, 85, 3574-3585.
- Horii Y., Nikaido Y., Nagai K., *et al.*, 2010 : Exposure to TMT odor affects adrenal sympathetic nerve activity and behavioral consequences in rats. *Behav Brain Res*, 214, 317-322.
- Imayoshi I., Sakamoto M., Ohtsuka T., *et al.*, 2008 : Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neurosci*, 11, 1153-1161.
- Joussain P., Rouby C., Bensafi M., 2014 : A pleasant familiar odor influences perceived stress and peripheral nervous system activity during normal aging. *Front Psychol*, 5, 113.
- Lau W.M., Qiu G., Helmeste D.M., *et al.*, 2007 : Corticosteroid decreases subventricular zone cell proliferation, which could be reversed by paroxetine. *Restor Neurol Neurosci*, 25, 17-23.
- Lazarini F., Mouthon M.A., Gheusi G., *et al.*, 2009 : Cellular and behavioral effects of cranial irradiation of the subventricular zone in adult mice. *PLoS One*, 4, e7017.
- Lehmann M.L., Mustafa T., Eiden A.M., *et al.*, 2013 : PACAP-deficient mice show attenuated corticosterone secretion and fail to develop depressive behavior during chronic social defeat stress. *Psychoneuroendocrinology*, 38, 702-715.
- Lepousez G., Nissant A., Bryant A.K., *et al.*, 2014 : Olfactory learning promotes input-specific synaptic plasticity in adult-born neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111, 13984-13989.
- Lledo P.M., Valley M., 2016 : Adult Olfactory Bulb Neurogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 8.
- Mak G.K., Enwere E.K., Gregg C., *et al.*, 2007 : Male pheromone-stimulated neurogenesis in the adult female brain : possible role in mating behavior. *Nat Neurosci*, 10, 1003-1011.
- Malberg J.E., Eisch A.J., Nestler E.J., *et al.*, 2000 : Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci*, 20, 9104-9110.
- Mandairon N., Sacquet J., Garcia S., *et al.*, 2006a : Neurogenic correlates of an olfactory discrimination task in the adult olfactory bulb. *Eur J Neurosci*, 24, 3578-3588.

Mandaïron N., Sacquet J., Jourdan F., *et al.*, 2006b : Long-term fate and distribution of newborn cells in the adult mouse olfactory bulb : Influences of olfactory deprivation. *Neuroscience*, 141, 443-451.

Mandaïron N., Stack C., Kiselycznyk C., *et al.*, 2006c : Broad activation of the olfactory bulb produces long-lasting changes in odor perception. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 13543-13548.

Mcewen B.S., Stellar E., 1993 : Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Arch Intern Med*, 153, 2093-2101.

Miller G.E., Chen E., Zhou E.S., 2007 : If it goes up, must it come down ? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychol Bull*, 133, 25-45.

Mirescu C., Gould E., 2006 : Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus*, 16, 233-238.

Mizoguchi K., Shoji H., Ikeda R., *et al.*, 2008 : Persistent depressive state after chronic stress in rats is accompanied by HPA axis dysregulation and reduced prefrontal dopaminergic neurotransmission. *Pharmacol Biochem Behav*, 91, 170-175.

Mobley A.S., Rodriguez-Gil D.J., Imamura F., *et al.*, 2014 : Aging in the olfactory system. *Trends Neurosci*, 37, 77-84.

Monje M.L., Toda H., Palmer T.D., 2003 : Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science*, 302, 1760-1765.

Moreno M.M., Linster C., Escanilla O., *et al.*, 2009 : Olfactory perceptual learning requires adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, 17980-17985.

Morimoto M., Morita N., Ozawa H., *et al.*, 1996 : Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain : an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neurosci Res*, 26, 235-269.

Nakashima T., Akamatsu M., Hatanaka A., *et al.*, 2004 : Attenuation of stress-induced elevations in plasma ACTH level and body temperature in rats by green odor. *Physiol Behav*, 80, 481-488.

Nissant A., Bardy C., Katagiri H., *et al.*, 2009 : Adult neurogenesis promotes synaptic plasticity in the olfactory bulb. *Nat Neurosci*, 12, 728-730.

Oberdorster G., Sharp Z., Atudorei V., *et al.*, 2004 : Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol*, 16, 437-445.

Oomen C.A., Mayer J.L., De Kloet E.R., *et al.*, 2007 : Brief treatment with the glucocorticoid receptor antagonist mifepristone normalizes the reduction in neurogenesis after chronic stress. *Eur J Neurosci*, 26, 3395-3401.

Raff H., Tzankoff S.P., Fitzgerald R.S., 1981 : ACTH and cortisol responses to hypoxia in dogs. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 51, 1257-1260.

Rey N.L., Sacquet J., Veyrac A., *et al.*, 2012 : Behavioral and cellular markers of olfactory aging and their response to enrichment. *Neurobiol Aging*, 33, 626 e9-626 e23.

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.

Rochefort C., Gheusi G., Vincent J.D., *et al.*, 2002 : Enriched odor exposure increases the number of newborn neurons in the adult olfactory bulb and improves odor memory. *J Neurosci*, 22, 2679-2689.

Shingo T., Gregg C., Enwere E., *et al.*, 2003 : Pregnancy-stimulated neurogenesis in the adult female forebrain mediated by prolactin. *Science*, 299, 117-120.

Siopi E., Denizet M., Gabellec M.M., *et al.*, 2016 : Anxiety- and Depression-Like States Lead to Pronounced Olfactory Deficits and Impaired Adult Neurogenesis in Mice. *J Neurosci*, 36, 518-531.

Sirivelu M.P., Mohankumar S.M., Wagner J.G., *et al.*, 2006 : Activation of the stress axis and neurochemical alterations in specific brain areas by concentrated ambient particle exposure with concomitant allergic airway disease. *Environ Health Perspect*, 114, 870-874.

Smith S.M., Vale W.W., 2006 : The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci*, 8, 383-395.

Sultan S., Mandairon N., Kermen F., *et al.*, 2010 : Learning-dependent neurogenesis in the olfactory bulb determines long-term olfactory memory. *FASEB J*, 24, 2355-2363.

Sultan S., Rey N., Sacquet J., *et al.*, 2011 : Newborn neurons in the olfactory bulb selected for long-term survival through olfactory learning are prematurely suppressed when the olfactory memory is erased. *J Neurosci*, 31, 14893-14898.

Tin Tin Win S., Mitsushima D., Yamamoto S., *et al.*, 2008 : Changes in neurotransmitter levels and proinflammatory cytokine mRNA expressions in the mice olfactory bulb following nanoparticle exposure. *Toxicol Appl Pharmacol*, 226, 192-198.

Tjalve H., Henriksson J., 1999 : Uptake of metals in the brain via olfactory pathways. *Neurotoxicology*, 20, 181-195.

Tomei F., Rosati M.V., Ciarrocca M., *et al.*, 2003 : Plasma cortisol levels and workers exposed to urban pollutants. *Ind Health*, 41, 320-326.

Tyrvaainen L., Ojala A., Korpela K., *et al.*, 2014 : The influence of urban green environments on stress relief measures : A field experiment. *Journal of Environmental Psychology*, 38, 1-9.

Van Cauter E., Leproult R., Kupfer D.J., 1996 : Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *J Clin Endocrinol Metab*, 81, 2468-2473.

Van Praag H.M., 2004 : Can stress cause depression ? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 28, 891-907.

Walker E., Mittal V., Tessner K., 2008 : Stress and the hypothalamic pituitary adrenal axis in the developmental course of schizophrenia. *Annu Rev Clin Psychol*, 4, 189-216.

Winner B., Cooper-Kuhn C.M., Aigner R., *et al.*, 2002 : Long-term survival and cell death of newly generated neurons in the adult rat olfactory bulb. *Eur J Neurosci*, 16, 1681-1689.