



HAL
open science

Les crises audiogènes réflexes : une voie d'entrée dans la compréhension des mécanismes de développement et de fonctionnement des voies rétro-cochléaires

Mathilde Gagliardini

► To cite this version:

Mathilde Gagliardini. Les crises audiogènes réflexes : une voie d'entrée dans la compréhension des mécanismes de développement et de fonctionnement des voies rétro-cochléaires. Neurobiologie. Sorbonne Université, 2021. Français. NNT : 2021SORUS122 . tel-04209085

HAL Id: tel-04209085

<https://theses.hal.science/tel-04209085>

Submitted on 16 Sep 2023

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Sorbonne Université

École doctorale « Complexité du vivant »

Plasticité des circuits auditifs centraux / Institut de l'Audition

**Les crises audiogènes réflexes : une voie d'entrée dans la
compréhension des mécanismes de développement et de
fonctionnement des voies rétro-cochléaires**

(Confidentiel)

Par Mathilde Gagliardini

Thèse de doctorat de neurobiologie et biologie du développement

Dirigée par Christine Petit et Nicolas Michalski

Présentée et soutenue publiquement le 15 Septembre 2021

Devant un jury composé de :

Emmanuelle MOUCHEL-VIELH

Directrice de recherche Sorbonne Université (IBPS, Paris)

Présidente

Mathieu BERANECK

Directeur de recherche CNRS (Centre de Neurosciences Intégratives & Cognition, Université de Paris)

Rapporteur 1

Olivier MACHEREY

Chargé de recherche CNRS (Laboratoire de mécanique et d'acoustique, Marseille)

Rapporteur 2

Mireille MONTCOUQUIOL

Directrice de recherche INSERM (Neurocentre Magendie, Bordeaux)

Examinatrice

Christine METIN

Directrice de recherche (Institut du Fer à Moulin, Paris)

Examinatrice invitée

Christine PETIT

Professeur au Collège de France (Institut de l'Audition, Paris)

co-Directrice de thèse

Nicolas MICHALSKI

Chargé de recherche Pasteur (Institut de l'Audition, Paris)

Directeur de thèse

Sorbonne Université

École doctorale « Complexité du vivant »

Plasticité des circuits auditifs centraux / Institut de l'Audition

**Les crises audiogènes réflexes : une voie d'entrée dans la
compréhension des mécanismes de développement et de
fonctionnement des voies rétro-cochléaires**

(Confidentiel)

Par Mathilde Gagliardini

Thèse de doctorat de neurobiologie et biologie du développement

Dirigée par Christine Petit et Nicolas Michalski

Présentée et soutenue publiquement le 15 Septembre 2021

Devant un jury composé de :

Emmanuelle MOUCHEL-VIELH

Directrice de recherche Sorbonne Université (IBPS, Paris)

Présidente

Mathieu BERANECK

Directeur de recherche CNRS (Centre de Neurosciences Intégratives & Cognition, Université de Paris)

Rapporteur 1

Olivier MACHEREY

Chargé de recherche CNRS (Laboratoire de mécanique et d'acoustique, Marseille)

Rapporteur 2

Mireille MONTCOUQUIOL

Directrice de recherche INSERM (Neurocentre Magendie, Bordeaux)

Examinatrice

Christine METIN

Directrice de recherche (Institut du Fer à Moulin, Paris)

Examinatrice invitée

Christine PETIT

Professeur au Collège de France (Institut de l'Audition, Paris)

co-Directrice de thèse

Nicolas MICHALSKI

Chargé de recherche Pasteur (Institut de l'Audition, Paris)

Directeur de thèse



Except where otherwise noted, this work is licensed under
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

Sans la curiosité de l'esprit, que serions-nous ? Telle est bien la beauté et la noblesse de la science : désir sans fin de repousser les frontières du savoir, de traquer les secrets de la matière et de la vie sans idée préconçue des conséquences éventuelles.

Marie Curie

Remerciements

Je remercie Nicolas Michalski pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'être mon directeur de thèse, mais aussi pour son encadrement, sa disponibilité et sa patience. Je remercie également la Pr. Christine Petit pour m'avoir accueillie dans son laboratoire, avoir été ma co-directrice de thèse et m'avoir accordé toute sa confiance. Je les remercie tous deux de m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse sur l'audition, sujet passionnant et qui me touche particulièrement.

Je remercie les membres du jury et du comité de thèse d'avoir accepté de suivre et d'évaluer mon travail de thèse : Emmanuelle Mouchel-Vielh (IBPS, Paris), Mathieu Beraneck (Centre de Neurosciences Intégratives & Cognition, Université de Paris), Olivier Macherey, (Laboratoire de mécanique et d'acoustique, Marseille), Mireille Montcouquiol (Neurocentre Magendie, Bordeaux), Christine Métin (Institut du Fer à Moulin, Paris) et Marc Lecuit (Institut Pasteur, Paris).

Je tiens à remercier chaleureusement Elisabeth Verpy, pionnière des fameuses protéines étudiées, qui m'a transmis ses connaissances, qui s'est toujours rendue disponible face à mes multiples questionnements, avec une grande bienveillance. J'espère avoir fait honneur à son travail en le poursuivant hors des sentiers battus de la cochlée.

Je remercie Baptiste Libé-Philippot qui m'a initiée dès mon arrivée, qui m'a transmis toutes ses connaissances aussi bien techniques que scientifiques et qui m'a fait découvrir en détail les merveilles du cortex auditif, Sedigheh Delmaghani pour qui la cochlée n'a plus de secrets et qui a eu la patience de me former à la microdissection des cochlées et aux immunologies cochléaires. Merci pour son écoute, ses conseils et sa grande gentillesse.

J'adresse toute ma gratitude à Paul Avan et Fabrice Giraudet (Université d'Auvergne) pour les mesures auditives de nos souris, nos riches échanges et nos trouvailles scientifiques.

Je remercie chaleureusement mes collègues : Monica pour sa curiosité scientifique et ses remarques toujours très justes, mais aussi pour tous nos précieux moments partagés et son soutien moral, Typhaine pour son aide précieuse, les expéditions commandos dans les animaleries mais aussi pour nos discussions qui n'ont rien à voir avec la science (!), Philippe pour son expertise sur les fibres auditives, sa patience, son humour cynique et ses corrections de ce manuscrit de thèse, Olivier pour les enregistrements électrophysiologiques et les débats houleux de l'actualité, Boris, nos discussions scientifiques et ses blagues, Warren qui vogue vers de nouveaux horizons, Baptiste P. pour les montages des premières cochlées lorsque j'étais encore novice, Amrit pour son aide technique dans nos multiples projets, Vincent pour m'avoir formée aux joies du microscope confocal.

Je salue les doctorants de l'IDA : Carla Barbosa Spinola, Carolina De Campos Pina, Camille Dejean (qui viennent de commencer leur thèse dans notre équipe, la relève est assurée !), Maureen Wentling et sa bonne humeur inépuisable mais aussi les anciens, Charlotte Calvet pour ses conseils (aussi bien scientifiques que non-scientifiques !), son oreille toujours attentive et nos voyages au Maroc et aux USA, Ghizlène Lahlou et sa gentillesse, Pranav Patni et ses bons petits plats.

Je tiens à remercier les autres membres du laboratoire pour leur générosité, leurs aides ponctuelles, leurs conseils et nos échanges : Michèle Barillot et sa discrétion, Victor Benichoux

et nos séances piscine « dans le bonheur », Maïa Brunstein et son aide précieuse en microscopie/imagerie, Evelyne Castanié et son aide pour les démarches administratives, Aziz El-Amraoui et ses talents de guide à Marrakech, Raphaël Etournay et sa grande gentillesse, Marie Giorgi et ses corgis, Céline Lair et son aide pour la dernière ligne droite, Gaëlle Lefèvre et les come-backs autour d'un verre, Sébastien Le Gal, également pour nos séances piscine « dans le bonheur », Andréa Lelli et son délicieux tempérament italien, Diana Minnoci et son grand sourire lumineux, Sylvie Nouaille pour sa bonne humeur, Danuta Oficjalska pour son investissement administratif, Isabelle Perfettini et son aide pour les anticorps, Emeline Prandato et son implication dans le démarrage de nos projets à l'IDA, Jean-Luc Ruffinel et son aide informatique, Saaid Safieddine et sa sympathie, Joanna et ses injections du nerf facial, Marie Strigalev et nos débuts ensemble dans ce labo, Céline Trébeau et son rire tonitruant, Fabienne Wong Jun Tai et les passions qu'elle partage avec nous. Une pensée émue pour Danica, à l'oreille attentive et à la bonne humeur inépuisable, qui nous a quittés.

Je remercie l'animalerie centrale, le service vétérinaire de l'Institut Pasteur, le personnel des animaleries de l'IDA, Monod, Lwoff sans qui nous n'aurions pas pu travailler dans d'aussi bonnes conditions.

Sur un plan plus personnel, je tiens à remercier mes amis qui ont rendu ces années de thèse plus légères et insouciantes :

- Les Filles du Calvaire (Amandine, Camille, Laurène, Marion et Morane) que les milliers de kilomètres qui nous séparent n'ont pas réussi à assagir,
- La bande de sourdingues et nos mémorables aventures (Alix, Anaïs, Anès, Estelle, François B., Guillaume, Hélène, Miléna, Nicolas, Pierre-Louis et Vincent),
- Les amis de l'Agro (je vous revois encore, comme si c'était hier, découvrir la vie grignonnaise),
- Les amis de prépa avec qui nous avons partagé les galères mais aussi les joies de l'internat,
- Mathilde et Lénaïc pour nos longues années d'amitié.

J'adresse une pensée émue à Christine qui a suivi mes premiers pas depuis la maternelle jusqu'à cette thèse !

Un merci particulier à François, pour tous nos moments de complicité, pour avoir pris soin de moi. Avec son soutien sans faille, l'avoir à mes côtés a été précieux pendant ces années.

Je ne remercierai jamais assez ma famille :

- Mes parents qui ont toujours remué ciel et terre pour que je puisse suivre une scolarité dans les meilleures conditions et qui m'ont toujours fait confiance dans mes choix de vie,
- Mes frères, Thibault et Justin, rejoints par Nathalie et maintenant Hugo, qui, malgré nos éloignements respectifs sont toujours restés très proches de moi,
- Mes grands-parents qui m'ont toujours accueillie avec beaucoup d'affection et de tendresse.
- Les autres membres de la famille et amis qui m'ont encouragée et suivie toutes ces années (la liste serait trop longue à citer !).

A vous tous, Merci.

Table des matières

Remerciements	V
Table des matières.....	VII
Abréviations	X
Index des figures et tableaux.....	XII
Préambule.....	XIV
Introduction.....	1
1. Développement de l'audition.....	3
1.1. Anatomie de l'oreille	3
1.1.1. Oreille externe	4
1.1.2. Oreille moyenne	4
1.1.3. Oreille interne.....	5
1.2. Fonctionnement de la cochlée	6
1.2.1. La membrane basilaire et la tonotopie de la cochlée.....	6
1.2.2. L'organe de Corti.....	7
1.2.3. La transduction mécano-électrique	10
1.3. Les composants moléculaires impliqués dans la transduction mécano-électrique	13
1.3.1. Le lien de bout de cil (tip link)	14
1.3.2. Les connecteurs supérieurs horizontaux.....	16
1.3.3. Les liens basaux (ankle link)	18
1.3.4. Les liens kino-stéréocils.....	20
1.3.5. Les liens transitoires latéraux	20
1.3.6. Les liens connecteurs (shaft connectors).....	21
1.4. L'innervation afférente des IHCs et des OHCs	21
2. Traitements centraux de l'information auditive	24
2.1. Anatomie du système auditif central.....	24
2.1.1. Les relais corticaux du tronc cérébral.....	24
2.1.2. Le thalamus	32
2.2. Le cortex auditif	34
2.2.1. Description anatomique du cortex auditif.....	34
2.2.2. Description anatomique du cortex auditif et de ses populations neuronales.....	36
2.3. Les crises audiogènes et le développement neuronal.....	46
3. Les surdités	49
3.1. Les différentes catégories de surdité.....	49
3.1.1. Les surdités de transmission	50
3.1.2. Les surdités neurosensorielles	50
3.1.3. Les surdités génétiques	51
4. Les crises audiogènes.....	54
4.1. La découverte des crises audiogènes.....	54

4.2.	Les facteurs déclencheurs des crises audiogènes	55
4.3.	Génétique des crises audiogènes chez l'animal.....	56
4.4.	La perte auditive et la susceptibilité aux crises audiogènes.....	57
4.5.	Les structures et populations neuronales impliquées dans les crises audiogènes	58
4.5.1.	Un défaut des neurones GABAergiques.....	59
4.5.2.	Le colliculus inférieur	60
4.5.3.	Le tronc cérébral	61
5.	Un double rôle des gènes provoquant une surdité en périphérique et en central	63
5.1.	Otogl, Otog et Strc, des protéines d'intérêt	64
5.1.1.	Stéréociline.....	64
5.1.2.	Otogéline et otogéline-like	65
	Matériels et méthodes.....	71
	Animaux.....	73
	Génotypage.....	73
	Stimulations sonores.....	74
	Tests auditifs fonctionnels	75
	Préparation des tissus.....	77
	Microscopie.....	82
	Quantification des marquages sur tranches histologiques.....	83
	Extraction d'ARN et RT-PCR.....	83
	Hybridation in situ par la technique de RNAscope.....	84
	Analyses statistiques.....	86
	Résultats	87
1.	Les souris mutantes pour les gènes codant otogéline-like, otogéline et la stéréociline présentent de fortes prédispositions aux crises audiogènes : une atteinte des voies centrales auditives en plus de l'atteinte cochléaire ?	89
2.	Les souris Otogl ^{-/-} n'ont pas de défaut majeur d'inhibition dans le cortex auditif.....	95
3.	La souris POtogl-cre, un nouvel outil de traçage pour étudier les types cellulaires exprimant Otogl dans la cochlée et le cerveau.....	97
4.	Otogl est préférentiellement exprimé par l'un des trois sous-types de SGNs de type 1 qui ont été définis.....	105
5.	Quel type cellulaire reçoit les fibres exprimant Otogl dans les noyaux cochléaires ?.....	110
6.	L'étude fonctionnelle des souris mutantes Otogl ^{+/-} a révélé des défauts fonctionnels des fibres à haut seuil	112
	Discussion et perspectives	119
1.	La susceptibilité aux crises audiogènes, un phénotype révélateur d'un déficit auditif central...	121

2. Quels sont les défauts anatomiques et fonctionnels du cortex auditif chez les souris mutantes <i>Otogl</i> ^{+/-} ?	124
3. Une expression d' <i>Otogl</i> dans les voies auditives rétro-cochléaires	125
3.1. L'expression de la tdTomato sous le contrôle du promoteur <i>Otogl</i> révèle l'implication de la voie rétro-cochléaire.....	125
3.2. <i>Otogl</i> est exprimée dans de nombreuses structures cochléaires.....	126
3.3. Caractérisation du sous-type de SGN exprimant <i>Otogl</i>	128
4. Quels types cellulaires reçoivent les fibres exprimant <i>Otogl</i> dans les noyaux cochléaires ?	131
5. Les fibres à haut seuil des souris <i>Otogl</i> ^{+/-} présentent des défauts fonctionnels.....	132
6. Perspectives : les crises audiogènes existent elles chez l'homme ?.....	136
Références.....	139

Abréviations

J'ai pris le parti de privilégier les abréviations anglaises. Dans cette table, est indiquée pour chaque abréviation sa signification en français, et en anglais quand il y a lieu.

Ac	anticorps
ABR	potentiels évoqués auditifs (<i>auditory brainstem response</i>)
AC	cortex auditif (<i>auditory cortex</i>)
ADGRV1	adhésion G protein-coupled receptor V1
ADN	acide désoxyribonucléique
AMPA	alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionate
ARN	acide ribonucléique
AS	crise audiogène (<i>audiogenic seizure</i>)
AVCN	noyau cochléaire antéro-ventral (<i>antero ventral cochlear nucleus</i>)
Ca ²⁺	calcium
CAE	conduit auditif externe
Cav1.3	canaux calciques de type L voltage dépendants
<i>CDHR23</i>	gène codant pour la cadhérine 23
<i>CDHR15</i>	gène codant pour la cadhérine 15
CHARGE	acronyme anglais de Coloboma, Heart defect, Atresia choanae, Retarded growth and development, Genital hypoplasia, Ear anomalies/deafness
CP	Noyau caudé (<i>Caudate putamen</i>)
CtBP2	C-terminal binding protein 2
CTCK	Domaine C-terminal de cystéine (<i>C-Terminal Cystine Knot domain</i>)
DAPI	4',6'-diamidino-2-phénylindole
dB	décibel
DCN	noyau cochléaire dorsal (<i>dorsal cochlear nucleus</i>)
Del	délétion
DFNA	surdité isolée transmise sur le mode autosomique dominant
DFNB	surdité isolée transmise sur le mode autosomique récessif
DNLL	noyau dorsal du lemnisque latéral (<i>dorsal nucleus of the lateral lemniscus</i>)
DPOAE	produits de distorsion acoustique (<i>distortion product otoacoustic emissions</i>)
EDTA	Éthylènediaminetétraacétique
EPSP	potentiel excitateur post-synaptique (<i>excitatory post-synaptic potential</i>)
Ex	jour embryonnaire n° X (<i>embryonic day x</i>)
GABA	acide gamma-aminobutyrique
GAD65/67	décarboxylases de l'acide glutamique-65/67 (<i>glutamic acid decarboxylase-65/67</i>)
GEPRs	(<i>Genetically Epilepsy Prone Rat</i>)
GFP	green fluorescent protein
GluR2	Sous unité 2 du récepteur au glutamate
Gipc3	GIPC PDZ domain containing family, member 3
GPR98 ou VLGR1	récepteur 98 couplé aux protéines G
Hz :	Hertz
IB	bouffée intrinsèque (<i>intrinsic bursting</i>)
IC	colliculus inférieur (<i>inferior colliculus</i>)
IHC	cellule ciliée interne (<i>inner hair cell</i>)
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
K ⁺	potassium
kDa	kilo Dalton
kHz	kilohertz
KI	<i>knock-in</i>
KO	<i>knock-out</i>
LSO	complexe olivaire supérieur latéral (<i>lateral superior olive</i>)
MEMR	réflexe du muscle stapédien (<i>middle ear muscle reflex</i>)
MET	transduction mécano-électrique (<i>mechano-electrical transduction</i>)

MGB	corps géniculé medial (<i>medial geniculate body</i>)
mM	milliMolaire
MNTB	noyau médian du corps trapézoïde (<i>medial nucleus of the trapezoid body</i>)
MSO	complexe olivaire supérieur médian (<i>medial superior olivary nuclei</i>)
mV	milliVolt
Na ⁺	sodium
NaCl	Chlorure de Sodium
OHC	cellule ciliée externe (<i>outer hair cell</i>)
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
<i>OTOG</i>	gène codant pour la protéine OTOGELIN
<i>OTOGL</i>	gène codant pour la protéine OTOGELIN-LIKE
PA	potentiel d'action
PBS	<i>phosphate buffered saline</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PFA	paraformaldéhyde
PTPRQ	Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type Q
PVCN	noyau cochléaire postéro-ventral (<i>postero-ventral cochlear nucleus</i>)
Px	jour post-natal n° X (<i>post-natal day x</i>)
R-ABR	ABR ré-émergents
RS	décharge régulière (<i>regular spiking</i>)
SANS	<i>scaffold ankyrin and sterile alpha motif-containing protein</i>
<i>SANS ou USH1G :</i>	gène codant pour SANS
SEM	erreur standard de la moyenne (<i>standard error of the mean</i>)
SGN	neurone du ganglion spiral (<i>spiral ganglion neuron</i>)
SNC	système nerveux central
SOC	complexe olivaire supérieur (<i>superior olivary complex</i>)
SPL	pression acoustique (<i>sound pressure level</i>)
TAE	Tris, Acétate, EDTA
Td-tomato	protéine fluorescente rouge
TM	domaine transmembranaire
TMC1/2	<i>transmembrane channel-like proteins 1/2</i>
TMHS	tetraspan membrane protein of hair cell stereocilia (encore appelé LHFPL5)
TMIE	transmembrane inner ear
USH	Syndrome d'Usher
VCLL	noyau ventral du lemnisque latéral (<i>ventral nucleus of the lateral lemniscus</i>)
VGLUT	transporteur vésiculaire du glutamate
<i>WHRN</i>	gène codant pour la WHIRLINE

Index des figures et tableaux

Figure 1 : Schéma de l'oreille humaine.	4
Figure 2 : propagation de l'onde sonore dans la cochlée.....	6
Figure 3 : Représentation de la cochlée et de l'organe de Corti.	8
Figure 4 : Organisation des stéréocils de la touffe ciliaire dans la cochlée de mammifère.	10
Figure 5 : La transduction mécano-électrique dans les cellules ciliées externes.....	12
Figure 6 : Le déroulement de la machinerie de transduction mécano-électrique.	13
Figure 7 : Les protéines participant à la cohésion de la touffe ciliaire.	14
Figure 8 : Les deux homodimères Cdhr15 et Cdhr23 en un même lien apical qui relie les stéréocils de la petite rangée à la rangée moyenne et de la rangée moyenne à la rangée supérieure (Fettiplace 2017).....	15
Figure 9 : Illustration des liens entre stéréocils des OHCs appelés « top connecteurs » à différents stades de développement. (Richard J. Goodyear et al. 2005).....	17
Figure 10 : Stéréociline, Otogéline et Otogéline-like sont des composants essentiels des connecteurs supérieurs, liens interstéréociliaires des OHCs (Avan et al. 2019).....	18
Figure 11 : Innervation des cellules ciliées de la cochlée mature.	23
Figure 12 : Propriétés synaptiques d'une cellule ciliée interne et de ses fibres associées.	26
Figure 13 : Schéma des neurones ganglionnaires spiraux avec leurs terminaisons centrales et périphériques.	27
Figure 14 : Organisation tonotopique des premiers relais de la voie auditive.	31
Figure 15 : Organisation des voies auditives centrales.	34
Figure 16 : Modèle d'organisation hiérarchiques des aires chez le macaque et le chat.....	35
Figure 17 : Cartographie des réseaux neuronaux.....	36
Figure 18 : Organisation du cortex en couches corticales et selon les populations neuronales.	37
Figure 19 : La densité neuronale et l'épaisseur corticale des couches varient en fonction de l'aire et de sa localisation. (Rhawn Joseph, 2000).....	38
Figure 20 : Représentation d'un neurone exciteur pyramidal.	39
Figure 21 : Différentes classifications des interneurones.	41
Figure 22 : Différentes catégories d'interneurones basées sur l'expression de marqueurs génétiques.	43
Figure 23 : Les interneurones possèdent plusieurs motifs de décharge.....	45
Figure 24 : Les interneurones sont classés en différentes catégories selon leur morphologie, leur connectivité, l'expression de marqueurs génétiques et leurs propriétés électrophysiologiques.	46
Figure 25 : La succession des périodes critiques durant le développement cérébral du rat.....	48
Figure 27 : Classification des surdités.	50
Figure 26 : Cdhr23 et Cdhr15 ont un rôle critique pour la migration d'une population de précurseurs d'interneurones vers le néocortex. Un défaut de cette migration entraîne des défauts en post-natal.	60
Figure 28 : Domaines protéiques des trois protéines d'intérêt, Otogéline, Otogéline-like, et Stéréociline.....	66
Figure 29 : Localisation par immunofluorescence d'otogéline et otogéline-like dans les cellules ciliées externes.	67

Figure 30 : Localisation par immunofluorescence in toto d'otogéline et otogéline-like dans la membrane tectoriale.....	67
Figure 31 : Images prises au microscope électronique à balayage d'une touffe ciliaire de OHCs présentant des défauts de cohésion chez les mutants <i>Otog^{+/-}</i> , <i>Otogl^{+/-}</i> et <i>Strc^{+/-}</i>	68
Figure 32 : Modèle proposé pour la formation de couronnes d'attachement de la membrane tectoriale et de connecteurs supérieurs horizontaux dans les OHCs de souris immatures et matures.	69
Figure 33 : Caractérisation des stades de développements embryonnaire chez la souris.	78
Figure 34 : Schéma descriptif de la technique du RNAscope.....	85
Figure 35 : La lignée mutante <i>Otogl</i> présente une prédisposition aux crises audiogènes.....	90
Figure 36 : Étude de l'expression génomique d'ARNm de gènes connus pour leur rôle dans la touffe ciliaire et la transduction.....	92
Figure 37 : Expression d' <i>Otogl</i> dans les régions cérébrales du modèle murin.	93
Figure 38 : Expression d' <i>Otogl</i> dans les régions cérébrales.....	94
Figure 39 : La délétion biallélique d' <i>Otogl</i> n'entraîne pas de défauts anatomiques dans le cortex.	96
Figure 40 : Coupes coronales de cortex auditifs allant du côté antérieur (en haut à gauche) au côté postérieur (en bas à droite).....	98
Figure 41 : Expression d' <i>Otogl</i> dans les régions cérébrales grâce à l'expression de la tdTomato sous le contrôle du promoteur <i>Otogl</i>	99
Figure 42 : Étude des voies ascendantes du système auditif primaire et des régions exprimant la tdTomato sous le contrôle du promoteur d' <i>Otogl</i>	100
Figure 43 : Coupes coronales des noyaux cochléaires allant du côté postérieur (en haut à gauche) au côté antérieur (en bas à droite).	101
Figure 44 : Expression de la tdTomato sous le contrôle du promoteur <i>Otogl</i> dans la cochlée à P4, P14 et P28.	102
Figure 45 : <i>Otogl</i> n'a pas de discrimination tonotopique.	102
Figure 46 : <i>Otogl</i> est localisée dans de nombreuses structures de la cochlée.	103
Figure 47 : <i>Otogl</i> est exprimée dans les SGNs et les cellules ciliées.	104
Figure 48 : <i>Otogl</i> est exprimée dans les SGNs et les cellules de soutien à P0.....	105
Figure 49 : <i>Otogl</i> est préférentiellement exprimé par les SGNs exprimant <i>pou4f1</i>	107
Figure 50 : <i>Otogl</i> est bien co-exprimée avec <i>Pou4f1</i> par les SGNs de type 1.	109
Figure 51 : Les fibres du nerf auditif exprimant <i>Otogl</i> ne contactent pas les cellules en buisson du noyau cochléaire.....	111
Figure 52 : Tests fonctionnels de l'audition des souris <i>Otogl</i> sauvages et hétérozygotes.	112
Figure 53 : <i>Otogl</i> possède des défauts fonctionnels qui ont été mesurés à l'aide de tests fonctionnels auditifs.	114
Figure 54 : Le réflexe musculaire de l'oreille moyenne des souris <i>Otogl^{+/-}</i> est défectueux.	116
Figure 55 : Les souris <i>Otogl^{+/-}</i> et <i>Otogl^{-/-}</i> ont un nombre normal de synapses à ruban dans les IHCs.....	117

Préambule

En 1995, l'identification du premier gène responsable de surdité à la fois chez l'humain (Weil et al. 1995) et chez la souris (F. Gibson et al. 1995), le gène codant pour le moteur moléculaire myosine-VIIa, ouvre la voie à l'étude des surdités d'origine génétique. Aujourd'hui, environ 140 gènes impliqués dans la surdité non-syndromique ont été identifiés et une centaine de loci attendent l'identification du gène correspondant. Dans la majorité de ces formes génétiques de surdité, un dysfonctionnement de la cochlée rend compte de l'atteinte auditive. L'identification des mutations aboutissant à des surdités neurosensorielles et l'étude des mécanismes physiopathologiques sous-jacents ont mis en lumière la physiologie moléculaire du système périphérique auditif. Cette approche génétique basée sur l'étude des déficits auditifs héréditaires a permis de caractériser le développement et le fonctionnement du système auditif périphérique, révélant le rôle fondamental des structures de la cochlée et les mécanismes moléculaires impliqués dans des fonctions cochléaires clés (Richardson, de Monvel, et Petit 2011). La perception auditive jusqu'au cerveau nécessite la transduction de l'onde sonore en signal nerveux. Cette transduction se fait grâce aux cellules ciliées qui sont les cellules sensorielles de la cochlée. Plus précisément, cette transduction d'onde sonore a lieu au niveau de la touffe ciliaire, une structure composée de microvillosités riches en actine qui coiffe la surface apicale des cellules ciliées. De nombreuses formes génétiques de surdité, plus de 80 identifiées, ont un impact sur la transduction mécano-électrique soit de façon directe en entraînant une désorganisation de la touffe ciliaire, soit de façon indirecte en affectant d'autres structures mécaniques nécessaires à la bonne stimulation des cellules.

L'approche génétique, basée sur l'étude des formes héréditaires de surdité, a été particulièrement efficace au cours des 25 dernières années pour révéler la physiologie moléculaire de la cochlée. **En revanche, cette dissection génétique a fourni jusqu'à présent peu d'informations sur le système auditif central**, bien que les dysfonctionnements de celui-

ci toucheraient environ 5% des enfants et plus de 25% des personnes âgées (<https://www.who.int>). Il a été récemment montré que plusieurs protéines impliquées comme composants de la touffe ciliaire jouaient également un rôle dans les voies auditives centrales. Une inactivation de certains gènes entraîne un défaut anatomique et fonctionnel de populations de neurones. L'hypothèse de mon laboratoire de thèse est qu'une partie des atteintes auditives centrales dans les formes génétiques de surdité seraient passées inaperçues en raison de l'atteinte cochléaire, qui prive le cerveau auditif de tout ou partie des informations acoustiques qu'il reçoit normalement. Il a été montré récemment chez la souris, qu'une mutation de la cadhérine 23 (*cdhr23*) ou de la cadhérine 15 (*cdhr15*) qui sont des composants majeurs de la touffe ciliaire entraînait des déficits intrinsèques dans le système nerveux central en plus d'une surdité périphérique (Libé-Philippot, Michel, Boutet de Monvel, et al. 2017a). Ce déficit central a été mis au jour car les souris mutantes pour *Cdhr23* ou *Cdhr15* présentent une prédisposition aux crises audiogènes, des crises de convulsions déclenchées par une simulation acoustique de forte intensité. A partir de ces premiers résultats, j'ai cherché au cours de ma thèse à poursuivre l'étude de ces déficits centraux dans plusieurs formes génétiques de surdités.

Au cours de mon doctorat, j'ai caractérisé le rôle cérébral de trois gènes pour lesquels des mutations entraînent une surdité périphérique mais aussi une susceptibilité aux crises audiogènes chez la souris. Il s'agit des gènes codant pour les protéines otogéline (*otog*), otogéline-like (*otogl*) et stéréociline (*strc*). Dans la cochlée, le rôle de ces trois protéines avait été déchiffré auparavant. Celles-ci forment un complexe moléculaire impliqué dans la cohésion de la touffe ciliaire (Elisabeth Verpy et al. 2011; Avan et al. 2019; Simmler, Zwaenepoel, et al. 2000).

Avant de présenter et discuter les résultats de mon travail de thèse sur ces trois gènes, j'effectuerai tout d'abord un rappel de l'anatomie du système auditif. Puis j'aborderai l'évolution historique de l'étude de l'audition accompagnée de données épidémiologiques.

Enfin, je présenterai les crises audiogènes, le point de départ de mon sujet de thèse, afin d'illustrer comment certains gènes impliqués dans la surdité peuvent avoir un double rôle à la fois dans la cochlée et le système auditif central.

Introduction

1. Développement de l'audition

1.1. Anatomie de l'oreille

De l'Antiquité à nos jours, la connaissance sur l'oreille n'a cessé de s'étoffer grâce à de nombreuses découvertes scientifiques telles que la propagation des vibrations sonores par l'air (Pythagore, 571-486 avant JC), la découverte du tympan (Hippocrate, 460-375 avant JC), la définition de l'oreille comme organe de l'audition (Aristote, 384-322 avant JC), la première description anatomique du vestibule (Vésale, 1514-1564) ou une description du système auditif et de l'oreille interne (Eustachi, 1564). Ces descriptions de l'oreille n'ont cessé de s'enrichir notamment à l'échelle du millimètre et micromètre grâce à l'évolution des microscopes avec la première description qui décrit la cochlée baignant dans un liquide (Cotugno, 1775), la description de l'organe de Corti (Corti & Kolliker, 1851), des descriptions de cellules composant l'organe de Corti (Deiters, Hensen et Claudius, 1860) ou encore récemment, la découverte de liens de cohésion entre cellules de l'organe de Corti (Pickles, 1983). Au fil du temps, ces découvertes ont constitué une description détaillée de l'oreille.

L'oreille se constitue de trois compartiments : l'oreille externe, l'oreille moyenne et l'oreille interne. L'oreille externe et moyenne sont uniquement dédiées à l'audition. En revanche l'oreille interne comprend la cochlée, organe sensoriel de l'audition et le vestibule, organe sensoriel de l'équilibre.

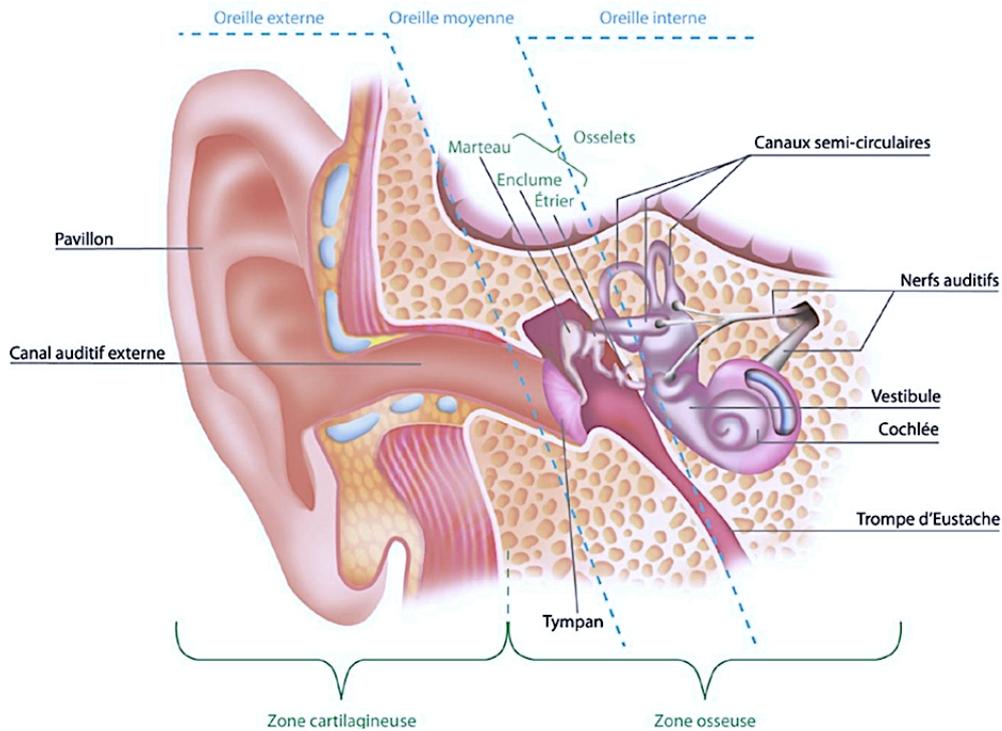


Figure 1 : Schéma de l'oreille humaine.

L'oreille se compose de trois parties. L'oreille externe comprend le pavillon et le conduit auditif externe. L'oreille moyenne est constituée des osselets (marteau, enclume et étriers) et est délimitée par la membrane tympanique. L'oreille interne comprend la cochlée, organe sensoriel de l'audition et le vestibule, organe sensoriel de l'équilibre (source : Bausch & Lomb-www.toutsureille.fr).

1.1.1. Oreille externe

L'oreille externe est la partie visible de notre système auditif. Elle se compose de deux parties : le pavillon et le conduit auditif (**Figure 1**). Le pavillon forme une sorte d'entonnoir permettant de capter et d'amplifier les vibrations sonores dans le conduit auditif. Le conduit auditif, lui, a pour rôle de diriger les ondes sonores vers la membrane tympanique de l'oreille moyenne. Ses parois contiennent de nombreuses glandes sébacées qui sécrètent le cérumen, jouant ainsi un rôle important de protection de l'oreille moyenne face aux agressions extérieures.

1.1.2. Oreille moyenne

L'oreille moyenne se loge dans l'os temporal et est une cavité remplie d'air, délimitée par deux membranes qui sont le tympan et la fenêtre ovale. Elle comprend trois parties : les annexes mastoïdiennes, la caisse du tympan contenant les osselets et la trompe d'Eustache (Marchioni, Molteni, et Presutti 2011). Les osselets (marteau, enclume et étrier) forment une chaîne entre

la membrane tympanique et la fenêtre ovale (**Figure 1**). Le tympan est une membrane de forme conique qui vibre à l'arrivée du son. Il permet la transformation de l'onde acoustique aérienne en onde mécanique solide qui va se propager à travers le marteau qui est en contact avec celui-ci, puis l'enclume et l'étrier pour arriver à la fenêtre ovale (**Figure 2**). La cochlée étant un organe rempli de liquide, la fenêtre ovale est une membrane qui permet de transformer l'onde mécanique solide en onde mécanique liquidienne pouvant se propager au sein de la cochlée. La trompe auditive appelée également trompe d'Eustache relie la paroi de la caisse du tympan à la paroi latérale du rhinopharynx et a pour rôle d'égaliser la pression de l'air de part et d'autre du tympan afin de protéger l'oreille moyenne lors des changements de pression d'air (El Hachem 2012).

Ainsi la fonction principale de l'oreille moyenne est d'agir comme un adaptateur d'impédance entre le milieu aérien extérieur et le milieu liquidien cochléaire grâce à une amplification de la pression à l'entrée de la cochlée qui est permise par le rapport de (surface tympan) / (surface fenêtre ovale) et par l'effet de levier qui existe au niveau de la chaîne des osselets. Ainsi, l'oreille moyenne compense la perte énergétique provoquée par les changements de milieux de l'onde sonore.

1.1.3. Oreille interne

L'oreille interne est constituée de la cochlée, l'organe sensoriel de l'audition et du vestibule, l'organe sensoriel de l'équilibre.

La cochlée apparaît comme un tube osseux enroulé en spirale autour d'un os central, le modiolus. Chez l'Homme, la cochlée s'enroule sur deux tours et demi de spire, la cochlée droite s'enroulant dans le sens horaire et la cochlée gauche dans le sens antihoraire. Elle est recouverte d'une paroi osseuse : la capsule otique. Une fois le canal spiral déroulé, celui-ci mesure environ 3 cm de long.

La cochlée se divise en trois compartiments remplis de liquides (**Figure 2**) : la rampe vestibulaire (*scala vestibuli*), la rampe tympanique (*scala tympani*) et le canal cochléaire (*scala media*). La rampe vestibulaire et la rampe tympanique communiquent par l'hélicotreme, un orifice situé à l'apex du canal spiral et sont remplies d'un milieu extracellulaire classique : la périlymphe ($[Na^+] = 140mM$, $[K^+] = 5mM$). Le canal cochléaire, quant à lui, se trouve entre les rampes vestibulaire et tympanique et est rempli d'un liquide très riche en potassium : l'endolymphe ($[Na^+] = 1mM$, $[K^+] = 150mM$). Du côté apical, le canal cochléaire est séparé de la rampe vestibulaire par la membrane de Reissner, une membrane constituée de deux couches

cellulaires. Du côté basal, le canal cochléaire est constitué de la membrane basilaire, séparant le canal cochléaire de la rampe tympanique. L'organe de Corti, l'organe neurosensoriel de l'audition, repose sur la membrane basilaire au sein du canal cochléaire. Celui-ci comprend les cellules ciliées entourées par les cellules de soutien et les fibres nerveuses du nerf auditif.

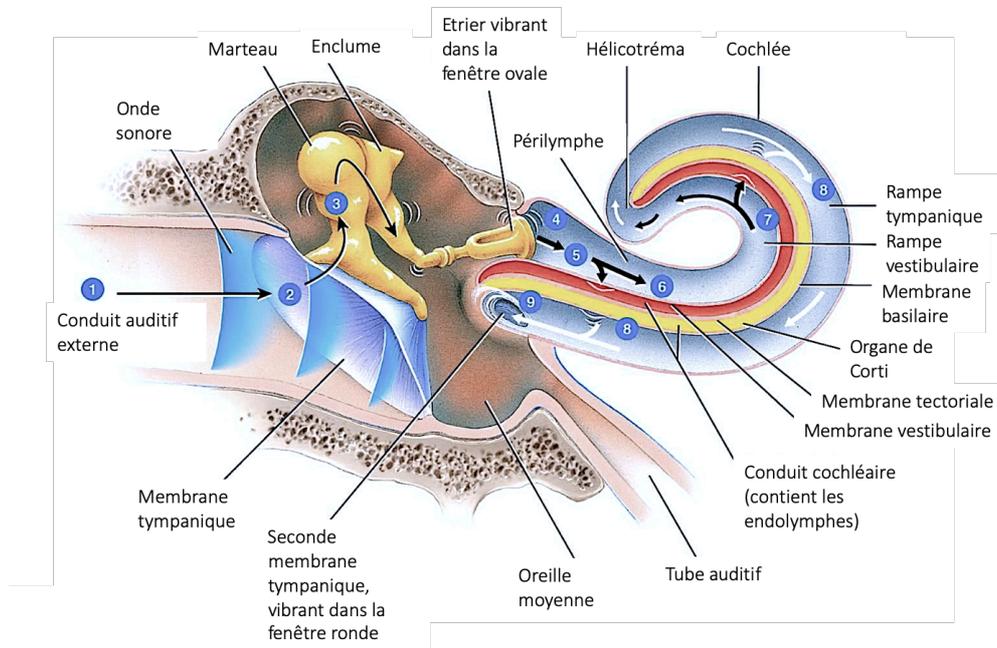


Figure 2 : propagation de l'onde sonore dans la cochlée.

L'onde sonore (1) fait vibrer la membrane tympanique (2) qui va propager l'onde à travers les osselets (3) jusqu'à la fenêtre ovale (4). L'onde mécanique va être transformée en onde liquidienne et traverser les rampes tympaniques et vestibulaires (5, 6, 7 et 8) et faire vibrer la membrane basilaire pour finir sur la fenêtre ronde dont le rôle est encore mal connu. (adapté de GJ Tortora, 2014)

1.2. Fonctionnement de la cochlée

1.2.1. La membrane basilaire et la tonotopie de la cochlée

Georg Von Békésy (Prix Nobel en 1961) a montré qu'une cascade d'évènements était initiée par l'onde sonore lorsque celle-ci atteignait la membrane basilaire. En effet, lorsqu'une onde mécanique sonore est transmise à la fenêtre ovale, la transformation de l'onde mécanique sonore en onde liquidienne se fait grâce à la différence de pression qui induit le déplacement de la périlymphe dans la rampe vestibulaire et de l'endolymphe dans le canal cochléaire. Ce mouvement d'onde fait ensuite ployer la membrane basilaire sur laquelle repose l'organe de Corti (**Figure 2**).

Georg Von Békézy avait montré que la membrane basilaire oscillait par la propagation d'une onde mais surtout que la membrane basilaire pouvait osciller avec des variations d'amplitudes suivant un gradient spatial organisé en fréquences, appelé gradient tonotopique. Cette propriété émane des caractéristiques mécaniques et physiques de la membrane basilaire, qui varient donc le long de la cochlée et revêtent un rôle fondamental sur la fonction propre de la cochlée. Ainsi, le spectre auditif est représenté tout au long de la membrane basilaire.

La membrane basilaire est cinq fois plus large à l'apex qu'à la base et possède une rigidité graduelle de l'apex à la base. L'épaisseur de la membrane basilaire change également de façon progressive le long de la cochlée. Ces propriétés mécaniques évolutives le long de la cochlée font que les sons de fréquence élevée (les aigus) sont analysés à la base et les sons de faible fréquence (les graves) sont analysés à l'apex. Un son pur génère sur la membrane basilaire un mouvement complexe sous la forme d'une onde de propagation avec une amplitude maximale atteinte à la fréquence caractéristique pour ensuite décroître rapidement au-delà de celle-ci, i.e. vers l'apex de la cochlée (**Figure 3.A**). La membrane basilaire décompose ainsi le son en ses fréquences élémentaires et distribue des énergies de stimuli spécifiques aux cellules ciliées réparties sur toute sa longueur.

Comme nous le verrons plus loin dans l'introduction, cette sensibilité fréquentielle de la cochlée est exacerbée par une amplification locale active du mouvement de la membrane basilaire effectuée par les cellules ciliées externes que je détaillerai dans le paragraphe suivant, permettant une discrimination plus fine des fréquences sonores (Brownell et al. 1985; Kachar et al. 1986)

1.2.2. L'organe de Corti

L'organe de Corti, propre aux mammifères, comporte deux types de cellules ciliées : les cellules ciliées internes (*en anglais, IHCs*) et les cellules ciliées externes (*en anglais, OHCs*). Chez l'homme, on retrouve environ 16 000 cellules ciliées. Les IHCs, au nombre de 4000, sont également appelées les véritables cellules sensorielles car elles sont connectées à 95% des afférences de l'organe de Corti. Les OHCs quant à elles, reçoivent les efférences, s'organisent en trois rangées de cellules et sont environ 12 000. Les cellules de soutien, comme l'indique leur nom, entourent les cellules ciliées pour les maintenir. On y trouve les cellules de Deiters (**Figure 3.B et C**) qui reposent sur la membrane basilaire et permettent l'ancrage des OHCs en les soutenant lors de mouvements mécaniques. Les cellules de Deiters sont jointées latéralement avec des cellules de Hensen. Les cellules de piliers forment un complexe triangulaire avec la

membrane basilaire, appelé le tunnel de Corti. Alors que les cellules ciliées sont responsables du traitement sensoriel, les cellules de soutien jouent un rôle important dans l'homéostasie et le soutien structurel de l'organe de Corti.

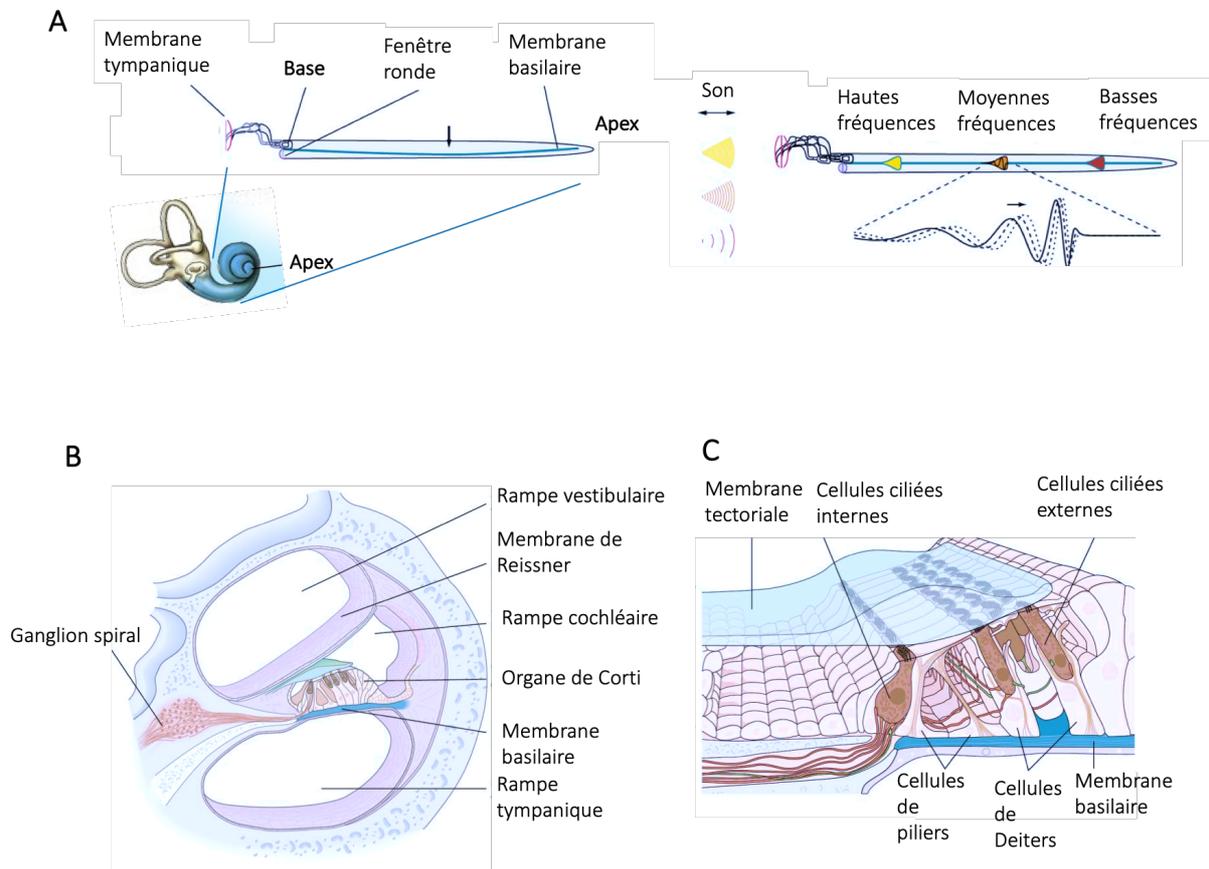


Figure 3 : Représentation de la cochlée et de l'organe de Corti.

A/ Discrimination fréquentielle des sons grâce aux propriétés mécaniques de la membrane basilaire. Chaque point de la membrane basilaire correspond à une fréquence. L'amplitude de vibration est conditionnée par la largeur et la rigidité de la membrane basilaire.

B/ Coupe transversale d'une cochlée montrant les trois compartiments remplis de fluides : la rampe tympanique, vestibulaire et cochléaire. Dans le dernier compartiment, réside l'organe de Corti surmonté par la membrane basilaire.

C/ Schéma de l'organe de Corti, composé d'une rangée de cellules ciliées internes, de trois rangées de cellules ciliées externes. Les OHCs sont soutenues par les cellules de soutien : les cellules de Deiters et les cellules de Hensen. Le tunnel de Corti est formé par les cellules de piliers.

Figure adaptée de (Kandel, 2012).

Les cellules ciliées sont prises en sandwich entre deux membranes : la membrane basilaire sur laquelle reposent les cellules ciliées et la membrane tectoriale, un gel acellulaire qui les recouvre. À l'apex des cellules ciliées, la touffe ciliaire s'organise en trois rangées de

microvillosités de taille croissante. Ces microvillosités appelées à tort stéréocils sont très rigides grâce à la présence de longs filaments d'actine dans leur structure (**Figure 4**). Seuls les stéréocils de la rangée la plus haute des OHCs sont ancrés dans la membrane tectoriale. Cette organisation spatiale est maintenue grâce à la présence de liens interstéréociliaires latéraux appelés « top-connecteurs » et un lien extracellulaire de bout de cil nommé « tip-link » (**Figure 5**). Ce lien oblique connecte le sommet de chaque stéréocil de la rangée inférieure au stéréocil adjacent de la rangée moyenne et connecte également le sommet du stéréocil de la rangée moyenne au stéréocil de la rangée supérieure (**Figure 5**) (Richard J. Goodyear et al. 2005; Pickles, Comis, et Osborne 1984).

La touffe ciliaire est le siège de la transduction mécano-électrique (MET) avec la présence des canaux mécano-sensibles situés au point d'ancrage des tip-links (Hudspeth 1989; Kros, Rusch, et Richardson 1992; Helen J. Kennedy et al. 2003; H. J. Kennedy, Crawford, et Fettiplace 2005), transformant l'onde mécanique en signal électrique. Les vibrations sonores de la membrane basilaire initient une déflexion immédiate de la touffe ciliaire grâce à l'ancrage de la rangée la plus haute des OHCs dans la membrane tectoriale. Lors de cette déflexion, les stéréocils vont se défléchir, entraînant une tension dans les tip-links permettant l'ouverture des canaux ioniques mécano-sensibles et permettant l'entrée de cations dans la cellule ciliée qui va dépolariser : la transduction mécano-électrique s'initie. Suite aux mouvements de la membrane basilaire, le mouvement relatif entre la plaque cuticulaire et de la membrane tectoriale initie un mouvement liquidien oscillant qui stimule les stéréocils des IHCs malgré leur absence d'ancrage dans la membrane tectoriale (Nowotny et Gummer 2006; Guinan 2012).

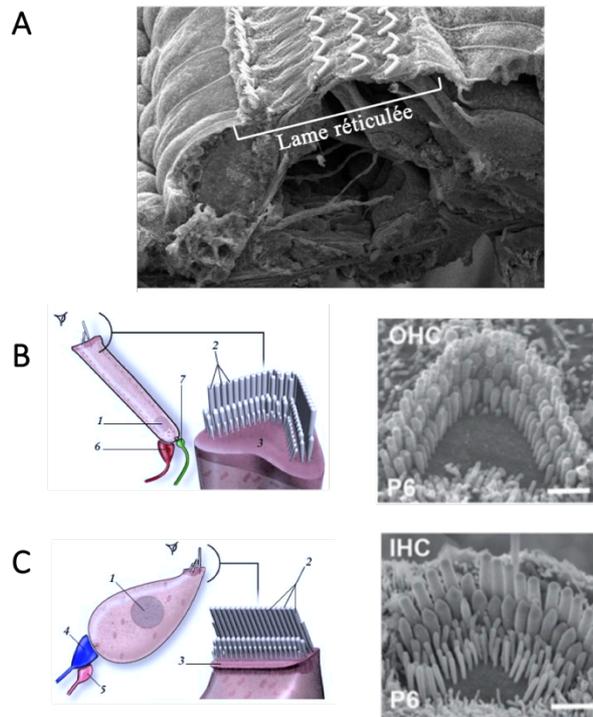


Figure 4 : Organisation des stéréocils de la touffe ciliaire dans la cochlée de mammifère.

A/ Image acquise en microscopie à balayage d'une coupe d'organe de Corti de rat (photo de Furness). Les cellules de soutien et les cellules ciliées constituent la lame réticulée.

B/ Schéma d'une OHC (1. Noyau, 2. Stéréocils, 3. Plaque cuticulaire, 6. Efférence médiane, 7. Nerf auditif) (adapté de R.Pujol et R.Nouvian) et image d'une OHC de souris prise au microscope à balayage électronique où on voit l'organisation des microvillosités dans les OHCs) (Michalski et Petit, 2014).

C/ Schéma d'une IHC (1. Noyau, 2. Stéréocils, 3. Plaque cuticulaire, 4. Nerf auditif, 5. Efférence latérale) (adapté de R.Pujol et R.Nouvian) et image d'une IHC de souris prise au microscope à balayage électronique où on voit l'organisation des microvillosités dans les IHCs) (Michalski et Petit, 2014).

1.2.3. La transduction mécano-électrique

a) Un milieu extracellulaire riche en K^+

Lors de la déflexion de la touffe ciliaire, les canaux ioniques s'ouvrent, entraînant une arrivée massive d'ions K^+ (principalement) et quelques ions de Ca^{2+} (Hudspeth et Corey 1977) (Assad, Shepherd, et Corey 1991) qui dépolarisent la cellule car la touffe ciliaire baigne dans l'endolymphe ($[K^+] = 150 \text{ mM}$). Cette concentration ionique en K^+ est inhabituelle pour un milieu classique extracellulaire et est rendue possible par les propriétés de la strie vasculaire qui a le pouvoir de réabsorber le sodium pour sécréter du potassium. Cette différence de concentration importante couplée à l'isolation électrique du canal cochléaire crée un potentiel électrique dans l'endolymphe d'environ +80mV par rapport à la périlymphe, permettant ainsi de renforcer le courant d'ions K^+ . Ce potentiel électrique est appelé potentiel endocochléaire.

b) La transduction mécano-électrique dans la touffe ciliaire

Transduction mécano-électrique des OHCs

Les OHCs jouent le rôle d'amplificateur cochléaire grâce à leur propriété d'électromotilité (Ashmore 2008) (Brownell et al. 1985). L'électromotilité est un mécanisme permettant à la membrane plasmique des OHCs de se contracter ou de s'allonger en fonction de leur potentiel intracellulaire permettant l'amplification de la vibration de la membrane basilaire. Au niveau des OHCs, les mouvements entre l'organe de Corti et la membrane tectoriale entraînent le déplacement des stéréocils de la grande rangée, qui sont ancrés dans la membrane tectoriale. Cette déflexion est synchronisée avec la déflexion des stéréocils des rangées inférieures grâce aux liens interstéréociliaires (**Figure 5**). Suite à cette dépolarisation et grâce à leur propriété d'électromotilité unique chez les mammifères, les OHCs excitées vont se contracter amplifiant ainsi localement le mouvement de la membrane basilaire. Ces contractions des OHCs sont rendues possibles grâce à la présence de prestine sur leur membrane, une protéine membranaire appartenant à la grande famille des transporteurs ioniques SLC26 mais ayant perdu sa capacité de transporteur (Zheng et al. 2000; Peter Dallos et Fakler 2002). La prestine peut se polariser électriquement sous une contrainte mécanique (et inversement, elle peut se déformer sous l'impulsion d'un champ électrique) (Zheng et al. 2000; M. Charles Liberman et al. 2002) entraînant des changements de conformation lors des variations de tension, étirant ou rétrécissant la cellule. Les OHCs se contractent lors d'une dépolarisation ou s'allongent lors d'une hyperpolarisation. Cette contraction, à l'aide de la plus haute rangée de stéréocils ancrés dans la membrane tectoriale, permet de soulever davantage la membrane basilaire et rapproche les touffes ciliaires des IHCs de la membrane tectoriale. Ce mécanisme actif appelé amplification cochléaire a pour conséquence l'amplification locale de l'onde initiale sur la membrane basilaire, permet d'augmenter la sélectivité en fréquence des cellules ciliées et joue donc un rôle de filtre sélectif en fréquences (Chan et Hudspeth 2005; H. J. Kennedy, Crawford, et Fettiplace 2005).

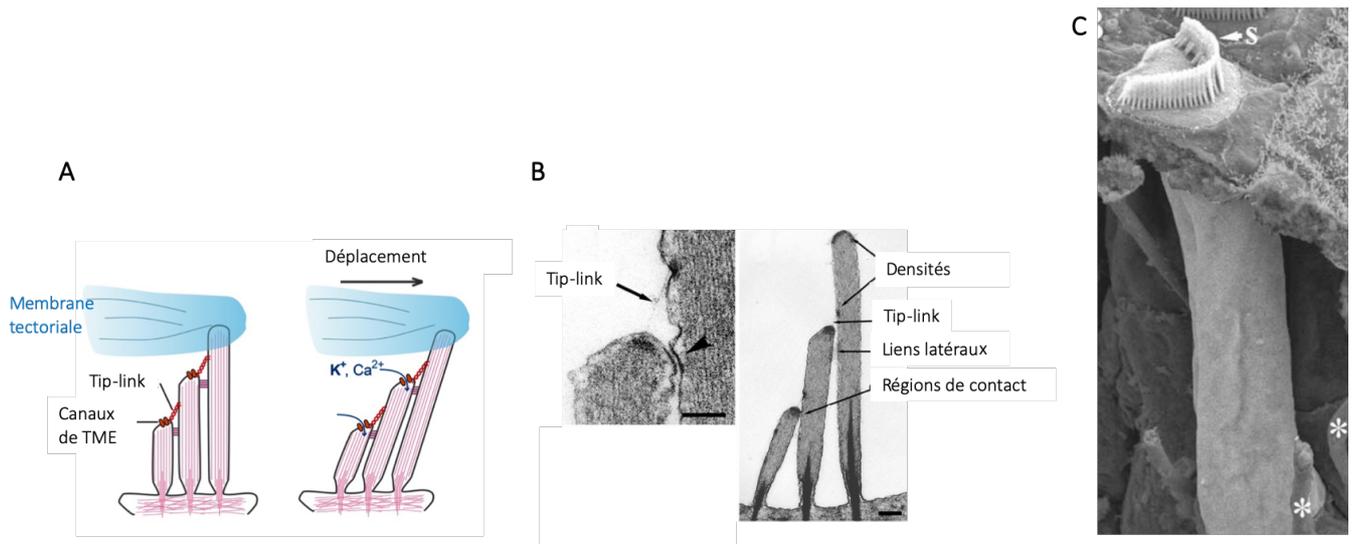


Figure 5 : La transduction mécano-électrique dans les cellules ciliées externes.

A/ Lors de la détection du son, le déplacement vertical de la membrane basilaire et de la membrane tectoriale entraîne une déflexion des stéréocils de la grande rangée ouvrant les canaux de MET. (Michalski et Petit, 2014)

B/ Images de stéréocils de cochlée de rat prises au microscope électronique à transmission (Hackney et Furness 2013).

C/ Cellule ciliée externe. Image prise au microscope électronique à balayage. (Furness et Hackney 2006)

Transduction mécano-électrique des IHCs

Les IHCs sont organisées en une rangée et permettent la conversion de l'onde sonore en message électrique qui sera transmis au cerveau pour son analyse.

La transduction mécano-électrique s'effectue en plusieurs étapes. Le déplacement des OHCs entraîne le rapprochement de la touffe ciliaire des IHCs vers la membrane tectoriale. La déflexion de la touffe ciliaire des IHCs qui s'ensuit par le mouvement liquidien, entraîne l'ouverture des canaux de MET. Cette dépolarisation entraîne à la base des IHCs l'ouverture de canaux calciques de type L dépendant du voltage (Beurg et al. 2006). L'entrée de Ca^{2+} qui en découle, entraîne la fusion des vésicules synaptiques à la base des IHCs et la libération de leur principal neurotransmetteur, le glutamate (**Figure 6**).

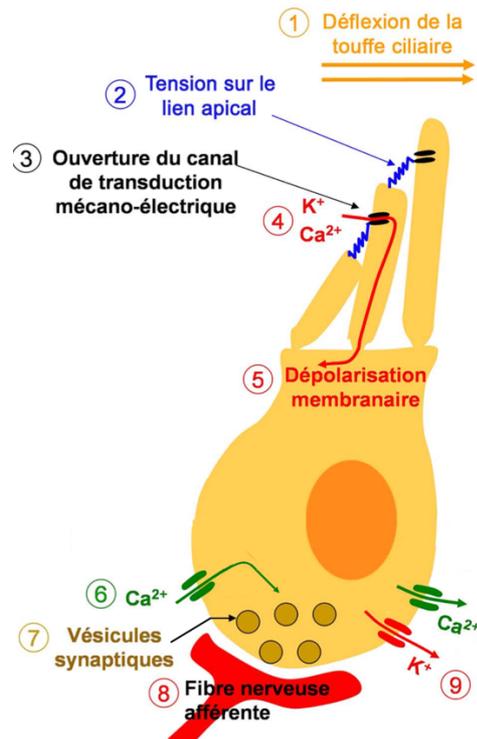


Figure 6 : Le déroulement de la machinerie de transduction mécano-électrique.

La déflexion de la touffe ciliaire initie une cascade d'évènements dépolarisant la cellule et libérant le neurotransmetteur (adapté de Michalski, 2008).

1.3. Les composants moléculaires impliqués dans la transduction mécano-électrique

La touffe ciliaire, structure hautement spécialisée, possède de nombreuses configurations géométriques variant d'une espèce à l'autre et d'un type de cellule ciliée à une autre (cellule ciliée cochléaire, vestibulaire). Les stéréocils au sein de la touffe ciliaire sont reliés par différents liens fibreux (**Figure 7**). Ceux-ci sont essentiels pour la morphogénèse correcte de la touffe ciliaire, sa cohésion et la transduction auditive mécano-électrique. De plus, au cours du développement, la touffe ciliaire croît autour d'un cil primaire appelé kinocil. Celui-ci est relié aux stéréocils adjacents de la plus grande rangée des stéréocils par des liens dits kinociliaires. Afin de maintenir la cohésion de la touffe ciliaire, jusqu'à six types de liens ont été décrits dans la cochlée : liens kinociliaires (*kinociliar links*), liens latéraux (*lateral link*), liens connecteurs (shaft connectors), liens de bout de cil (*tip-link*), connecteurs supérieurs horizontaux (*top connecteurs*) et les liens basaux (*ankles links*). Les protéines participant à la cohésion de la

la touffe ciliaire s'organise toujours selon le même schéma : des protéines transmembranaires formant les liens, des protéines sous-membranaires organisatrices grâce à leur domaine PDZ, des moteurs moléculaires, et dans certains cas des protéines extracellulaires participant à l'ancrage de la touffe ciliaire dans la membrane tectoriale.

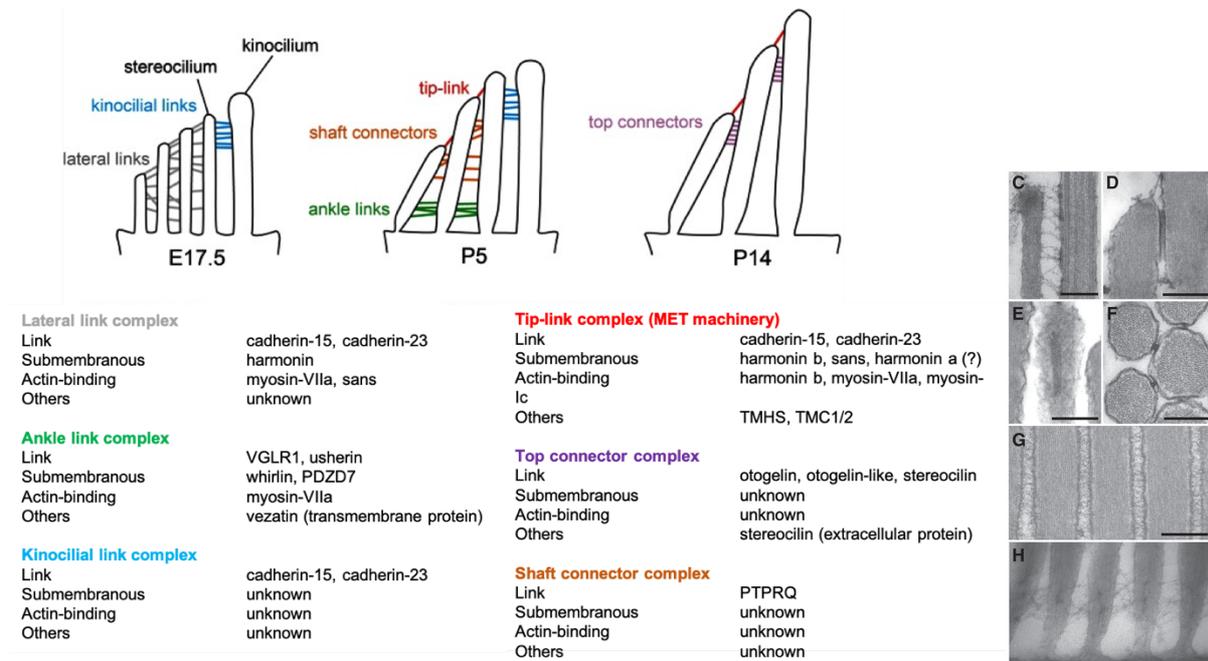


Figure 7 : Les protéines participant à la cohésion de la touffe ciliaire.

A gauche, les différents liens existant dans la touffe ciliaire chez la plupart des mammifères à trois stades différents et leurs complexes moléculaires associés.

A droite, photos prises au microscope électronique à transmission montrant : les liens kinociliaires (C), lien apical et connecteurs supérieurs horizontaux vue longitudinale (D), connecteurs supérieurs en vue transversale (E), connecteurs supérieurs vue d'au-dessus (F), liens connecteurs (G) et les liens basaux (H) chez le modèle aviaire (Richardson et Petit 2019).

1.3.1. Le lien de bout de cil (tip link)

Le lien de bout de cil se compose de deux molécules d'adhésion de la famille des cadhérines : la cadhérine-23 (Jan Siemens et al. 2004; Söllner et al. 2004) et la protocadhérine-15 (Zubair M. Ahmed et al. 2006). Des mutations dans les gènes codants pour *cdhr23* et *cdhr15* sont responsables du syndrome d'Usher de type 1 qui entraîne une surdité profonde associée à une cécité (Z. M. Ahmed et al. 2001; Alagramam et al. 2001; Bork et al. 2001). Ces deux protéines transmembranaires à 27 (*cdhr23*) et 11 (*cdhr15*) répétitions extracellulaires de cadhérines dans leur domaine s'associent sur leur extrémité, *cdhr23* constituant la partie apicale du lien et *cdhr15* constituant la partie basale du lien (**Figure 8**). Ce lien apical ainsi façonné relie chaque

stéréocil de la petite rangée au stéréocil adjacent supérieur de la rangée moyenne, et chaque stéréocil de la rangée moyenne au stéréocil adjacent de la grande rangée (Kazmierczak et al. 2007; Pepermans et Petit 2015).

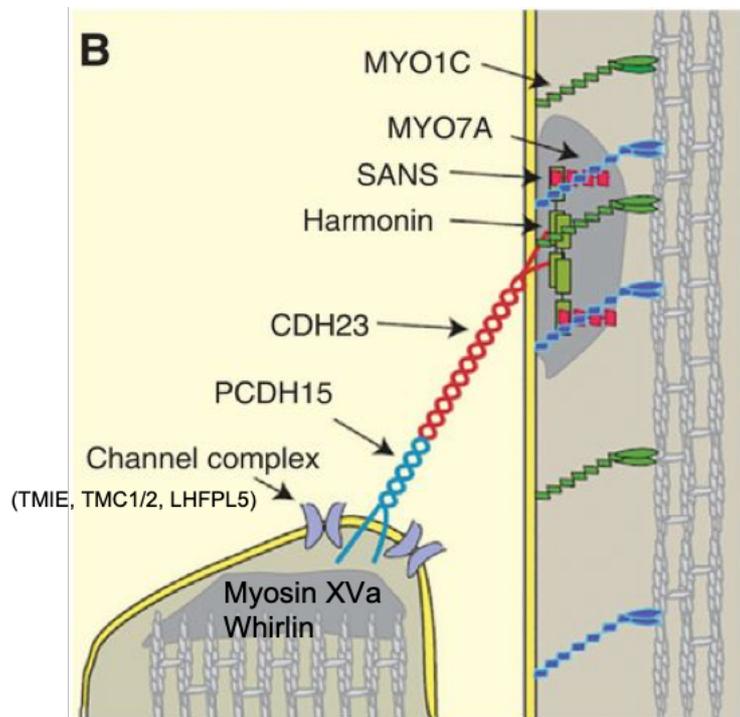


Figure 8 : Les deux homodimères Cdhr15 et Cdhr23 en un même lien apical qui relie les stéréocils de la petite rangée à la rangée moyenne et de la rangée moyenne à la rangée supérieure (Fettiplace 2017).

Les cadhérines cdhr23 et cdhr15 interagissent via leur domaine carboxy-terminaux avec un certain nombre de protéines dont une grande partie est connue pour être également associées au syndrome d'Usher.

A l'extrémité supérieure, la cadhérine-23 possède un domaine cytoplasmique qui interagit de manière indirecte avec le cytosquelette d'actine du stéréocil et avec des phospholipides membranaires (J. Siemens et al. 2002; Bahloul et al. 2010; El-Amraoui et al. 2005). Plus précisément, ce domaine interagit avec le domaine PDZ d'harmonine (USH1C) qui est une protéine d'échafaudage sous-membranaire. Cadhérine-23 interagit également avec sans (USH1G) et la myosine-VIIa (MyoVIIa ou USH1B) qui font partie d'un complexe avec l'harmonine (Reiners et al. 2005; Senften et al. 2006). MyoVIIa est exprimée dès le développement précoce de l'oreille interne dans les cellules ciliées auditives et vestibulaires (el-Amraoui et al. 1996). Dans les cellules ciliées de la touffe ciliaire, myoVIIa participe à la MET par une régulation de la tension du tip-link (Li et al. 2020) et est impliquée dans le

transport des protéines des stéréocils. Une absence de myoVIIa entraîne une disparition délocalisation de l'harmonine-b, isoforme d'harmonine, et de l'isoforme CD1 de cdhr15 dans les touffes ciliées ainsi qu'une mauvaise localisation de 'sans' (Caberlotto et al. 2011). L'harmonine-b est régulée par la protéine 'sans' et régule à son tour cdhr23 (Michalski et al. 2009; Bahloul et al. 2017) (**Figure 8**).

A l'extrémité inférieure du lien de bout de cil, la protocadhérine-15 est associée au complexe de MET par son association avec les canaux ioniques et leurs composants. Deux des principaux composants sont les protéines TMC1 et TMC2 (en anglais, *Transmembrane channel-like protein 1 et 2*) (Kawashima et al. 2011; Beurg et al. 2015; Pan et al. 2013; 2018). Ces deux protéines sont essentielles pour les courants de mécano-transduction des cellules ciliées, sont localisées à l'apex des stéréocils et constituent au moins une partie du pore du canal (Steel et Bock 1980; Kawashima et al. 2011; Denk et al. 1995). En effet, des mutations de TMC1 altèrent les propriétés des courants mécano-sensibles chez la souris (Fettiplace 2016; Pan et al. 2018; 2013). Des études récentes suggèrent que TMC1 et TMC2 sont soutenus par des sous-unités formant des pores des canaux ioniques mécano-sensibles et qui font de TMC1 et TMC2 des canaux de transduction des cellules ciliées (Jia et al. 2020). Ces deux protéines sont associées à la protéine LHFPL5 (*lipoma HMGIC fusion partner-like 5*) (Xiong et al. 2012) et la protéine TMIE (*transmembrane inner ear*) (Zhao et al. 2014 ; Qiu et Müller 2018) formant un complexe moléculaire, les protéines interagissant toutes avec cdhr15, ces interactions pouvant être modulées à leur tour par d'autres protéines. On retrouve à l'extrémité supérieure du lien, la *myosin-1c* (MYO1C) un moteur de myosine qui contrôle la tension du lien et l'adaptation des canaux de MET (Holt et al. 2002; Stauffer et al. 2005). À l'extrémité inférieure, on retrouve la whirline (WHRN) et la myosin-XVa (MYO15A) (Belyantseva, Boger, et Friedman 2003; Delprat et al. 2005), deux protéines associées à l'actine et qui contrôlent la croissance du stéréocil (**Figure 8**).

1.3.2. Les connecteurs supérieurs horizontaux

Dans les OHCs matures, les stéréocils sont liés entre eux au niveau apical des liens fibreux fins se rejoignant au centre du lien, formant une densité centrale extracellulaire importante. Lorsqu'ils sont observés par microscopie électronique à transmission, ces liens présentent une apparence caractéristique ressemblant à une fermeture éclair. Ces « *top connectors* » se trouvent aussi bien dans les grandes rangées de stéréocils que dans les moyennes rangées ou

petites rangées (**Figure 9**). Chez la souris, les liens apparaissent peu de temps avant le début de l'audition vers le neuvième jour post natal (Richard J. Goodyear et al. 2005).

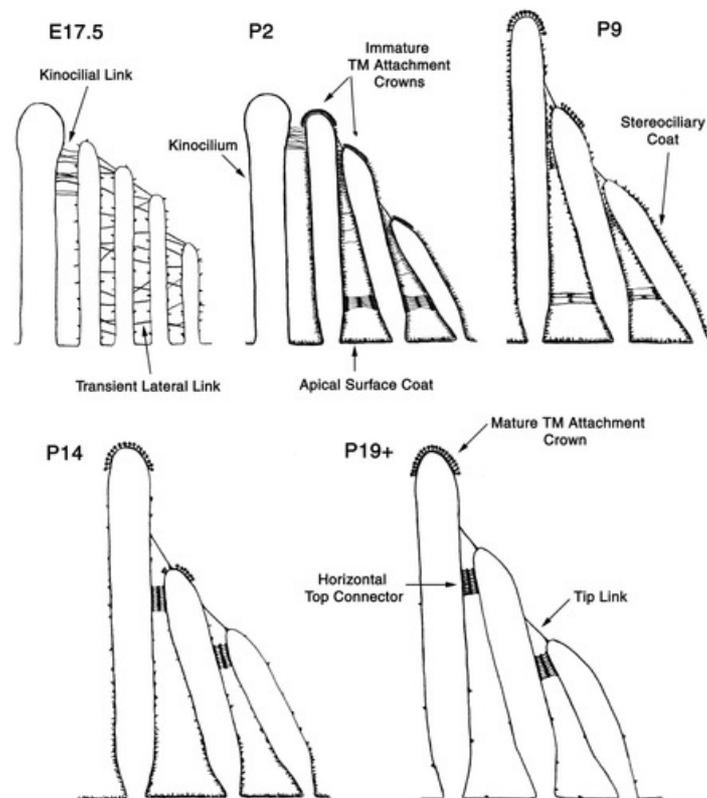


Figure 9 : Illustration des liens entre stéréocils des OHCs appelés « top connecteurs » à différents stades de développement. (Richard J. Goodyear et al. 2005)

Bien qu'il existe des liens latéraux entre stéréocils dans les IHCs, ces liens ne possèdent pas cette densité centrale si caractéristique des connecteurs supérieurs des OHCs. Chez la souris, plusieurs gènes ont été identifiés comme étant associés à ces connecteurs supérieurs ainsi que dans les couronnes de fixation situées à l'apex des stéréocils les plus hauts de la rangée et qui s'ancrent dans la membrane tectoriale. La stéréociline (*strc*) codée par le locus *DFNB16*, est une protéine de taille importante (E. Verpy et al. 2001). En l'absence de stéréociline, les stéréocils des OHCs ne sont pas connectés les uns aux autres et les stéréocils de la plus haute rangée ne sont pas ancrés dans la membrane tectoriale, entraînant un dysfonctionnement des OHCs sans impacter les IHCs. La stéréociline est donc nécessaire à la formation des connecteurs supérieurs des OHCs et à leur couronne d'ancrage à la membrane tectoriale (Elisabeth Verpy et al. 2008; 2011). Deux autres protéines sont également impliquées dans ces liens. Ces deux protéines liées aux mucines épithéliales sécrétées sont deux grandes protéines

de la membrane tectoriale (Cohen-Salmon et al. 1997a; El-Amraoui et al. 2001; Yariz et al. 2012; Bonnet et al. 2013). Une mutation d'*Otog* ou d'*Otogl* entraîne un défaut d'ancrage dans la membrane tectoriale et une désorganisation des OHCs, conséquences semblables à des mutations dans le gène *Strc* (Avan et al. 2019). Otogéline et otogéline-like ne sont pas seulement présentes dans la membrane tectoriale mais contribuent également à l'attachement des stéréocils par les connecteurs supérieurs où elles interagissent avec la stéréociline (**Figure 10**).

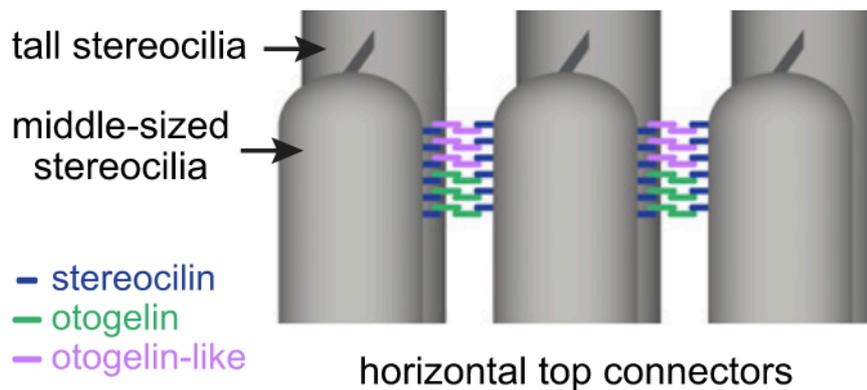


Figure 10 : Stéréociline, Otogéline et Otogéline-like sont des composants essentiels des connecteurs supérieurs, liens interstéréociliaires des OHCs (Avan et al. 2019).

1.3.3. Les liens basaux (*ankle link*)

Les liens basaux appelés *ankle-links* ont été décrits pour la première fois dans la touffe ciliaire vestibulaire et la touffe ciliaire auditive dans les années 90 (Jacobs et Hudspeth 1990; R. Goodyear et Richardson 1992). Ces liens sont formés par de longs filaments minces, se localisent à la base des stéréocils et forment un maillage dense (**Figure 7**). Dans la cochlée, ces liens apparaissent vers P2 (deuxième jour post-natal) chez la souris et disparaissent avant le début de l'audition vers P12 (douzième jour post-natal) (Richard J. Goodyear et al. 2005) alors que chez le modèle aviaire, ces liens sont présents même dans l'oreille mature. On retrouve deux grandes protéines transmembranaires qui contribuent à ces liens : ADGRV1 et USH2A. Une mutation de ces deux gènes a pour conséquence le syndrome de Usher de type 2 (respectivement Usher 2C et Usher 2A) provoquant une surdité congénitale modérée à sévère et une cécité progressive par rétinopathie pigmentaire (Ebermann et al. 2009; Hilgert et al. 2009; Yagi et al. 2007; McGee et al. 2006).

Le récepteur couplé aux protéines G à long domaine extracellulaire ADGRV1 (en anglais, *Adhesion G Protein-Coupled Receptor V*) est l'une des plus grandes protéines de surface cellulaire connue avec une longueur d'environ 6300 acides aminés (J.-P. Sun et al. 2013). Il est également connu sous d'autres noms : associé d'abord à une pathologie de la souris, on le retrouve sous le nom MASS1 (*Monogenic audiogenic seizure susceptible 1*) pour ensuite le retrouver sous le nom VLGR1 (*very large G protein coupled receptor*) ou encore GPR98. Historiquement, bien qu'*adgrv1* soit identifiée comme un composant de liaisons dans le complexe de la touffe ciliaire, les mécanismes moléculaires détaillés explicitant la fonction d'*adgrv1* dans le système auditif restent encore mal compris (McMillan et White 2010; Michalski et al. 2007). Ces liens basaux ne sont pas détectés durant les stades précoces chez la souris mais apparaissent à P2 sous forme définitive (Michalski et al. 2007; McGee et al. 2006). Une mutation *d'Adgrv1* conduit à une morphologie anormale des stéréocils, une désorganisation de la touffe ciliaire qui conduit à une perte de cellules ciliées internes et de cellules ciliées externes de l'extrémité basale et haute fréquence de la cochlée, cependant la transduction peut toujours être opérée mais de façon anormale (Yagi et al. 2007; Michalski et al. 2007).

Usherin (USH2A) est une protéine transmembranaire qui interagit avec le récepteur *adgrv1*, ce dernier étant essentiel au maintien de l'usherin à la base des stéréocils. Contrairement à *adgrv1* qui reste détectable, une mutation *d'Ush2a* entraîne sa disparition dans les stéréocils ou dans la région apicale des cellules ciliées (Michalski et al. 2007). *Adgrv1* et usherin sont contrôlés par l'expression de la protéine myoVIIa. Une absence de myoVIIa entraîne à son tour une mauvaise localisation ou une absence d'*adgrv1* et d'usherin dans les liens basaux (Michalski et al. 2007). D'autres protéines telles que la protéine transmembranaire appelée vezatin et la protéine submembranaire whirlin qui colocalisent toutes dans la région des liens basaux, se joignent à *adgrv1* et usherin pour former un complexe moléculaire appelé ALC (*ankle-link molecular complex*). *Adgrv1*, *ush2a*, *vezt* et myoVIIa forment un complexe protéique fortement lié avec Whirlin comme protéine finale qui structurerait le complexe ALC et qui déterminerait la position précise des liens basaux à la base de la touffe ciliaire (Michalski et al. 2007). Ce complexe est complété par une protéine appelée PDZD7, une protéine de structure fortement exprimée dans les stéréocils des IHCs (Schneider et al. 2009).

1.3.4. Les liens kino-stéréocils

Les premières études au microscope électronique de la touffe ciliaire chez la grenouille ont décrit pour la première fois un maillage de fines liaisons fibreuses reliant sur le sommet du kinocil, le bulbe kinociliaire au stéréocil adjacent de la rangée la plus haute (Hillman 1969), on parle de liens kinociliaires (**Figure 7**). Bien qu'ils soient des composants essentiels composants de la touffe ciliaire, les liens kinociliaires ne sont pas nécessaires à une transduction mécano-électrique normale (Hudspeth et Jacobs 1979).

La cadhérine-23 est un composant majeur impliqué dans la formation des liens latéraux et des liens kinociliaires (Michel et al. 2005; Lagziel et al. 2005). Quant à la cadhérine-15, elle intervient dans la formation des liens kinocils-stéréocils (Zubair M. Ahmed et al. 2006). Ces deux molécules sont associées aux liaisons kinociliaires avec la cadhérine-23 qui est localisée dans les stéréocils et la cadhérine-15 dans le kinocil (Richard J. Goodyear et al. 2010).

Chez certaines espèces telles que le poisson zébré, le kinocil et les liens kinociliaires possèdent un rôle dans la mécano-sensibilité mais il reste à déterminer si la mécano-sensibilité est médiée directement par ces liens kinociliaires. Cependant, il est indéniable que l'attachement du kinocil aux stéréocils est essentiel pour le développement de la touffe ciliaire.

1.3.5. Les liens transitoires latéraux

Lors des prémices du développement de la touffe ciliaire, un vaste réseau de filaments apparaît entre les microvillosités qui vont donner les futurs stéréocils, ce sont les liens latéraux transitoires (**Figure 7**). Ces liens disparaissent au fur et à mesure du développement ou s'intègrent dans d'autres types de liens. Ces liens latéraux sont formés dès la période embryonnaire (dans le modèle de la souris) : à E17,5 la touffe ciliaire possède déjà une organisation dessinée avec de nombreux liens latéraux formés. Dans ces premiers liens latéraux transitoires, *cdhr23* prend part à l'établissement du lien latéral durant le développement (Michel et al. 2005; Richard J. Goodyear et al. 2010) en interagissant avec *cdhr15* dans l'établissement de ces liens. *Usher1* (*USH1C*), *sans* (*USH1G*) et *myoVIIa* sont également impliqués dans ces liens. En effet, il a été observé chez des souris présentant des mutations de gènes codant pour *MYO7A*, *USH1C*, *CDHR23*, *CDHR15* et *USH1G* des désorganisations et fragmentations de la touffe ciliaire, ces défauts étant observés à un ou deux jours après le moment auquel ces protéines devaient normalement apparaître (E16,5) (Lefèvre et al. 2008).

1.3.6. Les liens connecteurs (shaft connectors)

Les liens connecteurs se caractérisent par des filaments fins formant un maillage qui recouvre l'espace entre les stéréocils en reliant les stéréocils d'une rangée aux stéréocils de la rangée voisine ou qui les relient entre eux au sein d'une même rangée. Ces liens se trouvent au-dessus des liens basaux sur la partie haute du stéréocil. Ces liens augmentent la rigidité de la touffe ciliaire, permettant aux stéréocils de chaque côté de la touffe ciliaire de se déplacer tous ensemble, minimisant un décalage. Cette cohésion de mouvement permet un déclenchement optimal des canaux de MET (Kozlov, Risler, et Hudspeth 2007).

PTPRQ, de la famille des récepteurs tyrosine phosphatases, a été identifié comme un composant majeur de ce lien (R. Goodyear et Richardson 1992). PTPRQ possède une extrémité N-terminale étendue, composée de domaines de fibronectine qui permet d'assurer la liaison avec les protéines extracellulaires. Les souris possédant une mutation du gène codant pour PTPRQ montrent une absence de liens connecteurs entre les cellules ciliées de la touffe ciliaire, cependant la touffe ciliée garde une organisation assez structurée et les courants de MET, légèrement anormaux, s'adaptent à cette anomalie (R. J. Goodyear et al. 2003). Ainsi PTPRQ est essentielle pour la maturation normale et non pour le développement de la touffe ciliaire.

1.4. L'innervation afférente des IHCs et des OHCs

Il existe deux types de fibres afférentes : les fibres afférentes provenant des neurones bipolaires de type 1 du ganglion spiral (95% des afférences) (Spoendlin 1973; M. C. Liberman 1982b; N. Kiang et al. 1984) et les fibres afférentes provenant des neurones bipolaires de type 2 (5% des afférences) (Spoendlin 1973). Les axones périphériques du ganglion spiral se terminent dans la cochlée au contact des cellules ciliées et leurs axones centraux vont vers le système auditif central (le noyau cochléaire). Les fibres sont reconnaissables par leur morphologie : les fibres de type 1 innervent les IHCs, ne forment qu'un seul contact synaptique avec les IHCs, possèdent des corps cellulaires plus gros et sont myélinisées. Chaque IHC est innervée par une quinzaine de fibres nerveuses selon la tonotopie. Les fibres de type 2 innervent les OHCs, possèdent des petits corps cellulaires et ne sont pas myélinisées. Chaque fibre de type 2 peut innerver plusieurs OHCs appartenant à la même rangée (Spoendlin 1971; N. Y. Kiang et al. 1982). Les informations sonores sont transmises au système nerveux central (SNC) grâce au système afférent (fibre de type 1) relié aux IHCs (**Figure 11**). Chez les mammifères, les synapses afférentes sont spécialisées selon la forme et la fonction. Le premier acteur relais impliqué est une synapse inhabituelle. En effet, il s'agit d'une synapse à ruban, présente uniquement dans

les systèmes sensoriels. Les synapses à ruban permettent de transmettre l'information sonore avec une grande précision temporelle grâce à une libération de neurotransmetteurs rapide et soutenue dans la durée. La synapse à ruban contient un ruban présynaptique, ancré grâce à la molécule BASSOON dans la membrane plasmique de la zone active de libération des vésicules synaptiques par exocytose. Ces rubans présynaptiques concentrent des vésicules au voisinage des canaux calciques présynaptiques, permettant une libération de neurotransmetteurs et un réapprovisionnement en vésicules rapide et synchronisée (Safieddine, El-Amraoui, et Petit 2012). La protéine RIBEYE est le composant majeur des rubans synaptiques et est indispensable à leur formation (Schmitz, Königstorfer, et Südhof 2000). Cette synapse est glutamatergique. La libération de glutamate permet l'activation post-synaptique des récepteurs AMPA du côté des neurones afférents auditifs. Une des particularités de la synapse à ruban est que la libération de neurotransmetteurs est proportionnée à la dépolarisation de la IHC, contrairement à une synapse conventionnelle qui nécessite l'arrivée d'un potentiel d'action (PA) (Glowatzki et Fuchs 2002).

En dehors des fibres afférentes, il existe également des fibres efférentes. Celles-ci permettent d'innover au niveau des IHCs les dendrites des fibres de types 1 du nerf auditif et libèrent des neurotransmetteurs de type acétylcholine, acide gamma-aminobutyrique (GABA) et la dopamine mais également d'autres neuromodulateurs tels que le calcitonine gene-related peptide (CGRP) (Fex et Altschuler 1986; Adams, Mroz, et Sewell 1987). Les OHCs, quant à elles, sont principalement reliées à des efférences qui libèrent de l'acétylcholine (P. Dallos et al. 1997).

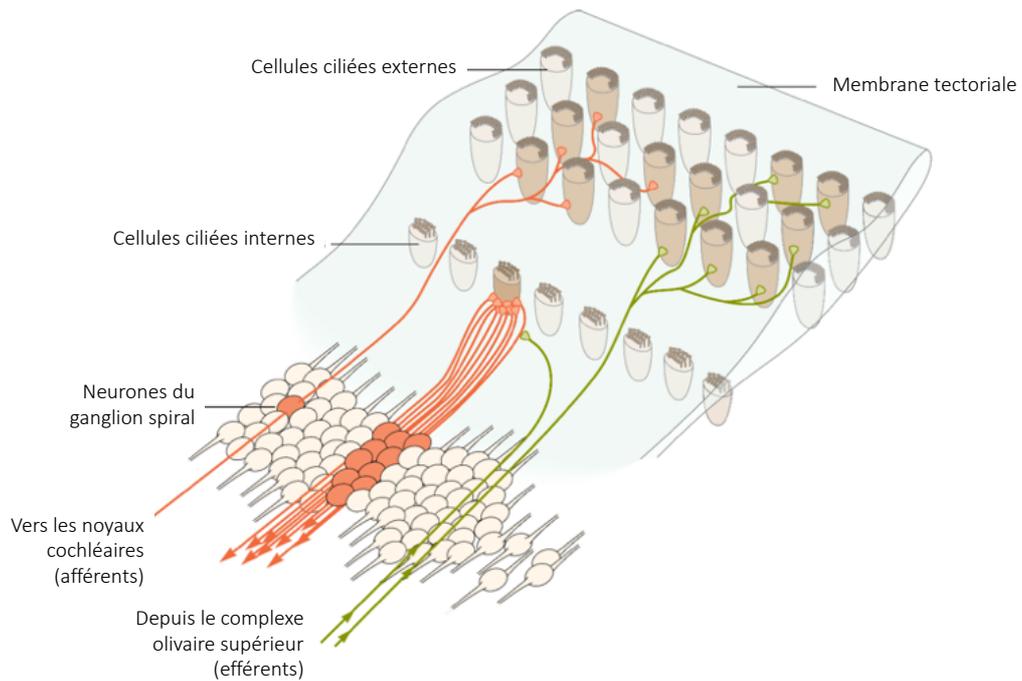


Figure 11 : Innervation des cellules ciliées de la cochlée mature.

Schéma illustrant l'innervation des cellules ciliées. Chaque cellule ciliée interne est innervée par une quinzaine de fibres afférentes de type 1 du ganglion spiral. Les cellules ciliées externes quant à elles sont innervées par les afférences de type 2, ainsi les efférences. Modifié de Kandel, 2012.

2. Traitements centraux de l'information auditive

Notre environnement fourmille de bruits : une oreille humaine mature peut détecter des sons dont la fréquence va de 20 Hz à 20 kHz. Dans un environnement naturel, l'oreille humaine capte des niveaux d'intensité acoustique compris entre 0 et 120 dB. Cette remarquable propriété de tonotopie fréquentielle par la cochlée n'est pas suffisante pour une analyse complète du son : il manque d'autres informations sonores telles que la détection des interruptions du son, la localisation de la source sonore, la discrimination temporelle, l'intensité du son ou l'apprentissage perceptuel pour parfaire l'information sonore. C'est là où les relais et le cortex auditif rentrent en jeu et commencent le véritable travail d'audition qui est de décrypter, analyser et interpréter l'information véhiculée par l'enveloppe acoustique d'un son.

2.1. Anatomie du système auditif central

Le système auditif central commence par le noyau cochléaire où les fibres afférentes du nerf auditif envoient leurs projections jusqu'au cortex auditif. De la cochlée au cortex auditif, les voies ascendantes passent par quatre régions auditives essentielles : les noyaux cochléaires, le complexe olivaire supérieur, le colliculus inférieur et enfin le thalamus et possèdent chacune un rôle dans le décodage de l'information sonore. En plus de recevoir l'information ascendante depuis la cochlée, le cortex auditif peut lui-même projeter de nombreuses fibres nerveuses vers les structures auditives sous corticales : on parle de voies auditives descendantes. Ma thèse portant sur l'étude des déficits centraux, je détaillerai les structures dans l'ordre de succession de la voie primaire et les voies auditives associées. Je m'attarderai plus particulièrement sur les nerfs cochléaires et les noyaux cochléaires, zones anatomiques d'intérêt.

2.1.1. Les relais corticaux du tronc cérébral

a) Les nerfs cochléaires et le ganglion spiral

Les neurones auditifs afférents ont leur corps cellulaire dans le ganglion spiral. Le ganglion spiral tire son nom de sa particularité à former une spirale de la base à l'apex de la cochlée. Les axones des neurones auditifs se regroupent dans le modiulus et forment le nerf cochléaire. Au sein des cellules ciliées, une alternance dépolarisation/repolarisation suit, cycle par cycle la fréquence de la stimulation sonore : il s'agit du potentiel récepteur. Le potentiel récepteur des IHCs régite la libération dépendante du Ca^{2+} , activant les récepteurs du glutamate sur le bouton afférent, ce qui entraîne des potentiels post-synaptiques excitateurs (EPSP) dans les neurones

du ganglion spiral (*Spiral Ganglion Neuron*, SGN) (Corey et Hudspeth 1979; Robertson et Paki 2002). Suite à l'activation d'un nombre de récepteurs glutamatergiques, les courants résultants dépolarisent le neurone, déclenchant un potentiel d'action au niveau de l'habenula perforata à proximité des connexions post-synaptiques. Cette proximité permettrait de réduire la durée de charge de la membrane, permettant aux SGNs de répondre au stimulus présynaptique avec une grande précision temporelle. Les SGNs possèdent également une excitabilité phasique qui les rend capable de filtrer des EPSP qui ne sont pas provoqués par la libération synaptique : cette capacité leur confère une amélioration de la précision de la transmission du signal (Rutherford et Moser 2016). Dans le ganglion spiral, les neurones de type I peuvent répondre à des stimulus sonores qui varient plus de mille fois en intensité sonore, en variant leur réponse grâce à une grande hétérogénéité de leurs caractéristiques (taux de décharge, seuil de réponse...). Par conséquent, les neurones de type I ont été classifiés en fonction de leurs caractéristiques physiologiques.

Ces cellules ont un corps cellulaire large, sont bipolaires et leurs axones centraux sont myélinisés et transmettent l'information sensorielle auditive au noyau cochléaire. Une cellule ciliée interne mature peut être connectée par 10 à 20 neurones du ganglion spiral selon la tonotopie (**Figure 13**). Basé sur leur fréquence de décharge et leur seuil d'activation, trois sous-types de neurones de type I ont été proposés : les neurones à basse activité spontanée (*low spontaneous rate*, $<0.5 \text{ spikes/s}$) mais à haut seuil d'activation qui concernent environ 15% des neurones, les neurones à haute activité spontanée (*high spontaneous rate*, $>18 \text{ spikes/s}$; 60% des neurones) mais à bas seuil d'activation, et les neurones d'activité intermédiaire (*medium spontaneous rate*, 25% des neurones) (M. C. Liberman 1978; Winter, Robertson, et Yates 1990; Taberner et Liberman 2005). Les profils d'activité spontanée sont corrélés à la sensibilité des seuils acoustiques : les neurones possédant le seuil acoustique le plus faible (neurones à bas seuil) sont à haute activité spontanée, les neurones à moyen seuil sont les neurones à moyenne activité spontanée et les neurones à haut seuil sont à basse activité spontanée. Les neurones à bas seuil innervent préférentiellement le côté abneural (côté pilier) des IHCs face (i.e. la région faisant face aux OHCs) alors que les neurones à haut seuil innervent préférentiellement le côté neural (côté modiolaire) de la IHC, face aux fibres afférentes (M. C. Liberman 1982a), montrant une caractérisation synaptique des réponses neuronales (**Figure 12**).

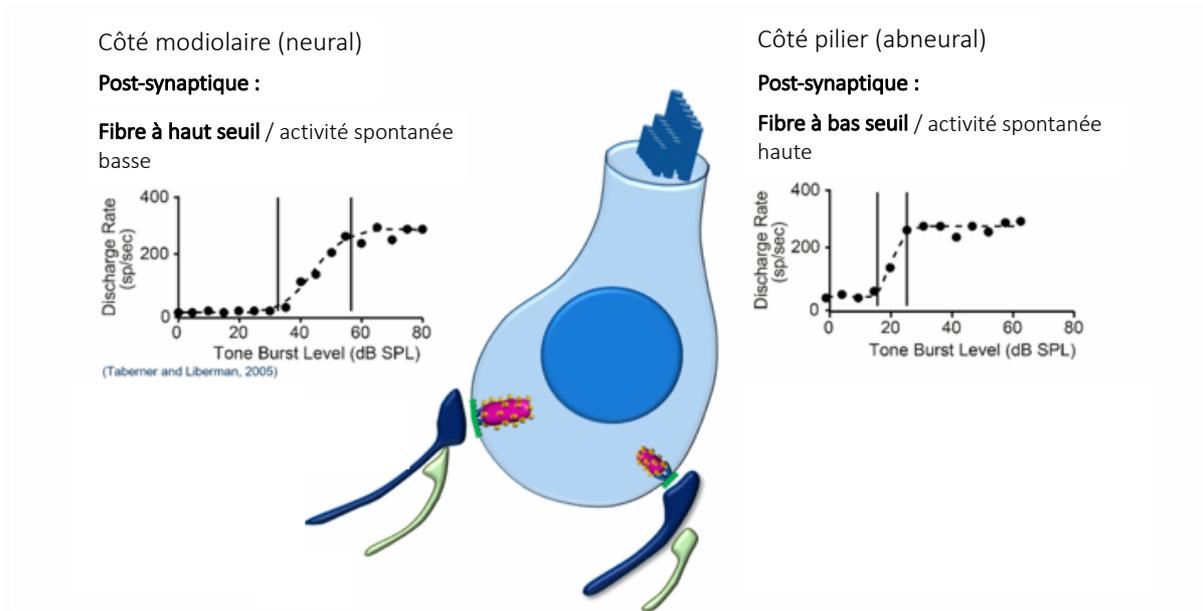


Figure 12 : Propriétés synaptiques d’une cellule ciliée interne et de ses fibres associées.

Schéma d’une IHC qui représente l’innervation par les fibres à haut et bas seuil. Du côté modiolaire, la IHC est innervée par des SGNs à haut seuil possédant une activité spontanée basse. Du côté pilier, elle est innervée par des SGNs à bas seuil possédant une activité spontanée haute. Adapté de Philippe Jean

Bien que les différentes classes de SGNs de type 1 aient été caractérisées physiologiquement et anatomiquement, une compréhension des voies moléculaires caractérisant chaque sous-type a tout récemment émergé grâce au profil transcriptomique et a permis de confirmer trois sous-classes de SGNs de type 1 (Shrestha et al. 2018; S. Sun et al. 2018; Sherrill et al. 2019).

Les cellules ganglionnaires de type 2, minoritaires, diffèrent par une morphologie plus petite, sont pseudo-monopolaires (possèdent un axone unique) et ne sont pas myélinisées (N. Y. Kiang et al. 1982; Berglund et Ryugo 1986). Un neurone du ganglion spiral de type 2 peut contacter jusqu’à une douzaine de OHCs (**Figure 13**). Le principal marqueur des SGNs de type 2 est la périphérine (Hafidi, Després, et Romand 1993). Ces afférences ne transmettent pas d’information auditive mais rendent compte aux centres supérieurs de l’état de contraction des cellules ciliées et informent de potentielles lésions cochléaires (Liu, Glowatzki, et Fuchs 2015).

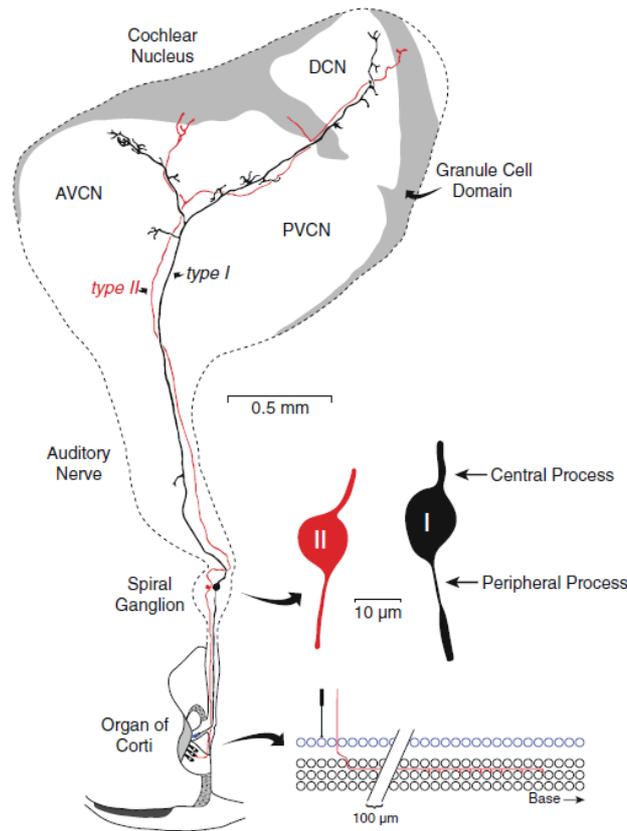


Figure 13 : Schéma des neurones ganglionnaires spiraux avec leurs terminaisons centrales et périphériques.

Les neurones du ganglion spiral de type 1 innervent les IHCs et les neurones du ganglion spiral de type 2 innervent les OHCs. Ces cellules ganglionnaires projettent dans les noyaux cochléaires (Dabdoub et al. 2016).

Les neurones du nerf auditif conservent la tonotopie cochléaire grâce à l'innervation des fibres nerveuses à l'apex de la cochlée qui répondent aux basses fréquences alors que les fibres innervant la base de la cochlée répondent aux hautes fréquences. Ces nerfs auditifs vont se prolonger jusque dans les noyaux cochléaires. L'innervation varie selon les espèces mais en général, il y a trois fois plus de neurones de type 1 à la base de la cochlée qu'à l'apex. De même, à l'apex de la cochlée, il y a deux fois plus de contacts synaptiques formés entre les neurones de type 2 et les cellules ciliées externes apicales (Ryugo 1992)(pour revue, (Rubel et Fritzsich 2002).

b) Les noyaux cochléaires

Les noyaux cochléaires sont les premiers relais de la voie auditive ascendante et se situent dans le tronc cérébral, plus précisément dans le bulbe rachidien (partie inférieure du tronc cérébral) (**Figure 15**). Les noyaux cochléaires se divisent en trois régions : le noyau cochléaire antéro-

ventral antérieur (AVCN), le noyau cochléaire postéro-ventral (PVCN) et le noyau cochléaire dorsal (DCN). Ils reçoivent les axones des fibres afférentes de type 1 et 2 du ganglion spiral. Ces fibres afférentes sont disposées de façon à conserver la tonotopie cochléaire : les fibres qui proviennent de l'apex de la cochlée restent à la surface des noyaux cochléaires alors que les fibres provenant de la base de la cochlée pénètrent plus profondément à l'intérieur des noyaux, permettant une analyse très fine des impulsions électriques. Ainsi une première partie du traitement du signal (intensité, durée, fréquence du stimulus sonore) est décodée grâce aux noyaux cochléaires.

Cette division du noyau cochléaire en sous-régions se base, en plus de l'innervation, sur les différentes populations de neurones qui composent le noyau cochléaire. A l'aide de colorations (de Golgi ou de Nissl qui marquent les corps cellulaires et l'arbre dendritique), plusieurs populations distinctes de neurones ont été décrites et sont distinctement distribuées dans les sous-régions précédemment décrites (Osen et Roth 1969; Kane 1974; Tolbert, Morest, et Yurgelun-Todd 1982; Tolbert et Morest 1982; Browner et Baruch 1982; Wu et Oertel 1984). Le noyau cochléaire ventral se compose de trois types majeurs de cellules :

- Les cellules « en buisson » (*bushy cells*) sont caractérisées par une arborisation dendritique en forme de buisson. Ces cellules reçoivent jusqu'à une vingtaine de boutons synaptiques qui sont des synapses nerveuses axosomatiques et possèdent de nombreux sites de libération des neurotransmetteurs connectant les autres cellules en buisson de l'AVCN. Parmi ces boutons synaptiques, on retrouve en majorité des terminaisons synaptiques géantes appelées « *endbulb of Held* » qui entourent une partie importante du soma de la cellule sphérique en buisson. Ces *endbulb of Held* qui comportent plusieurs dizaines voire centaines de zones actives garantissent une libération coordonnée de neurotransmetteurs et permettent une transmission fidèle et rapide de l'information sonore. Les *endbulb of Held* permettent au nerf auditif de transmettre l'activité spontanée spécifiquement aux cellules sphériques en buisson avec une grande fidélité. Ces cellules sphériques en buisson se projettent vers les noyaux olivaires supérieurs latéral et médial où la précision de la synchronisation du signal est nécessaire pour une localisation précise du son (Grothe, Pecka, et McAlpine 2010b). Cependant il existe une autre catégorie de terminaisons nerveuses contactant les cellules globulaires en buisson. Ces terminaisons ont été décrites comme des *modified endbulbs* (Harrison et Irving 1966) en raison de leur ressemblance avec les *endbulb of Held*. Les cellules globulaires en buisson envoient leurs projections vers le noyau médian du corps trapézoïdal, suggérant un rôle des cellules globulaire dans la localisation binaurale.

Ces cellules en buisson sont redoutablement efficaces pour traiter les informations temporelles grâce à une préservation de la structure temporelle des entrées. Elles sont utilisées pour tester l'audition grâce aux potentiels auditifs évoqués (en anglais, Auditory Brainstem Responses, ABRs). Les ABRs sont des mesures d'ondes survenant environ 1,5 à 7ms après la stimulation et rendant compte de l'activité des cellules dont celle des cellules en buisson.

- les cellules étoilées se divisent en deux sous-catégories. La première sont les cellules étoilées de type T (*T-stellate cells*) (Osen et Roth 1969; Brawer, Morest, et Kane 1974) dont les axones traversent le corps trapézoïdal et qui sont excitatrices. Elles sont spécialisées dans le codage des caractéristiques spectrales des sons et projettent vers le colliculus inférieur. La deuxième sont les cellules étoilées de type D (*D-stellate cells*) qui envoient leurs projections vers le noyau cochléaire dorsal et sont glycinergiques (Doucet et Ryugo 1997). Les cellules étoilées de type D répondent aux stimuli comme les sons en apportant une inhibition qui permet de définir le traitement du son aux neurones cibles. Cette inhibition glycinergique aide à améliorer la précision temporelle des informations encodées.

- Les cellules de type « pieuvre » sont des cellules excitatrices qui reçoivent des entrées nerveuses auditives excitatrices grâce à des petits boutons synaptiques sur leur soma et sur leurs dendrites. Ces cellules reçoivent les hautes fréquences sur leurs dendrites et les basses fréquences sur leur soma, ce qui compense le retard du nerf auditif. Ensemble, ces cellules forment le réseau neuronal ascendant de l'AVCN.

Dans le DCN, lieu de projection des cellules étoilées en D, les informations spectrales obtenues sont utilisées pour la localisation de sons, ajuster la sensibilité de l'oreille et la reconnaissance des sons (Oertel et al. 2011). Contrairement à l'AVCN, le DCN se caractérise par son organisation laminaire. En effet, il se divise en trois couches, chaque couche possédant des cellules avec des morphologies et des connexions distinctes (Oertel et Young 2004). La couche 1, qui est la couche moléculaire et la couche la plus externe, se caractérise par des petites cellules inhibitrices étoilées (GABAergique). Vient ensuite la couche 2, couche fusiforme ou pyramidale majoritairement excitatrice avec des cellules granulaires, un grand nombre de cellules fusiformes (également appelés pyramidaux) (Oertel et Young 2004; Mugnaini, Warr, et Osen 1980), cellules unipolaires en brosse (*unipolar brush cells*). Cette couche comporte également des neurones inhibiteurs : cellules de Golgi (GABAergiques) et cellules en roue (en anglais, *cartwheel cells*) (glycinergiques). En dernier, vient la couche 3, couche polymorphe et couche la plus profonde qui possède des axones des fibres nerveuses auditives, les cellules géantes (excitatrices) et des cellules tuberculoventrales (glycinergiques). Les cellules

excitatrices fusiformes reçoivent des entrées auditives via les axones des cellules granulaires et envoient leurs axones vers le colliculus inférieur dans le mésencéphale. Ces cellules sont contrôlées par inhibition par les cellules en roue, les cellules étoilées et les cellules tuberculoventrales.

c) Le complexe de l'olive supérieure

Le deuxième relais majeur du tronc cérébral est le complexe olivaire supérieur (SOC). Il se compose de plusieurs noyaux : l'olive latérale supérieure (LSO) (olive principale), l'olive médiane supérieure (MSO) et le noyau médian du corps trapézoïde (MNTB), qui forment un réseau neuronal dense avec une tonotopie cochléaire conservée (**Figure 14**). Le MSO reçoit les afférences issues de l'AVCN ipsilatéral et controlatéral alors que le LSO reçoit des afférences excitatrices de l'AVCN ipsilatéral et des afférences inhibitrices glycinergiques du MNTB ipsilatéral (elle-même recevant des connexions excitatrices de l'AVCN controlatéral) (Kandler, Clause, et Noh 2009). On parle de projections nerveuses croisées car les fibres nerveuses croisent la ligne médiane du bulbe rachidien.

Le SOC est le premier relais à recevoir et faire converger les informations binaurales provenant des deux cochlées. Par la comparaison des entrées cochléaires des deux côtés, cette région participe à la localisation spatiale des sources sonores (Spitzer et Semple 1995). Plus précisément, la localisation du son s'effectue grâce à l'analyse des décalages temporels (délais interauraux) des basses fréquences des informations arrivant des deux oreilles (dans le MSO) et grâce à l'analyse des différences d'intensité (différences d'intensité interaurale des niveaux sonores) des stimuli des fréquences hautes dans le LSO (Purves et al. 2015).

Un deuxième rôle majeur du SOC est son rôle de rétrocontrôle sur les cellules sensorielles de la cochlée. Face à un son de forte intensité, des lésions peuvent en découler mais la cochlée possède un système de protection face aux traumatismes acoustiques. En effet les neurones cholinergiques du MSO contactent les OHCs et les neurones du LSO projetés sur les boutons afférents synaptiques contactent les IHCs. En plus de ces contacts des cellules ciliées provenant du complexe olivaire, il existe des circuits réflexes de protection. Les noyaux du SOC et d'autres noyaux moteurs du tronc cérébral activent la contraction des muscles de l'oreille moyenne agissant sur la mécanique de la chaîne tympano-ossiculaire afin de réduire l'intensité du bruit. Ces réflexes sont le réflexe stapédien (réflexe le plus important chez l'homme) qui déclenche la contraction du muscle de l'étrier (muscle stapédien) par le nerf facial et le réflexe du muscle du marteau, déclenché après stimulation du nerf trijumeau.

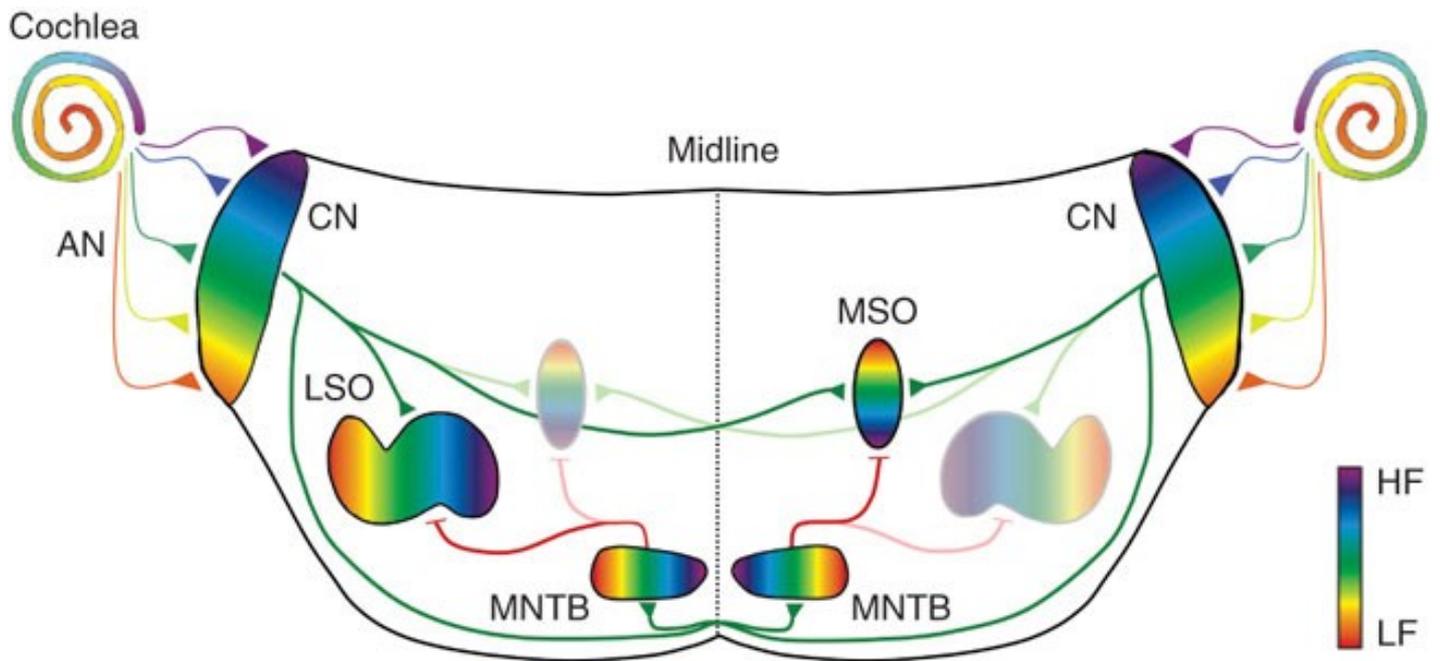


Figure 14 : Organisation tonotopique des premiers relais de la voie auditive.

Schéma des voies auditives montrant les différentes connexions du tronc cérébral. Les nerfs innervant l'apex de la cochlée transmettent les informations des hautes fréquences (en violet), tandis que ceux innervant la base transmettent les informations des basses fréquences (en rouge) en projetant dans les noyaux cochléaires. La tonotopie des informations sonores est maintenue le long des voies auditives.

Les connexions excitatrices sont montrées en vert. Les connexions inhibitrices sont montrées en rouge. AN : nerf auditif, CN : noyaux cochléaires, LSO : olive latérale supérieure, MSO : olive médiane supérieure, MNTB : noyau médian du corps trapézoïde, HF : hautes fréquences, LF : basses fréquences. (Kandler, Clause, et Noh 2009)

d) *Le lemnisque latéral*

Bordé par le complexe de l'olive supérieure, le lemnisque latéral est composé de deux noyaux : le noyau dorsal (DNLL) et le complexe ventral (VCLL). Le noyau dorsal reçoit des afférences de l'olive supérieure latérale. Il reçoit également des afférences inhibitrices de l'olive médiane supérieure ipsilatérale, des afférences excitatrices du noyau cochléaire contralatéral et se compose de neurones binauraux sensibles à des variations temporelles et à des différences d'intensité (Pecka et al. 2007). Grâce à cette binauralité, il permet d'améliorer la précision de la localisation de la source sonore (Grothe, Pecka, et McAlpine 2010a). Quant au complexe ventral, il se subdivise en un noyau ventral et un noyau intermédiaire. Le complexe ventral a pour particularité de recevoir des projections des noyaux cochléaires contralatéraux et qui évitent le complexe de l'olive supérieure latérale. Ces voies véhiculent donc l'information d'une seule oreille : c'est une voie monaurale. Les neurones monauraux analysent les informations sonores d'une seule oreille indépendamment de la fréquence, de l'intensité et

n'ont pas une distribution tonotopique précise. Ils sont cependant impliqués dans l'analyse temporelle d'un son complexe, essentiel à la compréhension du langage.

e) Le colliculus inférieur

La quasi-totalité des stimuli auditifs converge au niveau du colliculus inférieur (IC) qui est le centre auditif du mésencéphale (**Figure 15**), qu'ils soient passés ou non par le lemnisque latéral. L'IC se divise en deux parties : une partie externe dorsale et une partie centrale. La partie dorsale ne possède aucune tonotopie : elle est associée aux voies auditives non primaires et reçoit des fibres auditives excitatrices et fibres descendantes du cortex somatosensoriel. Cependant, elle participe à l'analyse complexe de langage et l'identification de nouveaux sons (Lumani et Zhang 2010).

La partie centrale, comme tous les relais auditifs à l'exception du VCLL et de la partie dorsale de l'IC, conserve l'organisation tonotopique grâce à une organisation en couches répondant chacune à la même fréquence. Cette organisation permet une représentation spatiale de l'espace auditif. En effet le noyau central reçoit les basses fréquences de l'oreille ipsilatérale et les hautes fréquences de l'oreille controlatérale. Cette propriété lui permet de jouer un rôle important dans la localisation spatiale des sons et dans la perception des sources sonores (Irvine 1992; Irvine 1986). Les neurones de l'IC sont contrôlés par les fibres descendantes du cortex et du thalamus. En lien avec le colliculus supérieur qui est un centre intégrateur recevant des flux visuels, il participe au traitement des informations auditives et visuelles.

2.1.2. Le thalamus

Le thalamus auditif, situé dans le corps géniculé médian (MGB, *Medial Geniculate Body*), se subdivise en trois parties. La principale division ventrale est organisée de manière tonotopique : les sons graves sont traités dans les couches profondes alors que les sons aigus sont traités dans les couches superficielles, cette organisation tonotopique se retrouve chez de nombreux mammifères tels que la souris (Hackett et al. 2011), le lapin (Cetas et al. 2003), le chat (Rouiller et al. 1989), le singe (Morel, Garraghty, et Kaas 1993; Kaas et Hackett 1998; Jones 2003). Le MGBv reçoit les innervations des fibres ascendantes de l'IC qui sont majoritairement du côté ipsilatéral. Mais il reçoit également des informations de l'IC controlatéral, conférant au thalamus auditif des propriétés monaurales et binaurales. Les neurones du MGBv projettent dans les aires primitives du cortex auditif qui possèdent également une organisation tonotopique (Morel et Imig 1987; Read et al. 2008; Honma et al. 2013). Grâce à la convergence des différentes afférences des voies auditives primaires, les neurones du MGBv intègrent des

combinaisons de sons avec différentes caractéristiques spectrales et temporelles mais également une sélectivité des intervalles de temps spécifiques entre deux fréquences ainsi que l'intensité des messages.

Les divisions médianes (ou magnocellulaire) et dorsales du MGB sont moins bien organisées et sont davantage considérées comme des aires associatives. La division dorsale (MGBd) est composée de noyaux non tonotopiques qui reçoivent des afférences de l'IC dorsal (Calford et Aitkin 1983) ainsi que du système somato-sensoriel et qui envoient leurs projections vers les aires secondaires non tonotopiques du cortex auditif (C. C Lee et Winer 2008). La division médiane reçoit des afférences de l'IC et envoie ses projections vers toutes les aires du cortex auditif (Hashikawa et al. 1991; C. C Lee et Winer 2008) et vers l'amygdale (LeDoux, Farb, et Romanski 1991).

Les voies auditives ascendantes se définissent ainsi en trois systèmes parallèles majeurs : un système qui conserve la tonotopie à chaque niveau (IC ventral, MGBv et enfin l'aire auditive primaire), un système non tonotopique qui part de l'IC dorsal et qui projette sur les aires secondaires auditives et un système qui reçoit des afférences de l'IC, du système somato-sensoriel et qui projette dans les voies auditives primaires, secondaires et associatives. Ces systèmes d'intégration permettent aux neurones du MGB une intégration complète des caractéristiques spatiales, spectrales et temporelles du stimuli sonore. Enfin l'information sonore est transmise au cortex auditif (**Figure 15**).

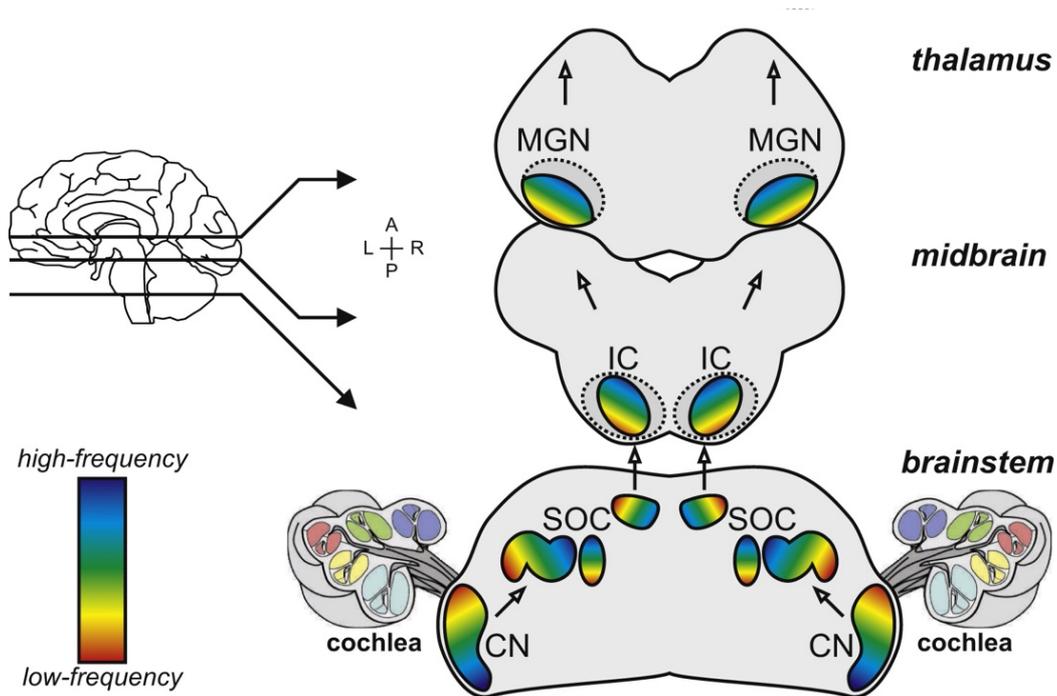


Figure 15 : Organisation des voies auditives centrales.

Différents relais synaptiques permettent la transmission de l'information sonore dans la cochlée jusqu'au cerveau en passant par les nerfs cochléaires, le complexe de l'olive supérieure, le colliculus inférieur et le thalamus (Saenz et Langers 2014).

2.2. Le cortex auditif

2.2.1. Description anatomique du cortex auditif

Le cortex auditif représente environ 8% de la surface corticale du cerveau, se localise dans la partie supérieure du lobe temporal. Il se divise en plusieurs aires corticales dont le nombre varie fortement selon les espèces. Chez le rat, on en compte trois (Shi et Cassell 1997) à cinq (Polley et al. 2007), chez le chat treize (Charles C. Lee et Winer 2005) et chez le macaque douze ou plus (Kaas et Hackett 1998). Mais chez tous les mammifères, on distingue un cœur d'aires primaires qui s'organisent selon un gradient tonotopique et des aires secondaires (appelés *belt* et *parabelt*) qui s'organise en ceinture autour des aires primaires (Caviness 1975) (**Figure 16**). Chaque région est caractérisée par une architecture spécifique, des jonctions thalamo-corticales et cortico-corticales et des propriétés fonctionnelles précises. Des équipes avancent l'existence de trois aires primaires tonotopiques en se basant sur le modèle du chat qui s'approcherait le plus du modèle universel : l'aire primaire (*primary area*, A1), l'aire antérieure (*Anterior Auditory Field* AAF) et l'aire postérieure (*Posterior Auditory Field*, PAF) ainsi que d'une

douzaine d'aires secondaires (*secondary area*, AII (ou A2)). La distinction entre les différentes régions auditives dépend de leur organisation et de leur connectivité fonctionnelle.

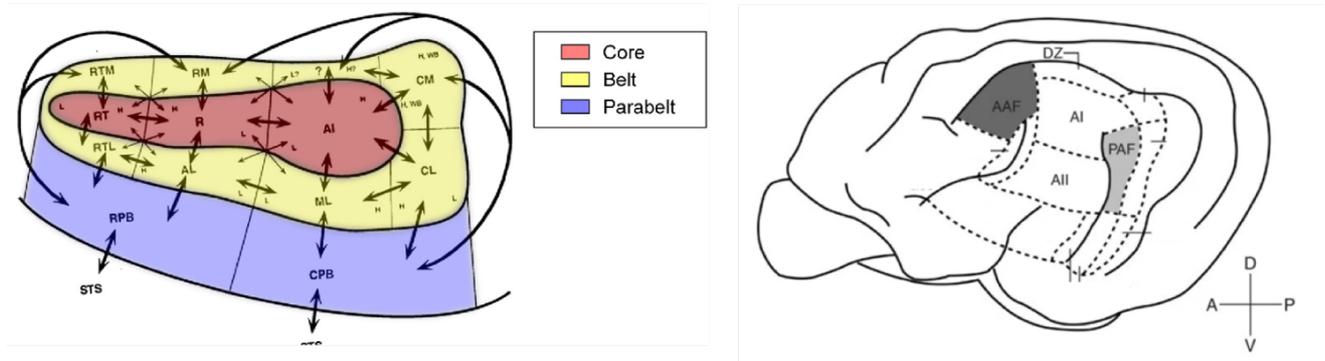


Figure 16 : Modèle d'organisation hiérarchiques des aires chez le macaque et le chat.

A gauche, chez le macaque, les premières publications scientifiques organisent les aires primaires en un cœur (en rouge, « core ») et les aires secondaires en ceinture autour des aires primaires (jaune « belt » et bleu « parabelt »). Adapté de (Kaas et Hackett 1998).

A droite, chez le chat, l'existence de trois aires primaires est suggérée : Aire primaire A1, aire antérieure AAF et aire postérieure PAF. Une douzaine d'aires secondaires entourerait les aires primaires : aire secondaire A2, zone dorsale du cortex auditif DZ. Cette organisation est représentée selon un axe dosal (D) – ventral (V) et un axe antéro (A)-postérieur (P).

La plus grande aire primaire (A1) est caractérisée par une organisation cellulaire en six couches et est considérée comme la destination principale des voies auditives ascendantes. En effet, elle reçoit les informations auditives du MGB (Romanski et LeDoux 1993). Les neurones sont disposés selon des bandes d'isofréquences organisées tonotopiquement, possèdent des latences de réponse plus courtes et une précision temporelle plus fine que les neurones des aires secondaires. Cette localisation permettrait de dessiner une carte des neurones activés par fréquence mais leur activité dépend également des caractéristiques du stimulus : fréquence, intensité et perception spatiale (**Figure 17**).

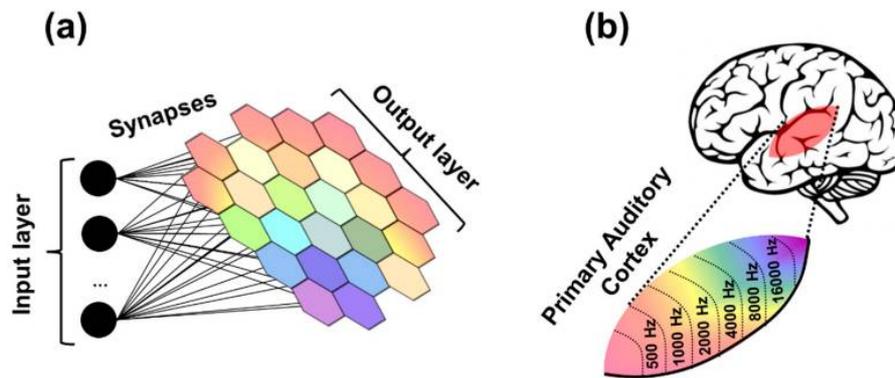


Figure 17 : Cartographie des réseaux neuronaux

A/ Exemple de cartographie des neurones en fonction des fréquences reçues depuis les nerfs afférents.

B/ Le cortex auditif primaire est organisé selon une tonotopie précise (Pedró et al. 2019).

Les afférences auditives provenant des régions sous-corticales se concentrent essentiellement dans la couche 4 du cortex auditif primaire (A1) (B. Ahmed et al. 1997) et permettent la convergence d'informations relatives à la perception du stimuli sonore avec une organisation tonotopique bien précise (Ehret 1997). Les couches 2 et 3 de A1, quant à elles, reçoivent également des informations sur les stimuli sonores mais sans information tonotopique. En plus de ces afférences provenant du thalamus, le cortex auditif reçoit également des afférences des aires secondaires et d'autres cortex (Rockland 1998) (Charles C. Lee et Winer 2005).

Quant aux aires secondaires, l'aire auditive ventrale AuV et l'aire auditive dorsale AuD sont caractérisées anatomiquement par une diminution de l'épaisseur corticale contrastant avec une augmentation de la densité neuronale. Contrairement aux aires primaires, les aires secondaires ne possèdent pas une organisation tonotopique claire car elles sont innervées par des afférences provenant des aires non tonotopiques du thalamus (Kimura et al. 2004). Cette différence d'afférences thalamiques induit ainsi un temps de latence de réponse plus long des neurones des aires secondaires en comparaison à ceux des aires primaires.

2.2.2. Description anatomique du cortex auditif et de ses populations neuronales

Le cortex possède un réseau neuronal extrêmement organisé, entre les fibres corticales afférentes et les corps cellulaires, dendrites ou axones d'une grande variété de neurones corticaux (Javier DeFelipe et Fariñas 1992). Les fonctions corticales sont étroitement dépendantes de leur organisation structurelle, de la diversité des cellules, de leurs interactions anatomiques et fonctionnelles. Le cortex est composé de deux populations de neurones

majoritaire : les neurones excitateurs également appelés neurones pyramidaux, qui sont glutamatergiques et les neurones inhibiteurs qui sont GABAergiques. Ces neurones sont répartis entre les différentes couches corticales. L'organisation laminaire du cortex se définit en six couches, allant de la couche la plus superficielle (couche 1) à la couche la plus profonde (couche 6) (Nieuwenhuys 1996) (**Figure 18**). La couche 1 (couche moléculaire – *molecular layer*) est la couche la plus superficielle avec une faible densité de corps cellulaires et se situe sous la pie-mère. Juste en dessous, la couche 2 (couche externe granulaire – *external granular layer*), est caractérisée par une forte concentration de neurones avec des petits corps cellulaires. Vient ensuite la couche 3 (couche externe pyramidale – *external pyramidal layer*) qui est fortement concentrée en neurones excitateurs qui s'orientent verticalement. La séparation anatomique entre la couche 2 et 3 est peu claire et n'a pas recueilli de consensus scientifique, d'où une désignation plus courante de couche 2/3 dans le modèle murin. La couche 4 (couche granulaire interne – *internal granular layer*) est caractérisée par une forte concentration de corps cellulaires de petite taille. La couche 5 (couche pyramidale interne – *intern pyramidal layer*) est caractérisée par une concentration hétérogène de neurones excitateurs plus larges qui se répartit verticalement. Vient ensuite la couche la plus profonde, la couche 6 qui contient une grande variété de neurones de diverses morphologies.

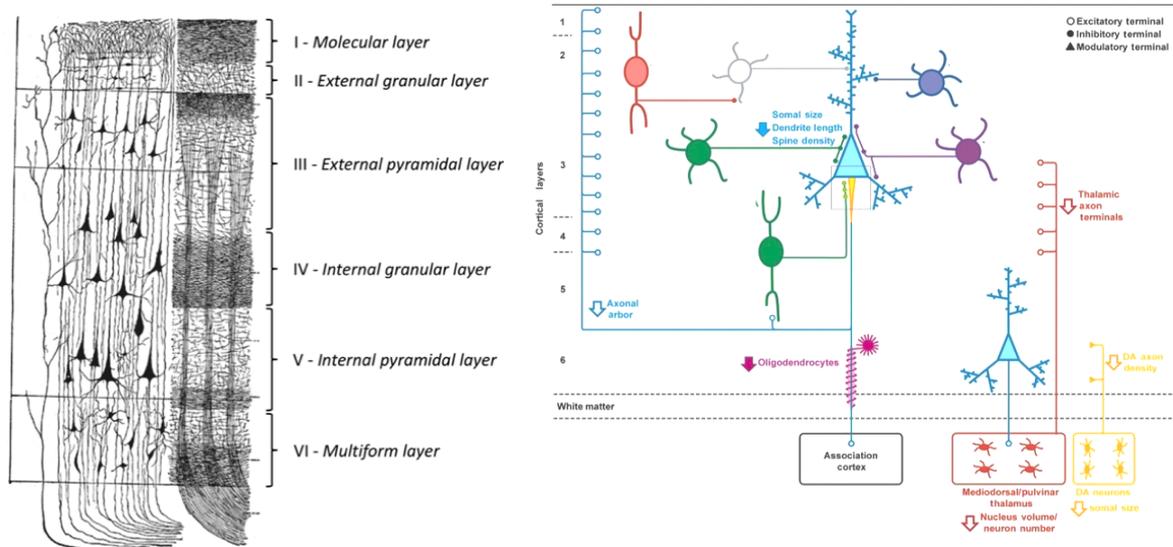


Figure 18 : Organisation du cortex en couches corticales et selon les populations neuronales.

A gauche, un schéma qui montre la variabilité de la densité neuronale en fonction des couches. L'épaisseur corticale s'organise en six couches différentes anatomiquement (adapté de H. Gray, 1918).

A droite, la répartition des différents neurones en fonction des couches. Les neurones pyramidaux excitateurs sont représentés par leur corps cellulaire en forme triangulaire. Il y a différentes terminaisons (excitatrices, inhibitrices) sur les axones et dendrites des neurones qui forment la connectivité du réseau.

Outre leurs distinctions anatomiques, les différentes couches corticales sont caractérisées par leur connectivité. En effet, les couches 1 et 4 reçoivent la majorité des afférences thalamiques sensorielles, les couches 2/3 soutiennent les connexions entre différentes aires corticales et les couches 5 et 6 sont les principales sources de projections thalamiques et sous-thalamiques (Bannister 2005).

Cependant, les caractérisations anatomiques des couches sont influencées par l'aire corticale dans laquelle elles se situent : dans le cas du cortex auditif, les aires primaires auditives et les aires secondaires auditives n'ont pas la même épaisseur corticale et n'ont pas la même densité cellulaire au sein de leurs couches (**Figure 19**).

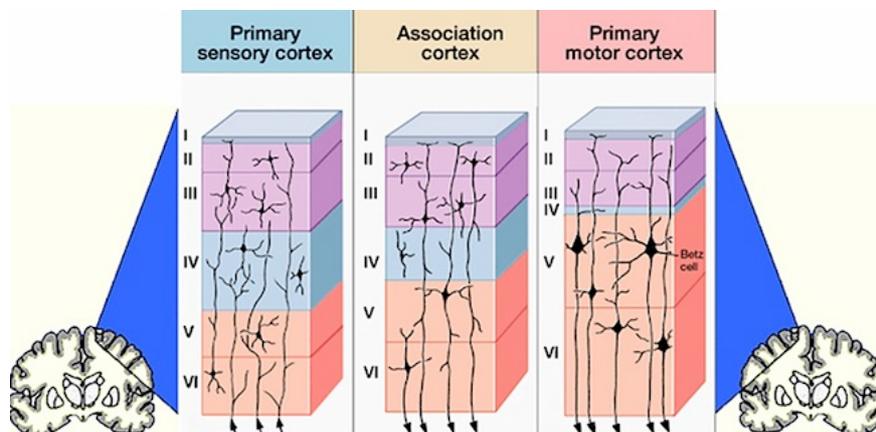


Figure 19 : La densité neuronale et l'épaisseur corticale des couches varient en fonction de l'aire et de sa localisation. (Rhawn Joseph, 2000)

Afin de mieux comprendre l'organisation anatomique et fonctionnelle du cortex, les différentes populations neuronales composant le cortex seront détaillées ci-dessous.

a) Les neurones excitateurs pyramidaux

Les neurones excitateurs représentent la majorité des neurones corticaux (environ 80% des neurones sont des neurones excitateurs). Les neurones excitateurs pyramidaux utilisent le glutamate comme neurotransmetteur (Baughman et Gilbert 1981) et sont localisés dans toutes les couches à l'exception de la couche 1 (Javier DeFelipe et Fariñas 1992). Ils tirent leur nom de leur morphologie particulière : leur corps cellulaire est de forme triangulaire et possède une longue dendrite principale apicale verticale orientée vers la surface corticale en direction de la pie mère et plusieurs petites dendrites basales qui émergent du corps cellulaire et qui se ramifient rapidement. Les dendrites possèdent des épines dendritiques (**Figure 20**). L'arborisation dendritique varie selon les couches et les aires corticales. Leurs axones se

développent à la base du corps cellulaire ou à la base d'une dendrite basale (**Figure 20**). Les terminaisons axonales forment des synapses et reçoivent les entrées synaptiques d'autres dendrites (voir pour revue Spruston 2008). En particulier, les synapses excitatrices privilégient le contact avec les épines dendritiques.

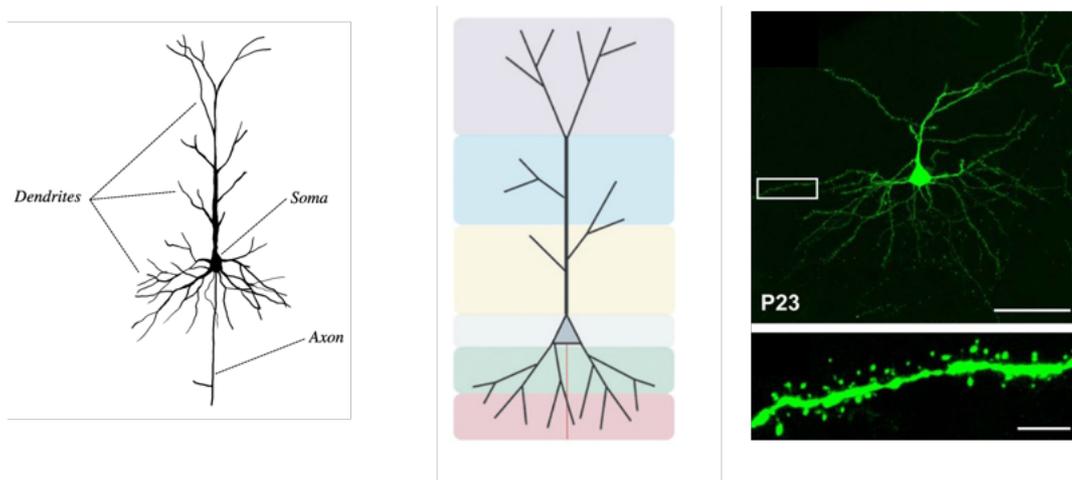


Figure 20 : Représentation d'un neurone excitateur pyramidal.

A gauche, un schéma simplifié d'un neurone pyramidal qui possède des dendrites qui émergent du corps cellulaire, un axone qui sort de la base du corps cellulaire.

Au milieu, les différentes morphologies du neurone pyramidal sont représentées en fonction de leur localisation. Le neurone pyramidal possède une dendrite apicale (partie colorée en violet) qui permet de recevoir les signaux synaptiques excitateurs. Le neurone pyramidal possède également des dendrites courtes et ramifiées à la base de son corps cellulaire (en vert, les dendrites, en gris, le corps cellulaire) et un axone (en rouge).

A droite, image d'un neurone pyramidal prise au microscope à fluorescence dans le cortex visuel du rat. Les dendrites possèdent des épines (agrandissement B) afin de permettre la connectivité entre différents neurones (Vidal et al. 2016).

Une certaine variabilité morphologique des neurones excitateurs existe en fonction des couches corticales ou des aires corticales : leur taille de corps cellulaire, leurs orientations dendritiques, le nombre de dendrites sont, en effet, variables (Chen et al. 2009). Il est même montré que les connexions synaptiques des neurones excitateurs sont dépendantes de la position du corps cellulaire du neurone. De même, les projections de leurs axones sur des sites synaptiques varient selon les neurones excitateurs (Brumberg, Hamzei-Sichani, et Yuste 2003; Kinnischtzke, Fanselow, et Simons 2016). Dans les couches superficielles, les neurones excitateurs qui projettent dans d'autres aires corticales dans les couches profondes ont des plus longues terminaisons nerveuses. Toutes ces variabilités morphologiques confèrent aux neurones excitateurs des fonctions bien précises avec des interactions définies, créant un microcircuit fortement organisé et défini (Lübke et Feldmeyer 2007).

En plus de leur caractérisation anatomique, il est possible de caractériser les neurones pyramidaux par leurs propriétés électrophysiologiques. En effet, basés sur leurs caractéristiques de décharge en réponse à une dépolarisation, les neurones excitateurs peuvent être catégorisés en trois classes : cellules à décharge régulière (*regular spiking* (RS)), cellules à décharge en bouffées (*intrinsic bursting* (IB)) et cellules à décharge en bouffées rythmiques rapides (*fast rhythmic bursting* (FRB), également appelées *non-inactivating bursting* (NIB)) (Chang et Luebke 2007) (Contreras 2004).

b) Neurones inhibiteurs

Les neurones inhibiteurs (également appelés interneurones) représentent environ 20% de la population neuronale et sont les neurones les plus diversifiés du système nerveux. Historiquement, ces interneurones désignaient les neurones à axone court qui effectuaient des projections localement dans le cortex, contrairement aux neurones pyramidaux qui effectuaient des connexions à longue distance (Ramon y Cajal, 1907). Les interneurones inhibiteurs sont également nommés neurones GABAergiques du fait de leur neurotransmetteur principal : l'acide γ -aminobutyrique (GABA) (Freund et Buzsáki 1996). Le GABA est synthétisé par deux enzymes : glutamate décarboxylase 65 (GAD 65) et glutamate décarboxylase 67 (GAD67) (Pinal et Tobin 1998). Les interneurones ont communément un corps cellulaire de petite taille et de forme arrondie. Malgré cet aspect commun, les interneurones sont très diversifiés et cette grande diversité a compliqué leur étude et leur classification. Quatre classifications sont actuellement proposées : une classification basée sur leurs caractéristiques morphologiques, une basée sur leurs caractéristiques électrophysiologiques, une basée sur leur connectivité et une basée sur l'expression de marqueurs génétiques (**Figure 21**) (Kepecs et Fishell 2014).

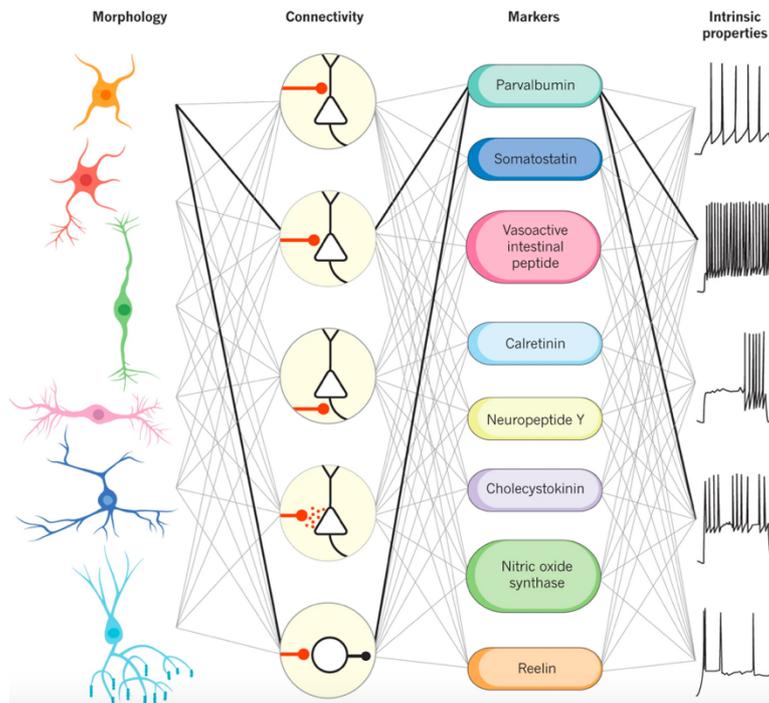


Figure 21 : Différentes classifications des interneurons.

Quatre classifications sont proposées (de gauche à droite) : une basée sur leur morphologie, une sur leur connectivité, une sur l'expression génétique de marqueurs et une sur leurs propriétés électrophysiologiques (Kepecs et Fishell 2014).

La première classification se base sur la morphologie et le site d'innervation des synapses sur les corps cellulaires (Freund et Buzsáki 1996; Javier DeFelipe 2002; Javier DeFelipe et al. 2013). Trois classes sont proposées.

c) Les cellules en panier (basket cells)

Les cellules en panier (*basket cells*) représentent 50% des interneurons inhibiteurs et sont localisées principalement dans les couches corticales profondes III, IV et V. Ces neurones possèdent une arborisation axonale en forme de panier et projettent sur les dendrites des neurones pyramidaux et des interneurons voisins.

d) Les cellules en chandelier

Découvertes tardivement, elles ont une morphologie ressemblant à un chandelier du fait de leur arbre axonal qui est composé de courtes rangées verticales de boutons présynaptiques appelés cartouches (*cartridges*). Elles se situent dans les couches II et VI et leurs connexions sont exclusives sur le segment initial de l'axone des neurones pyramidaux.

e) *Les cellules à inhibition dendritique*

Elles ciblent les dendrites des autres neurones et possèdent une grande variabilité dans leur morphologie axonale. Dans cette classe d'interneurones, on trouve les cellules de Martinotti, localisées dans les couches V/VI qui projettent leurs axones dans les couches superficielles pour innover la touffe dendritique des cellules pyramidales, fournissant ainsi une inhibition dendritique. Les cellules en double bouquet, comme l'indique son nom, possèdent une arborisation verticale dendritique double. Elles sont localisées dans les couches V/VI et leur axone contacte les dendrites des neurones pyramidaux. Les neurones bipolaires possèdent une dendrite à chaque extrémité de leur corps cellulaire. Leur axone innerve les dendrites des neurones pyramidaux.

Cette classification permet de regrouper les principales classes d'interneurones basées sur leur connectivité et morphologie. Mais une hétérogénéité de ces interneurones peut être encore additionnée par l'expression des marqueurs génétiques (DeFelipe 1997). Il est montré qu'une forte expression de trois protéines liant le calcium, à savoir la parvalbumine (PV), la calbindine (CB) et la calrétinine (CR) est présente seulement dans les neurones GABAergiques et non dans les neurones glutamatergiques (Markram et al. 2004; DeFelipe et al. 2013). En effet plus de 80% des neurones GABAergiques expriment au moins une de ces trois protéines liant le calcium, faisant de ces molécules un excellent marqueur des différents sous-populations de neurones GABAergiques (Brederode, Mulligan, et Hendrickson 1990; Kubota, Hattori, et Yui 1994; Yan, Brederode, et Hendrickson 1995; Gonchar et Burkhalter 1997; Xu, Roby, et Callaway 2010). Trois sous-classes d'interneurones ont été établies à l'aide de cinq marqueurs génétiques (Javier DeFelipe et al. 2013) (**Figure 22**).

La principale sous-classe d'interneurones exprime la parvalbumine (PV) qui est une protéine liant le calcium et qui représente environ 45% des interneurones et qui comprend les cellules en panier et les cellules en chandelier. Dans le cortex auditif, ces interneurones se répartissent dans les portions suivantes : 65% des interneurones de la couche IV, 30% des couches II/III et 45% des couches V/VI, répartition similaire aux autres aires corticales.

Une seconde sous-classe d'interneurones est caractérisée par la somatostatine (SST ou SOM) qui est un neuropeptide et représente environ 30% des interneurones répartis de façon homogène entre les différentes couches corticales. Cette répartition diffère dans les autres aires corticales qui concentrent ces neurones principalement dans les couches V/VI. Les cellules de Martinotti avec leur axone caractéristique dans la couche I sont les neurones exprimant la

somatostatine les plus abondants. D'autres interneurons exprimant la somatostatine avec des axones innervant le corps cellulaire d'autres neurones ont été identifiés (Ma et al. 2006).

Le troisième groupe contient les interneurons exprimant le peptide vasoactif intestinal (VIP) et représente environ 15% des interneurons, il inhibe les interneurons SOM et PV. Il contient également une protéine liant le calcium qui est la calrétinine (CR). Ils se concentrent dans la couche II/III dans le cortex auditif (Connor et Peters 1984).

Les neurogliaformes forment la quatrième classe d'interneurons et expriment la reeline et le récepteur à la sérotonine 3a (5HTR3a).

Enfin le dernier groupe d'interneurons contient les cellules mutlipolaires exprimant le neuropeptide Y (NPY) (S. Lee et al. 2010).

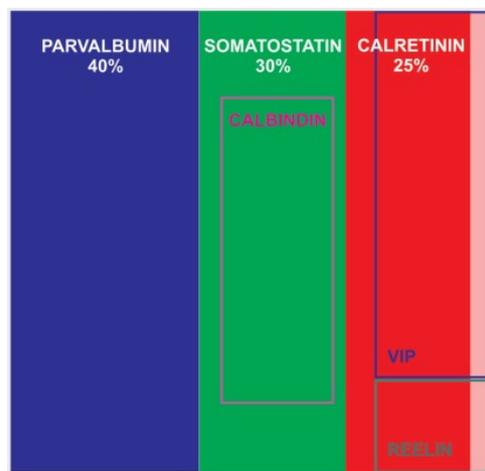


Figure 22 : Différentes catégories d'interneurons basées sur l'expression de marqueurs génétiques.

La principale classe est la classe d'interneurons exprimant la parvalbumine, un liant de calcium. Viennent ensuite les interneurons exprimant la somatostatine. Dans les neurones à somatostatine, il y a une portion d'interneurons qui expriment la calbindine. Dans la classe des interneurons exprimant la calrétinine, il y a des sous-classes d'interneurons qui expriment le peptide vasoactif intestinal et d'autres qui expriment la reeline (Hladnik et al. 2014).

Les interneurons peuvent être classés selon leur propriété de décharge. Il existe six catégories principales d'interneurons (DeFelipe et al. 2013).

Les neurones à décharge rapide (*Fast spiking* (FS)) (Connors et Gutnick 1990), caractérisé par un PA très court (inférieur à 0,5ms) causé par une repolarisation rapide de la cellule. Ces neurones ont la capacité de pouvoir soutenir une activité régulière sans adaptation à une haute fréquence (environ 500 HZ) pendant un laps de temps assez long (des centaines de

millisecondes) lors d'une forte stimulation (**Figure 23**). Ces interneurons se localisent dans les couches II à VI et comprennent les cellules en panier et les cellules en chandelier (**Figure 24**).

Les neurones à bouffées intrinsèques (*intrinsic bursting* (IB)) émettent des bouffées de PAs ou des PAs isolés lors de sursauts de dépolarisation (Kawaguchi et Kubota 1997). Ce type de décharge a été précédemment décrit avec les neurones glutamatergiques (**Figure 23**). Les cellules de Martinotti des couches V et VI, les cellules en double bouquet et les neurones bipolaires possèdent ce type de décharge.

Les interneurons à décharge irrégulière (*Irregular spiking* (IS)) déchargent une première bouffée de PA initiale qui va être suivi par des PA à intervalles irréguliers (**Figure 23**). Ce sont principalement des neurones bipolaires qui ont ce mode de décharge.

Les neurones non-adaptatifs et sans décharge rapide (*Non-adapting* (NA), *non fast-spiking* (NFS)) démontrent une augmentation de l'intervalle de temps entre les PAs mais qui n'est pas très visible (**Figure 23**). Ceci inclut les neurones à SST dont les cellules de Martinotti.

Les interneurons adaptatifs (*adapting neurons* (AD)) ont une augmentation graduelle et visible de l'intervalle de temps entre les PA.

Enfin les interneurons accélératifs (*accelerating* (AC)) montrent une diminution de l'intervalle de temps entre les PA (**Figure 23**).

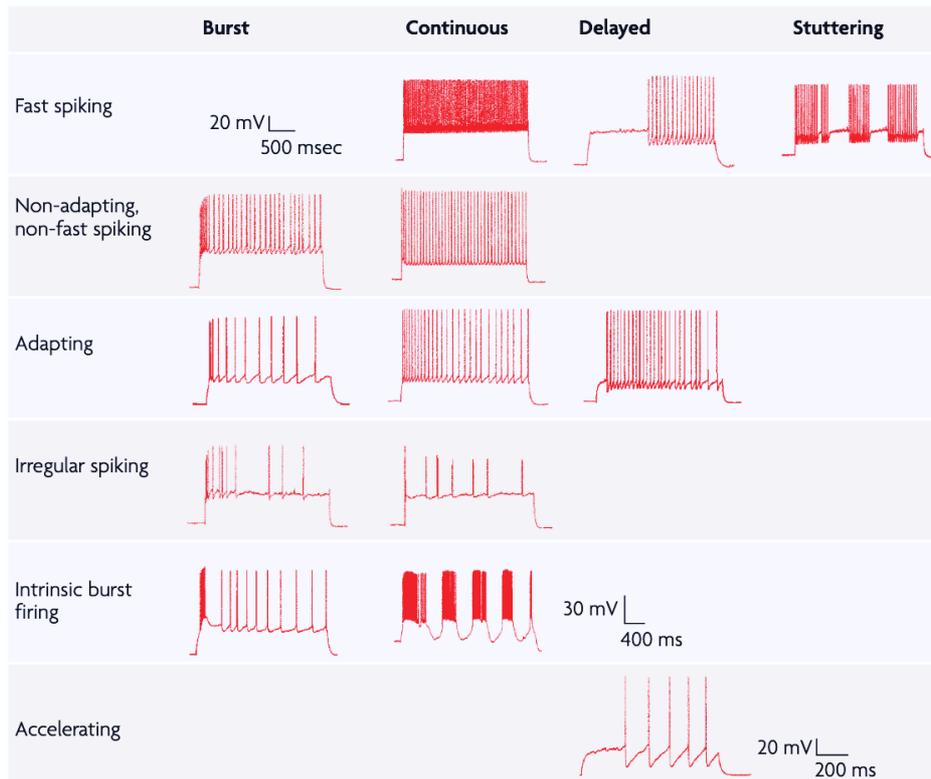


Figure 23 : Les interneurones possèdent plusieurs motifs de décharge.

D'après une classification établie il existe six classes d'interneurones avec une décharge caractéristique. Il y a les neurones à décharge rapide (fast spiking, FS), neurones à décharge non adaptative, neurones à décharge adaptative, neurones à décharge irrégulière, neurones à décharge en bouffées intrinsèques et enfin les neurones à décharge accélérative (Petilla Interneuron Nomenclature Group et al. 2008) .

Ainsi les interneurones ont de remarquables propriétés diversifiées, rendant leur classification complexe mais qui se base sur les critères morphologiques, de connectivité, de marqueurs génétiques et les modèles de décharge (**Figure 24**).

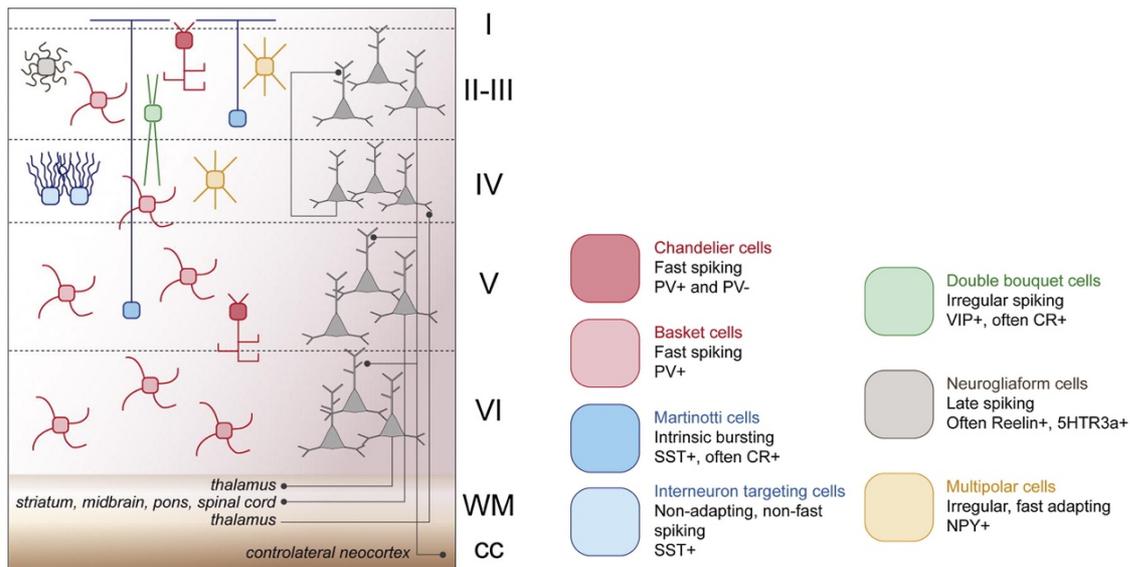


Figure 24 : Les interneurons sont classés en différentes catégories selon leur morphologie, leur connectivité, l'expression de marqueurs génétiques et leurs propriétés électrophysiologiques.

A gauche, un schéma qui représente les différents interneurons morphologiquement et leur localisation.

A droite, les différents interneurons classés par morphologie (le code couleur est associé au schéma de gauche) mais présentant leurs caractéristiques électrophysiologiques et les marqueurs génétiques principaux (Bartolini, Ciceri, et Marin 2013).

f) Les interneurons inhibiteurs à parvalbumine dans le cortex auditif

La relation entre la densité des interneurons à parvalbumine et le traitement de l'information sonore a été récemment mise en évidence : une surexposition de jeunes rats à un bruit maintient le cortex auditif dans un état « immature » caractérisé par une faible densité des interneurons à parvalbumine et une défaillance dans le traitement temporel du son (de Villers-Sidani et al. 2008; Dorn et al. 2010), soulignant le rôle essentiel des interneurons à parvalbumine dans le cortex auditif.

2.3. Les crises audiogènes et le développement neuronal

Le développement neuronal et les systèmes sensoriels se mettent en place dès l'embryogenèse avec une connectivité des réseaux neuronaux façonnée en partie par notre environnement acoustique, visuel, olfactif ou tactile. Dans les cortex sensoriels, le réseau neuronal est caractérisé par un équilibre entre deux principales populations de neurones : les neurones excitateurs et les neurones inhibiteurs (X.-J. Wang et Buzsáki 1996). La force relative entre l'excitation et l'inhibition affine la discrimination fréquentielle (Isaacson et Scanziani 2011). Cet équilibre est essentiel pour le traitement de l'information sonore. De plus, la relation

temporelle entre l'excitation et l'inhibition permet également une précision temporelle de la réponse corticale inférieure à la milliseconde (Wehr et Zador 2003; Oswald, Schiff, et Reyes 2006). Ces propriétés sont essentielles pour diverses tâches auditives telles que la localisation de la source sonore (Keating et King 2015; Grothe, Pecka, et McAlpine 2010a), la détection de sons rares informatifs en milieu bruyant (Khouri et Nelken 2015; Nelken et al. 2014) ou la détection d'événements transitoires tels que des sons ou des interruptions sonores de courte durée (Ohl et Scheich 2005; Sanes et Woolley 2011). Un déséquilibre entre l'excitation et l'inhibition corticale peut entraîner une perte d'intelligibilité de la parole ou des pathologies des synapses excitatrices et inhibitrices du cortex auditif (Resnik et Polley 2017).

L'équilibre ou la balance excitation/inhibition s'établit chez la souris durant la phase précoce de plasticité cérébrale qui débute juste après la mise en place de l'audition (après P12) (Dorn et al. 2010)(de Villers-Sidani et Merzenich 2011), période appelée période critique ou période sensible. La période critique est définie comme « période durant laquelle un stimulus spécifique est requis pour le développement normal, la préservation ou la récupération d'une fonction neuronale et durant laquelle le système sensoriel est vulnérable aux manipulations sensorielles » (de Villers-Sidani et Merzenich 2011; Kral et Pallas 2011). Durant cette période, les microcircuits neuronaux se réorganisent rapidement face aux stimuli de l'environnement grâce à leur plasticité corticale importante (**Figure 25**). Pendant cette période, la précision temporelle de l'intégration des signaux entrant dans le cortex auditif s'accroît grâce à différentes formes de connectivité comme l'inhibition anticipatrice (*forward inhibition*) et l'inhibition retour (*feedback inhibition*). Ces deux formes d'inhibition sont médiées par les neurones inhibiteurs à parvalbumine et deux topologies différentes de leurs connexions sur les neurones pyramidaux excitateurs (Higley 2014a). Lors de l'inhibition anticipatrice, les interneurons sont activés par les afférences thalamo-corticales, inhibant en même temps les neurones pyramidaux qui peuvent générer un PA. L'inhibition retour est opérée par les interneurons à somatostatine qui inhibent les neurones pyramidaux après leur activation (Tremblay, Lee, et Rudy 2016).

Cette phase précoce de plasticité cérébrale ouvre de nombreuses opportunités pour le remodelage des circuits neuronaux par l'environnement sonore (Higley 2014; Nelken et al. 2014), mais représente aussi une période de grande vulnérabilité pour ces circuits. Cette période est donc idéale pour détecter des défauts de la mise en place des réseaux neuronaux excitateurs et inhibiteurs. Chez la souris, un déséquilibre de ces réseaux au profit des neurones excitateurs se manifeste par une disposition particulière aux crises audiogènes réflexes.

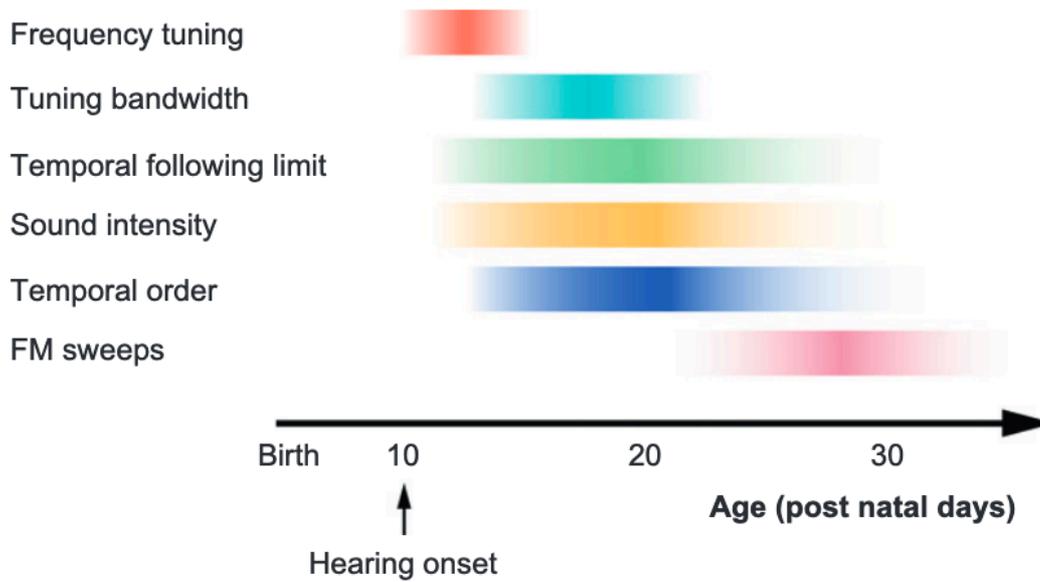


Figure 25 : La succession des périodes critiques durant le développement cérébral du rat.

Frequency tuning : accord en fréquence. Tuning bandwidth : accord de la largeur de bande, c'est-à-dire la gamme de fréquence à laquelle le neurone mature va répondre. Temporal following limit : capacité d'adaptation d'un neurone à un stimulus répété. Sound intensity : intensité à laquelle va répondre le neurone mature. Sound intensity : intensité sonore Hearing onset : début de l'audition. Age indiqué en jour post-natal.

3. Les surdités

La surdité est un terme générique désignant une diminution de la perception auditive. La surdité est le premier handicap en termes de prévalence. En effet, selon l’OMS, 466 millions de personnes ont une déficience auditive et parmi elles, 34 millions sont des enfants (OMS, 2020). La surdité est un enjeu majeur de santé publique. On estime que d’ici 2050, plus de 900 millions de personnes seront atteintes de surdité soit une personne sur dix. Notamment, les enfants et les jeunes sont les populations les plus sensibles. Aujourd’hui, 60% des déficiences auditives auraient pu être évitées et un milliard de jeunes ont un risque d’avoir des atteintes auditives suite à des surexpositions sonores dans un cadre récréatif. Ce handicap sensoriel a un impact économique et sociétal très important. Son coût économique dans le monde serait d’environ 750 milliards de dollars US pour les surdités non prises en charge. La dépense mondiale prenant en compte l’éducation, les aides sociales, en plus de ces 750 milliards de dollars, est difficilement estimable. Socialement, la surdité a un réel impact sur la qualité de vie des personnes touchées, aussi bien dans la scolarisation, l’accès à l’emploi, les capacités cognitives, l’attention, et les communications avec autrui.

3.1. Les différentes catégories de surdité

Une première classification, basée sur le degré de perte auditive en décibels (dB), distingue quatre catégories de surdité : légère, modérée, sévère et profonde. La surdité est dite légère pour une perte de 20 à 40 dB, et les conversations en milieu bruyants deviennent difficiles. Un appareillage par amplification sonore peut être proposé comme solution. Les surdités modérées ont une perte entre 41 et 70 dB, rendant les conversations même en milieu calme difficiles ; l’appareil auditif est systématique. La surdité sévère concerne une perte auditive de 71 à 90 dB ; l’appareillage auditif ne suffit pas toujours, il est couplé à une lecture labiale. La surdité profonde rend compte d’une perte de plus de 90 dB ; un appareillage peut être proposé comme solution.

En parallèle, il existe un classement basé sur l’origine de la défaillance auditive et qui distingue deux grandes catégories : les surdités de transmission (ou de conduction) et les surdités de perception (ou neurosensorielles) (**Figure 26**).

3.1.1. Les surdités de transmission

La surdité de transmission est due à une atteinte de l'oreille externe, souvent par un défaut de conduction du son dans l'oreille externe (conduit auditif bouché, cérumen...) et/ou une atteinte de l'oreille moyenne (otite suppurative, lésion des osselets). La perception auditive est légèrement diminuée notamment pour les sons graves et peu intenses.

3.1.2. Les surdités neurosensorielles

La surdité neurosensorielle (surdité de perception) est due au dysfonctionnement de l'oreille interne, plus précisément les cellules ciliées ou le nerf auditif. Les surdités neurosensorielles sont majoritairement congénitales mais elles peuvent être également acquises au cours de la vie par une dégénérescence des cellules ciliées liées à l'âge par exemple, des affectations neurobiologiques ou encore des maladies infectieuses. Elles peuvent également avoir pour origine des traumatismes sonores ou une prise de médicaments ototoxiques. Il est possible de cumuler sur la même oreille une surdité de transmission et une surdité de perception, on parle alors de surdité mixte.

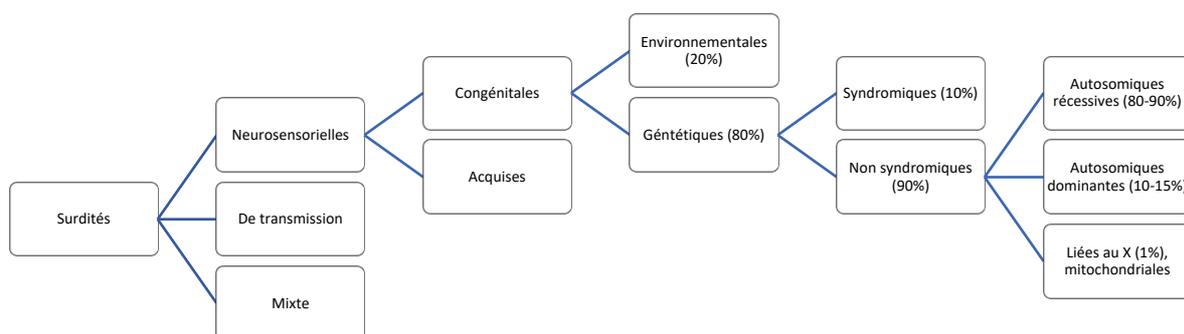


Figure 26 : Classification des surdités

a) Les surdités acquises

Le nombre de cas de personnes atteintes de surdité ne cesse de croître avec l'âge, on parle de surdités acquises au cours de la vie (Figure 26). Elles peuvent avoir plusieurs origines, infectieuses, suite à l'usage de médicaments ototoxiques, ou traumatiques.

La principale cause de surdité de transmission d'origine infectieuse chez l'enfant est l'otite, otite souvent d'origine virale qui entraîne une surinfection. Un traitement antibiotique suffit pour la soigner mais en cas d'échec du traitement, elle peut avoir des complications graves (méningite, bactériémie). Les surdités d'origine infectieuse peuvent être également causées par

une infection survenue durant la grossesse : les femmes touchées du cytomégalovirus, de la syphilis ou la toxoplasmose peuvent engendrer des troubles neurosensoriels chez le nouveau-né, dont la surdité. Chez l'enfant, des maladies infantiles comme la rougeole peuvent provoquer des surdités.

Les surdités acquises suite à l'utilisation de médicaments ototoxiques tels que certains antibiotiques de la famille des aminosides, des furosémides et des salicylates (aspirine), des antipaludéens ou des anticancéreux provoquent une ototoxicité à des doses et des concentrations définies. Mais dans la majorité des cas, l'atteinte auditive est réversible. D'autres médicaments sont ototoxiques après une utilisation prolongée ou à fortes doses comme l'ibuprofène, la quinine ou certains antidépresseurs. La sévérité de l'atteinte dépend de plusieurs facteurs : du patient (son âge, son sexe, ou son patrimoine génétique), et des facteurs de comorbidités (hypertension, accident vasculaire cérébral et les facteurs liés à l'utilisation des médicaments).

Les surdités traumatiques peuvent être induites par à un traumatisme crânien ou traumatisme de l'os temporal qui ont pour conséquences, des ruptures des structures de l'oreille externe, telles que le tympan ou la chaîne des osselets. Les traumatismes sonores quant à eux, peuvent toucher les structures de l'oreille interne. Les sons de plus de 100 dB endommagent les cellules ciliées et peuvent provoquer des surdités permanentes. Il existe également des traumatismes d'origine barométriques qui touchent plus communément les plongeurs ou les aviateurs qui subissent des changements rapides de pression de façon répétée.

Certaines maladies immunitaires, des maladies neurodégénératives ou des tumeurs peuvent également être à l'origine de surdités neurosensorielles que je ne détaillerai pas ici.

b) Les surdités congénitales

Les surdités congénitales ont lieu à la naissance de l'enfant et sont d'origine génétique (80%) ou acquises soit durant la période pré-natale suite à des maladies contractées durant la grossesse (rubéole, toxoplasmose, méningite) soit lors de l'accouchement (nouveau-né prématuré).

3.1.3. Les surdités génétiques

Les surdités congénitales d'origine génétique ont souvent pour origine la mutation d'un seul gène (on parle de surdité monogénique) et se divisent en deux sous-classes : les surdités non-syndromiques (isolées) et les surdités syndromiques (associées à d'autres symptômes) (Shearer, Hildebrand, et Smith 1993).

a) Les surdités non syndromiques

Aujourd'hui, environ 140 gènes pour lesquelles une mutation provoque une surdité ont été identifiés et il existe de nombreux locis pour lesquels un gène n'a pas encore été identifié. Il y a plusieurs modes de transmission (**Figure 26**) :

- Les surdités autosomiques récessives (DFNB) qui est la forme de surdité la plus fréquente des surdités non syndromiques.
- Les surdités autosomiques dominantes (DFNA) qui comptent 10 à 15% des surdités non syndromiques
- Les surdités liées à une mutation du chromosome X (DFNX)
- Les surdités liées à une mutation du chromosome Y (DFNY)
- Les surdités d'origine mitochondriale et qui sont des formes très rares.

Deux gènes sont principalement mis en cause dans les surdités autosomiques récessives : le gène GJB2 et le gène STRC. Le gène GJB2 code pour la connexine26 et est le gène principal impliqué dans la surdité génétique (Kemperman, Hoefsloot, et Cremers 2002). En Europe, la fréquence de la mutation allélique est d'environ 70%. Ce gène GJB2 affecte l'oreille interne mais pas la fonction vestibulaire. La délétion homozygote du gène STRC codant pour la stéréociline serait la deuxième forme de surdité la plus fréquente des surdités autosomiques récessives. Cette grande protéine est défectueuse dans la forme récessive DFNB16 du fait d'une délétion du chromosome 15q15.3 du locus DFNB16. Les patients DFNB16 souffrent d'une déficience auditive légère à modérée, plus prononcée pour les hautes fréquences que les basses fréquences (Campbell et al. 1997; Yokota et al. 2019; Villamar et al. 1999). Ce phénotype est assez rare chez les patients atteints d'une forme DFNB (surdité non syndromique, autosomique récessive).

b) Les surdités syndromiques

Plusieurs centaines de syndromes liés à des surdités ont été décrites et sont associés à diverses malformations qui peuvent affecter aussi bien les organes (œil, pancréas, cœur, thyroïde) que le système immunitaire et le métabolisme.

Le syndrome de Pendred est la forme la plus commune de surdité syndromique, est caractérisée par une surdité neurosensorielle bilatérale et une anomalie thyroïdienne (goître euthyroïdien).

Le syndrome d'Usher associe une surdité neurosensorielle et une rétinite pigmentaire qui peuvent aller jusqu'à la cécité. Ce syndrome s'accompagne également de troubles vestibulaires (troubles de l'équilibre) (Petit 2001).

Les syndromes de Waardenburg (dépigmentation), d'Alport (atteintes rénales et ophtalmiques), de CHARGE (association variable de plusieurs anomalies cardiaques, oculaires, croissance) sont des exemples de syndromes associés à des surdités.

4. Les crises audiogènes

4.1. La découverte des crises audiogènes

Les crises réflexes sont des événements épileptiques déclenchés par une stimulation sensorielle, motrice ou cognitive. Il existe plusieurs types de crises réflexes décrites dans une classification standardisée (Engel 2001) associant les crises réflexes à des crises spontanées. Dans cette catégorie de crises réflexes, on trouve les épilepsies réflexes qui sont des syndromes épileptiques rares dont la crise est déclenchée soit par une stimulation spécifique déterminée (Wolf et Koepp 2012) ou par un processus cognitif et émotionnel. Les épilepsies réflexes se caractérisent par des anomalies électroencéphalographiques et il a été montré que les mécanismes provoquant l'épilepsie réflexe dépendent en grande partie de l'excitation des réseaux anatomiques fonctionnels et sont liés à une forte prédisposition génétique chez l'humain et l'animal (Koepp et al. 2016). Parmi les épilepsies réflexes, on considère celles induites par des stimulations sensorielles telles qu'une lumière intense, regarder la télévision, fixer un objet, des stimuli gustatifs, olfactifs, auditives (crises musicogéniques), thermiques (épilepsie déclenchée par l'eau chaude) mais on considère également les crises complexes déclenchées par des tâches cognitives (lire, se brosser les dents, manger...). L'épilepsie et les crises réflexes sont souvent confondues. L'épilepsie est une pathologie définie par un état de crises récurrentes et spontanées alors qu'une crise réflexe peut être spontanée et peut n'avoir lieu qu'une unique fois dans la vie de la personne ayant fait une crise.

Contrairement à l'homme, les animaux ont une susceptibilité accrue pour les épilepsies réflexes déclenchées par un son. Ces crises sont appelées crises audiogènes (*AS, audiogenic seizures*) et ont été étudiées en détail chez les rongeurs. En 1939, une première étude est publiée montrant que des convulsions pouvaient être provoquées par un son de forte intensité chez le rat (Donaldson 1924; Morgan et Morgan 1939; Maier 1939) mais également chez le mulot (Dice 1935) et le lapin (Nellhaus 1958). La description d'une crise chez le rat est rapportée en 1947 (Fingers 1947) et est décrite en détail en 1951 chez la souris avec une terminologie médicale qui a peu évolué depuis. Le stimulus acoustique est généralement sous la forme d'un son pur délivré à 100-120 dB, à une fréquence de 10 kHz qui correspond au seuil fréquentiel le plus bas chez la souris (Frings et Frings 1952). La stimulation acoustique s'arrête, soit après observation des manifestations d'un début de crise, soit au bout de soixante secondes, en l'absence de manifestations de crises audiogènes. Il existe une échelle publiée à l'origine par

Jobe et al. (P. C. Jobe, Picchioni, et Chin 1973) sur l'incidence des crises, le type de chaque crise et la gravité globale.

Une crise commence par une course folle (Frings, Frings, et Kivert 1951) et consiste en trois phases définies : une phase de pré-convulsion, une phase convulsive et une phase post-convulsive. La crise peut être interrompue dès que le son est arrêté (Reid et Collins 1986). La phase pré-convulsive commence par une course folle, intense et rapide. A ce stade, peu de souris reviennent à une activité normale. La plupart des souris vont arrêter leur course folle avant d'entrer dans une phase convulsive. Les convulsions qui surviennent lors de la phase convulsive se divisent en trois types :

- spasmes convulsifs (raidissement du corps, spasmes musculaires mais pas de course) ;
- convulsions cloniques (l'animal perd sa coordination, se roule sur le dos et exhibe des mouvements saccadés des pattes) ;
- convulsions toniques cloniques qui sont les plus violentes : l'animal commence une convulsion clonique pendant un court temps et entame la phase tonique : les muscles deviennent raides, la tête rejetée en arrière avec une respiration arrêtée quelques secondes.

La phase de post-convulsion a deux issues : la mort qui survient suite à une crise tonique-clonique mais qui ne survient pas pour une crise convulsive spasmodique. La deuxième issue est la récupération de la crise qui se traduit par une respiration rapide, des contractions des muscles et le redressement brutal pour les crises toniques cloniques ou les crises cloniques. Pour les crises musculaires, la récupération est suivie d'une période courte de course (Frings et al. 1952; Schreiber et al. 1980).

4.2. Les facteurs déclencheurs des crises audiogènes

Les crises audiogènes (AS) peuvent être provoquées par différents facteurs. L'un des premiers facteurs prédominants est l'âge : la susceptibilité aux crises audiogènes chez la souris commence autour de P14-P16 (14^{ième}–16^{ième} jour post-natal) et atteint son niveau le plus intense autour de P21. La période P14 correspond à la phase la plus intense des périodes critiques qui démarre juste après la mise en place du système auditif et qui correspond à une période de haute plasticité cérébrale. Après cette période critique, la susceptibilité aux AS se dissipe pour disparaître (Saunders, Dolgin, et Lowry 1980; Shneron et Pujol 1981; Thompson, Carl, et Holmes 1991; Henry 1967). Pour les lignées de souris qui ne présentent pas de prédisposition particulière aux AS, il est possible de les induire par un effet priming ou 'amorçage acoustique'.

Ce procédé consiste à exposer, un jour durant la période critique typiquement autour de P16-P18, l'animal à des sons de forte intensité. Quelques jours après, suite à une deuxième stimulation auditive intense, la souris déclenchera une crise audiogène dans la grande majorité des cas (Henry 1967; Pierson et Liebmann 1992).

L'administration chronique de médicaments (ototoxiques pour certains d'entre eux) comme les barbituriques, benzodiazépines ou l'alcool (éthanol) (Yanai, Sze, et Ginsburg 1975; Millan, Meldrum, et Faingold 1986), les stimulations acoustiques intenses (Schreiber et al. 1980; Tacke, Björk, et Tuomisto 1984; Reid et Collins 1989) sont des facteurs de susceptibilité aux AS.

4.3. Génétique des crises audiogènes chez l'animal

Le fonds génétique joue un rôle important dans la susceptibilité aux crises audiogènes. Plusieurs modèles de rats et souris ont été successivement identifiés comme modèles ayant un fonds génétique les prédisposant aux AS. En 1924, Donaldson observait que son modèle de rat de laboratoire, le rat Wistar présentait des dispositions aux crises audiogènes et ouvre l'étude d'une possible interaction entre génétique et prédisposition à l'épilepsie (Donaldson 1924). La lignée de souris DBA/2 est ensuite identifiée comme présentant une susceptibilité génétique aux crises audiogènes (Calvin 1947). Des crises semblables seront décrites dans d'autres lignées : les lignées de souris *Black Swiss* (BLSW), les lignées BuB/BnJ, les lignées *Frings* mais également des lignées de rats tels que le rat GEPRs (*Genetically Epilepsy Prone Rat*) (Phillip C. Jobe, Don Brown, et Dailey 1981; Reigel, Dailey, et Jobe 1986) dont ont dérivé deux sous-lignées, GEPR-9 (crise tonique) et GEPR-6 (crise clonique, moins sévère) (Naritoku et al. 1992; C. L. Faingold 1999) ou le rat WAR (*Wistar Audiogenic Rat*, dérivé de la lignée Wistar) (Ross et Coleman 2000).

Les anomalies génétiques mettant en cause un seul gène ont été identifiées seulement pour les lignées *Frings* et DBA/2 (Neumann et Collins 1991; Skradski et al. 2001). Quelques gènes/loci de susceptibilité dont la mutation/délétion sélective (par *knock-out* par exemple) provoquant une augmentation de la sensibilité aux crises audiogènes ont été également identifiés mais la façon dont ces anomalies peuvent provoquer une susceptibilité aux AS demeure mal expliquée (Upton et Stratton 2003). Parmi ces gènes de susceptibilité, on peut retrouver :

- *Adgrv1* : il a été identifié chez les souris *Frings*. Chez l'humain, *ADGRV1* est associé à l'épilepsie et au syndrome d'Usher de type II (USH2) (Myers et al. 2018).
- *Jams1* (*Juvenile Audiogenic monogenic seizures*) : le locus *Jams1* a été identifié sur le chromosome 10 du modèle de souris *Black Swiss* (Misawa et al. 2002).
- *Fmr1* : une mutation de *Fmr1* touche le chromosome X et entraîne une déficience mentale et de l'autisme. Ce syndrome est appelé le syndrome Fragile X. Les crise audiogènes sont le phénotype le plus robuste chez les souris *Fmr1* KO (Musumeci et al. 2000; Gonzalez et al. 2019).
- *Gipc3* : protéine intracellulaire possédant un domaine PDZ. La séquence du domaine PDZ a été identifiée comme la cause des crises audiogènes via le gène *jams1* chez les souris *Black Swiss* (Charizopoulou et al. 2011).
- *Lgil* : gène qui provoque une épilepsie autosomique dominante chez le rat (Kalachikov et al. 2002; Morante-Redolat et al. 2002; Baulac et al. 2012).

4.4. La perte auditive et la susceptibilité aux crises audiogènes

La perte auditive peut également être associée à une susceptibilité aux crises audiogènes : des animaux sauvages présentant une perte auditive provoquée (rupture tympanique ou bouchons dans les oreilles) sont prédisposés aux crises audiogènes ou bien les modèles murins épileptiques comme le modèle DBA/2 ou le modèle GEPR-3, GEPR-9 présentent des surdités modérées (W. Sun et al. 2011). Cependant, une susceptibilité aux crises audiogènes n'implique pas systématiquement une perte auditive d'origine génétique : le modèle *Black Swiss* présente une susceptibilité aux crises audiogènes sans corrélation avec son audition (Misawa et al. 2002).

Cependant il demeure des inconnues pour un grand nombre de gènes tels que les gènes *Gipc3* et *Adgrv1* : ces gènes, en plus de présenter des susceptibilités aux crises audiogènes possèdent des atteintes cochléaires provoquant une surdité lorsque le gène est inactivé. *Adgrv1*, caractérisé par une surdité modérée à sévère et une rétinite pigmentaire, est exprimé dans le système nerveux central pendant l'embryogenèse et à l'âge adulte dans le colliculus inférieur et les noyaux mamillaires de l'hypothalamus. Dans la cochlée, *adgrv1* est un composant des liens basaux (McGee et al. 2006; Michalski et al. 2007). En l'absence d'*adgrv1*, les liens baso-latéraux disparaissent, entraînant une désorganisation de la touffe ciliaire. Malgré ces déficits, la MET a lieu même si c'est de façon anormale. Quant à *Gpic3*, elle pourrait être liée au transport vésiculaire synaptique. Ces observations suggèrent que l'anatomie et la fonction

cochléaire sont très sensible à la stimulation sonore pendant une période critique du développement.

Durant cette période cruciale, les neurotransmetteurs au niveau cochléaire pourraient jouer un rôle : le GABA est un neurotransmetteur principal pour les projections efférentes de la cochlée (Bobbin, Ceasar, et Fallon 1990) et des projections du MSO vers la cochlée (Whitlon et Sobkowitz 1989). D'autres neurotransmetteurs tels que le glutamate sont impliqués dans l'activité afférente des IHCs et leur action peut être modifiée par la dopamine. La différenciation des fibres afférentes de GABA dans la cochlée a lieu à un stade tardif et arrive à maturité au plus tôt à P30. Ces mécanismes développementaux pourraient expliquer l'hyper-réactivité cochléaire durant la période critique d'une part, par une régulation en amont des récepteurs à glutamate, qui en réponse à une stimulation sonore excessive, augmentent l'excitation depuis les cellules ciliées et d'autre part, par une diminution de l'inhibition contrôlée par le GABA dans la cochlée (Ross et Coleman 2000).

Il est donc essentiel de faire la part entre l'atteinte cochléaire et d'éventuelles atteintes de neurones du système auditif. Les souris déficientes en *Gipc3* montrent une absence de corrélation entre l'évolution du seuil auditif et la présence des crises audiogènes mais montrent une activité synchrone des neurones du nerf auditif avec les crises audiogènes par l'observation des potentiels évoqués du tronc cérébral (Charizopoulou et al. 2011).

En conclusion, les crises audiogènes pourraient avoir une origine périphérique et/ou une origine centrale. Il ne faut pas non plus exclure la possibilité que plusieurs mécanismes différents peuvent rendre compte de l'origine des crises audiogènes hypothèse étayée par de nombreux indices.

4.5. Les structures et populations neuronales impliquées dans les crises audiogènes

Il est possible d'induire des crises audiogènes par divers mécanismes biologiques mettant en jeu différentes voies. Certaines voies ont pu être en partie déchiffrées mais il reste encore de nombreuses inconnues sur les facteurs et les structures initiant les AS ou les structures mises en jeu pour initier l'AS.

4.5.1. Un défaut des neurones GABAergiques

Le GABA, principal neurotransmetteur inhibiteur, est impliqué dans de nombreux déficits cérébraux du système nerveux central (SNC). Au cours du développement précoce, le GABA exerce un rôle dans la migration neuronale (Behar et al. 2000), la division cellulaire, la maturation et la différenciation neuronale (Salazar, Velasco-Velázquez, et Velasco 2008). Afin de remplir son rôle régulateur, des récepteurs au GABA sont activés, générant un courant calcique. Cette dépolarisation induite par une concentration intracellulaire de chlore élevée va entraîner l'expression des récepteurs NMDA et provoquer une augmentation de calcium. Ces phénomènes de courants et dépolarisations contribuent donc à l'activité neuronale et au développement des circuits neuronaux matures (D. D. Wang et Kriegstein 2008). De nombreuses études pharmacologiques, physiologiques et biochimiques ont montré une implication du GABA dans des maladies neuro-développementales comme l'autisme (Tabuchi et al. 2007; Coghlan et al. 2012), le syndrome Fragile X (Curia et al. 2009), le syndrome de Rett (Medrihan et al. 2008), la schizophrénie (Lewis et al. 2012), le syndrome de Tourette (Kalanithi et al. 2005; Di Cristo 2007) et d'autres maladies mentales.

Dans les modèles d'étude murins dont le principal symptôme est l'épilepsie, la fonction GABAergique a une importance majeure : une baisse du nombre de neurones favorise une activité épileptique (Roberts, Ribak, et Oertel 1985; Millan, Meldrum, et Faingold 1986; Taylor 1988; Gale 1989; Meldrum 1989; Ribak et al. 1993; Buckmaster et Dudek 1997; Gorter et al. 2001) et inversement, une augmentation des niveaux de GABA permet une diminution de la susceptibilité aux crises.

Une étude de notre laboratoire étaye l'importance du réseau neuronal GABAergique dans la prédisposition aux crises audiogènes (Libé-Philippot, Michel, Monvel, et al. 2017). Il a été montré que *cdhr15* et *cdhr23*, deux protéines constituant le lien de bout de cils des cellules ciliées auditives, sont également indispensables à la migration d'une population de précurseurs embryonnaires d'interneurones depuis leur lieu de naissance jusqu'à leur destination finale qui est le futur cortex auditif (AC). Chez des souris pour lesquelles *Cdhr15* ou *Cdhr23* a été inactivé, les interneurones précurseurs exprimant respectivement *cdhr23* et *cdhr15*, sont dans l'incapacité d'entrer dans le cortex embryonnaire pendant leur migration tangentielle embryonnaire. Leur inactivation résulte ultérieurement au cours du développement en un nombre anormalement faible de neurones inhibiteurs à parvalbumine dans l'AC (perte d'environ 50% des neurones à PV en comparaison à la souris contrôle) (**Figure 27**). Les souris mutantes *Adgrv1*^{-/-} et mutantes hétérozygotes *Cdhr15*^{+/-} et *Cdhr23*^{+/-} présentent également une

réduction significative du nombre de neurones à parvalbumine dans l'AC malgré l'absence de défauts auditifs périphériques. Cette diminution d'interneurones à PV est corrélée à une susceptibilité aux AS (51% des souris *Cdhr23*^{+/-} et 38% des souris *Cdhr15*^{+/-} font des crises audiogènes). Cette prédisposition aux AS est encore plus prononcée lorsque *Cdhr15* et *Cdhr23* sont inactivés de façon conditionnelle dans les neurones inhibiteurs corticaux, i.e. en laissant intact les cellules sensorielles auditives (80% des souris KO conditionnels *Nkx2.1-cre*, *Cdhr23*^{lox/lox} sont susceptibles aux AS contre 51% des souris *Cdhr23*^{+/-}).

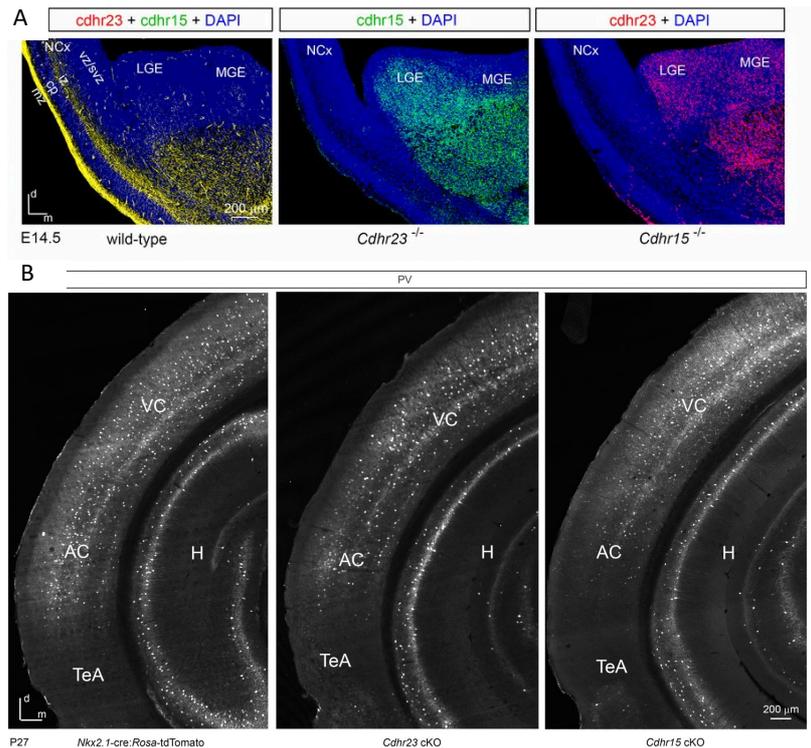


Figure 27 : *Cdhr23* et *Cdhr15* ont un rôle critique pour la migration d'une population de précurseurs d'interneurones vers le néocortex. Un défaut de cette migration entraîne des défauts en post-natal.

A/ Sections coronales de télencéphale d'un embryon E14 sauvage, *Cdhr23*^{-/-} et *Cdhr15*^{-/-} marqué à l'aide d'anticorps dirigés respectivement contre *cdhr15* et *cdhr23*.

B/ Sections coronales du cortex auditif de souris contrôles, *Cdhr23* KO conditionnel et *Cdhr15* KO conditionnel (utilisant la *Nkx2.1-cre*) au stade P27 marqués par un anticorps dirigé contre la parvalbumine (PV).

Abréviations : Nex ; Néocortex, L/MGE ; Eminence ganglionnaire Latérale/Médiane, mz ; zone marginale, CP ; plaque corticale, iz ; zone intermédiaire, svz ; zone sous-ventriculaire, vz ; zone ventriculaire, d ; dorsal, m ; médial. H, hippocampe ; TeA, temporal association cortex; VC, cortex visuel.

Adapté de Libé-Philippot, Michel, Monvel, et al. 2017.

4.5.2. *Le colliculus inférieur*

Les circuits du colliculus inférieur (IC) jouent un rôle primordial dans la genèse des crises audiogènes. En effet, les crises audiogènes sont majoritairement considérées comme étant

généérées dans l'IC. Une lésion de l'IC et en particulier le noyau central de l'IC peuvent abolir définitivement les crises audiogènes (Willott et Lu 1980). Des études c-Fos ont également montré une activité importante des subdivisions de l'IC pour les animaux prédisposés aux crises audiogènes (Snyder-Keller et Pierson 1992).

Le glutamate est le principal neurotransmetteur excitateur dans l'IC et est impliqué dans la survenue des AS (Carl L. Faingold 2002). Une injection d'AP7, un antagoniste de récepteur à glutamate, arrive à atténuer voire bloquer les crises audiogènes (Terra et Garcia-Cairasco 1994). Les voies de l'IC vont à leur tour activer d'autres régions du tronc cérébral par les connexions glutamatergiques de l'IC aux aires motrices, contribuant à la propagation des crises audiogènes. Les voies colliculaires sont également modulées par la signalisation GABAergique, des souris manifestent des susceptibilités aux crises audiogènes suite à une diminution de l'inhibition dans l'IC (Carl L. Faingold 2002; Coleman et al. 2017).

4.5.3. Le tronc cérébral

Des études pharmacologiques mettant en jeu un antagoniste de la transmission synaptique excitatrice dans le tronc cérébral auditif montrent une réduction de la susceptibilité aux crises audiogènes (C. L. Faingold et al. 1988). Il existerait donc une relation étroite entre les premiers relais centraux des voies auditives et la susceptibilité aux crises audiogènes dans certains modèles.

De même, des expérimentations utilisant le marqueur c-Fos (marqueur d'activité neuronale à action immédiate) suite à des crises audiogènes provoquées montrent une activation des neurones des noyaux cochléaires, du SOC, du noyau du lemnisque latéral et de l'IC chez des souris génétiquement prédisposées aux crises audiogènes (Le Gal La Salle et Naquet 1990) et dans le modèle du rat Wistar (Simler et al. 1994). Une des hypothèses émises sur l'influence du tronc cérébral dans la susceptibilité aux crises audiogènes met en jeu les neurones du LSO impliqués dans les hautes fréquences. Un équilibre entre l'excitation glutamatergique provenant du VCN et l'inhibition glycinergique provenant du MNTB permet aux neurones du LSO d'analyser les différences d'intensité interaurales des hautes fréquences, utilisées pour déterminer la localisation de la source sonore (Grothe, Pecka, et McAlpine 2010a). Un déséquilibre de ce ratio excitation/inhibition dans le cerveau pourrait provoquer une hypersensibilité acoustique et un défaut de localisation des sons aboutissant généralement à une hyperexcitabilité et des crises audiogènes de la souris dans les modèles FXS et certains modèles

d'autisme (Hall et al. 2009; Contractor, Klyachko, et Portera-Cailliau 2015; J. R. Gibson et al. 2008).

Chaque lignée de souris prédisposée aux crises audiogènes peut potentiellement ouvrir une nouvelle voie d'entrée à la compréhension des bases moléculaires du développement du réseau neuronal du cortex auditif. J'ai donc utilisé ce modèle de souris prédisposées aux crises audiogènes afin d'étudier en détail les modèles murins présentant à la fois une atteinte cochléaire et des déficits centraux, caractérisés par la prédisposition aux crises audiogènes.

5. Un double rôle des gènes provoquant une surdité en périphérique et en central

Au cours des 25 dernières années, l'approche génétique des troubles héréditaires de l'audition s'est révélée fructueuse pour caractériser le développement et le fonctionnement du système auditif périphérique. Une centaine de gènes responsables de forme de surdités non syndromiques a été identifiée, mettant en lumière les atteintes du système auditif périphérique, à savoir la cochlée et l'innervation cochléaire. Mais peu d'informations ont été recueillies sur le système auditif central à partir de l'étude de la déficience auditive héréditaire, les troubles centraux auditifs étant inexplorés dans le modèle humain. De plus une atteinte cochléaire pourrait cacher un déficit auditif central.

Il existe des formes héréditaires de surdité, qui sont connues pour impliquer des déficits cochléaires qui rendent compte de l'atteinte auditive mais qui sont également associées à des anomalies du développement du cortex auditif sans corrélation avec la déficience périphérique. On pense en particulier aux deux protéines, la cadhérine-15 et la cadhérine-23, exprimés par des précurseurs d'interneurones à parvalbumine du cortex auditif (Libé-Philippot, Michel, Boutet de Monvel, et al. 2017b). Mais il existe bien plus de gènes jouant des rôles intrinsèques dans les systèmes auditifs périphériques et centraux et les mécanismes sous-jacents contrôlant leur expression (**Tableau 1**). Cette identification est essentielle car une restauration d'un déficit périphérique n'est pas suffisante pour une restauration entière de l'audition (Emptoz et al. 2017).

Il est donc possible qu'il existe d'autres gènes ayant des rôles développementaux et fonctionnels dans les systèmes auditifs périphériques et centraux mais dont les rôles dans le système auditif central sont restés jusqu'à présent inconnus. Il faudra étudier les nombreuses protéines impliquées dans la touffe ciliaire et dont une mutation des gènes rend compte d'une surdité périphérique et les étudier dans le système auditif central et valider ceux possédant un double rôle. Stéréociline, otogéline et otogéline-like sont d'excellentes candidates pour poursuivre cette étude puisque leur rôle dans la cochlée est connu et les souris mutantes pour ces gènes présentent une prédisposition aux crises audiogènes, signe d'un déficit dans le système auditif central.

Protein/microRNA	Function in the cochlea	Function in the central auditory system
Hox-a1, -a2, -b1, -b2	Indirect effects	Anteroventral rhombomeric patterning
Wnt1, Wnt3a	Indirect effects	Dorsoventral rhombomeric patterning
mafB	Indirect effects and direct roles in the formation of the postsynaptic densities in SGNs	r5 and r6 patterning
Krox20	Indirect effects, expression in Schwann cells	r3 and r5 patterning
Gata3	Signaling of prosensory genes, differentiation and maturation of hair cells, and wiring of SGNs	Formation of the efferent olivocochlear system and expression in the auditory brainstem
chd7	Early patterning of the inner ear	Early patterning of rhombomeres and IC formation
IGF1	Development of the stria vascularis, tectorial membrane, and SGNs	Role in the auditory brainstem to be confirmed
miR-96	Formation and maturation of hair cells and SGNs	Maturation of the CN and SOC
atoh1	Hair cell differentiation, maturation, and survival	Formation of the VCN, DCN, and a glutamatergic cell type of the MSO and LSO
neurog1	SGN differentiation	Expressed in the CN, LL, IC, cortex, and most of the thalamus
neurod1	SGN differentiation	Formation of the DCN
bhlhb5	Expressed in SGNs	Expressed in the AC
Eph-A7, -B1, -B2, -B3, ephrin-A4, A5, -B1	Wiring of the SGNs	Wiring and tonotopy of all the auditory nuclei
piccolino and piccolo	Ribbon morphology (photoreceptors)	Synaptic vesicle replenishment
bassoon	Anchoring of ribbons to the plasma membrane	Synaptic vesicle replenishment
vglut3	Ribbon synapse vesicular glutamate transporter	Maturation of the MNTB to LSO synapse
Ca _v 1.3	Ribbon synapse presynaptic Ca ²⁺ channel	Maturation of auditory brainstem nuclei
cdhr15	Hair bundle tip link	Interneuron precursors of the AC
cdhr23	Hair bundle tip link	Interneuron precursors of the AC
Adgrv1	Hair bundle ankle link	Expressed in radial glia of the AC and in oligodendrocytes of the IC
Kcnq4	K ⁺ inward rectifier (hair cells and SGNs)	K ⁺ inward rectifier channel expressed from the CN to the IC
KCC2	Expressed in SGNs	Excitability of the LSO inhibitory neurons
NKCC1	Expressed in the stria vascularis	Excitability of the LSO inhibitory neurons
parvalbumin	Ca ²⁺ buffering properties (hair cells and SGNs)	Ca ²⁺ buffering (from the CN to the MGB and parvalbumin interneurons in the AC)

Tableau 1 : Liste des microARN et des protéines communs au système auditif périphérique et central (Michalski et Petit 2019).

5.1. *Otogl, Otog et Strc, des protéines d'intérêt*

5.1.1. *Stéréociline*

La stéréociline est une protéine de grande taille (1809 acides aminés) probablement sécrétée. Elle possède un peptide signal, une grande région riche en leucine et plusieurs segments hydrophobes qui ne sont pas prédits comme étant des fragments transmembranaires (**Figure 28**). La stéréociline murine contient également une région riche en prolines et thréonines qui

n'existe pas chez l'homme (Elisabeth Verpy et al. 2008). Les mutations du gène *STRC* sont responsables de la surdité récessive DFNB16 (Elisabeth Verpy et al. 2001). Dans cette surdité, la perte auditive est modérée dans les basses fréquences et plus sévère dans les hautes fréquences. La stéréociline est essentielle à la formation de deux structures spécifiques de la touffe ciliaire des OHCs : les couronnes d'attachement à la membrane tectoriale présentes à l'extr emite apicale de la plus grande rangée de stéréocils et les « top-connectors », des liens extracellulaires qui connectent les stéréocils adjacents au sein d'une même rangée et entre les rangées adjacentes. En l'absence de stéréociline, chez la souris *Strc*^{-/-}, la touffe ciliaire des OHCs ne s'ancr e pas dans la membrane tectoriale et les « top-connectors » ne se forment pas, ce qui entra ene une désorganisation de la touffe ciliaire mature. Les IHCs n'étant pas affectées, la surdité est modérée avec une perte d'environ 60 dB à P60, ce qui correspond à une perte de l'amplificateur cochléaire.

5.1.2. *Otogéline et Otogéline-like*

Otogéline et otogéline-like sont deux très grandes protéines (2911 acides aminés pour otogéline et 2325 acides aminés pour otogéline-like) apparentées aux mucines épithéliales sécrétées (Cohen-Salmon et al. 1997b; Yariz et al. 2012a) qui partagent 40% d'identité. Elles possèdent un peptide signal, quatre domaines *Von Willebrand Factor* (vWF), quatre domaines riches en cystéine (C8), un domaine α -L arabinofuranosidase B (AbfB), des domaines *trypsin inhibitor-like* et un domaine C-terminal possédant un motif en « n eud » de cystéines appel e domaine CTCK (en anglais, *C-Terminal Cystine Knot domain*). Otogéline-like possède en plus un domaine *epidermal growth factor (EGF)-like domain* à l'extr emite N-terminale (**Figure 28**). La présence d'un domaine CTCK, commun aux mucines sécrétées qui intervient dans l'homodimérisation, suggère qu'otogéline et otogéline-like forment des dimères. La modélisation du domaine CTCK d'otogéline de poisson-zèbre suggère qu'il dimérise (Y.-F. Zhou et Springer 2014). Otogéline et otogéline-like ont été initialement décrites comme composants des membranes acellulaires du vestibule et de la membrane tectoriale (Cohen-Salmon et al. 1997b). Les patients portant des mutations dans les gènes *OTOG* et *OTOGL* présentent le même profil audiométrique que les patients déficients pour la stéréociline : la perte auditive est modérée dans les basses fréquences et plus sévère dans les hautes fréquences, cette perte auditive étant stable avec le vieillissement (Cohen-Salmon et al. 1997). Ce profil audiométrique est assez rare parmi les patients atteints d'une surdité prélinguale. Le plus souvent la perte auditive est sévère ou profonde, en raison d'une atteinte des deux types de cellules sensorielles ou de leurs cellules de soutien.

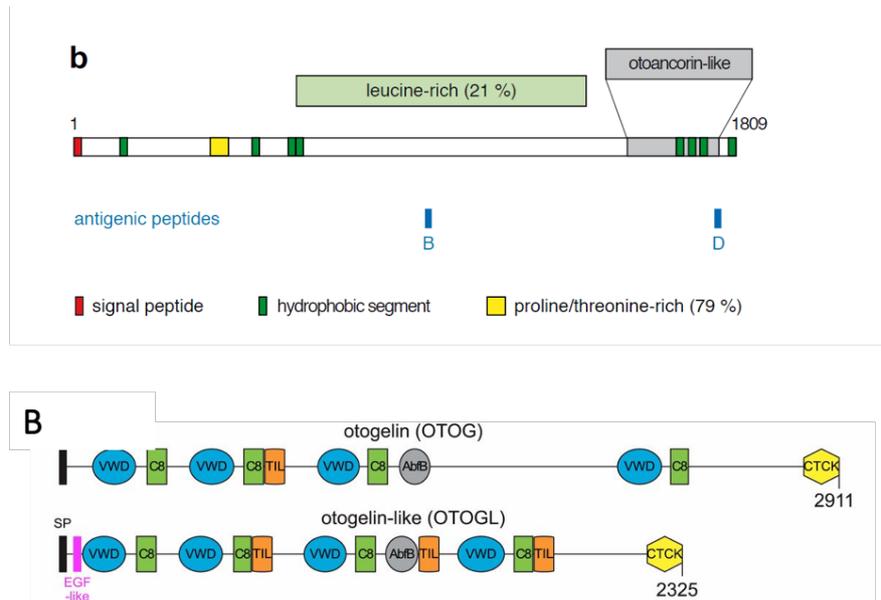


Figure 28 : Domaines protéiques des trois protéines d'intérêt, Otogéline, Otogéline-like, et Stéréociline

A/ La stéréociline murine possède un peptide signal, plusieurs segments hydrophobes, une grande région riche en leucines et une région riche en prolines et thréonines (Elisabeth Verpy et al. 2001).

B/ Otogéline et otogéline-like partagent 40% d'identité. Abréviations: vWF, von Willebrand factor-like domain; C8, cysteine rich domain; TIL, trypsin inhibitor-like domain; CTCK, C-terminal cystine knot domain); AbfB, α -L arabinofuranosidase B; EGF, epidermal growth factor (Avan et al. 2019).

Ce profil audiométrique commun a été récemment expliqué par l'implication inattendue d'otogéline et d'otogéline-like dans la formation des « top-connectors » et des couronnes d'attachement à la membrane tectoriale des grands stéréocils (Avan et al., 2019), comme la stéréociline. Otogéline et otogéline-like sont localisées au niveau des « top connectors » (**Figure 29**). Otogéline-like est également localisée, comme la stéréociline, au niveau des points d'ancrage des grands stéréocils dans la membrane tectoriale (**Figure 30**). En l'absence d'otogéline ou d'otogéline-like, les animaux présentent, dès P15, une perte auditive d'environ 50-60 dB qui n'évolue pas.

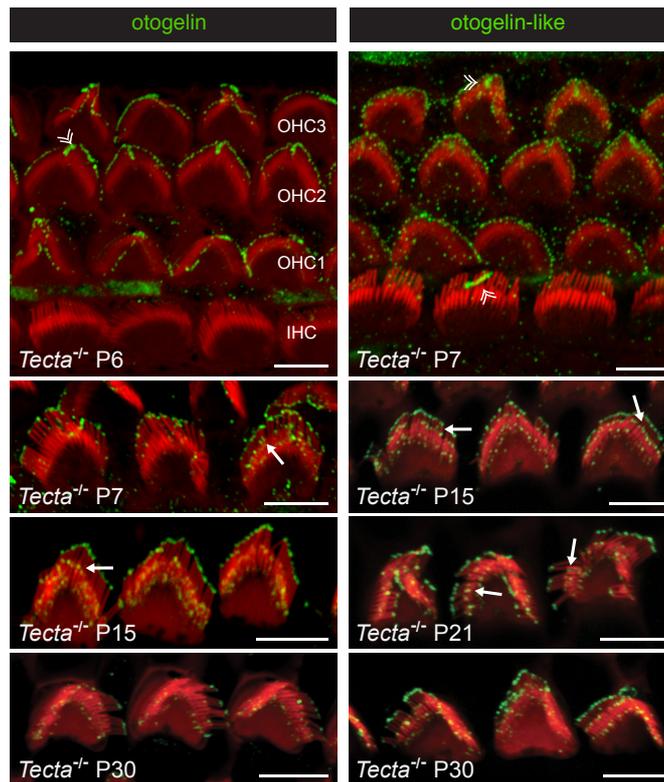


Figure 29 : Localisation par immunofluorescence d’otogéline et otogéline-like dans les cellules ciliées externes.

La distribution de ces deux protéines (en vert) se fait autour du kinocil (double pointe de flèche) pour ensuite s’étendre à la grande rangée des cellules ciliées externe à l’extrémité apicale. A P7, le marquage s’est étendu sur l’extrémité apicale des moyennes et petites rangées pour se déplacer ensuite en position latérale sous apical pour former le connecteur horizontal. Barre d’échelle : 5µm (E. Verpy)

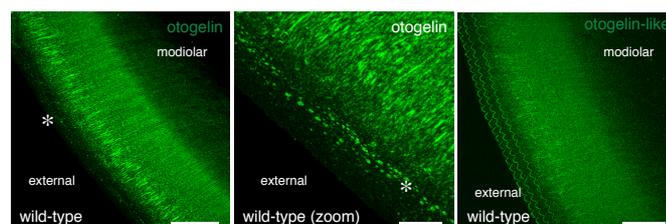


Figure 30 : Localisation par immunofluorescence in toto d’otogéline et otogéline-like dans la membrane tectoriale.

On observe un marquage (en vert) au niveau des points d’ancrage des grands stéréocils dans la membrane tectoriale. Barre d’échelle : 40µm et 10µm pour l’image du milieu (E.Verpy).

La touffe ciliaire des OHCs des souris *Strc*^{-/-} est désorganisée en raison de l’absence des « top-connectors » (**Figure 31**) et les plus grands stéréocils ne s’ancrent pas dans la membrane tectoriale. De plus, certains stéréocils des touffes ciliaires des souris *Otog*^{-/-} de la rangée la plus basse sont absents ou ont une taille réduite, suggérant l’implication d’otogéline dans le contrôle

de la croissance stéréociliaire. La physiologie auditive des animaux *Otog*^{-/-} et *Otogl*^{-/-} est similaire à celle des animaux *Strc*^{-/-} : l'absence de produits de distorsion et la perte de la sélectivité fréquentielle (Avan et al. 2019) indiquent une absence d'amplification par les OHCs. L'enregistrement des potentiels microphoniques (qui reflètent les courants de transduction mécano-électrique dans les OHCs de la base de la cochlée), montre qu'une fraction des canaux de mécano-transduction est fonctionnelle. La comparaison des phases des potentiels microphoniques entre les souris *Otog*^{-/-} ou *Otogl*^{-/-} et les souris contrôles montre que les touffes ciliaires des OHCs ne sont pas défléchies par le déplacement de la membrane tectoriale, qui est anormale en raison de l'absence d'otogéline ou d'otogéline-like, mais par les mouvements liquidiens dans l'espace sous-tectorial.

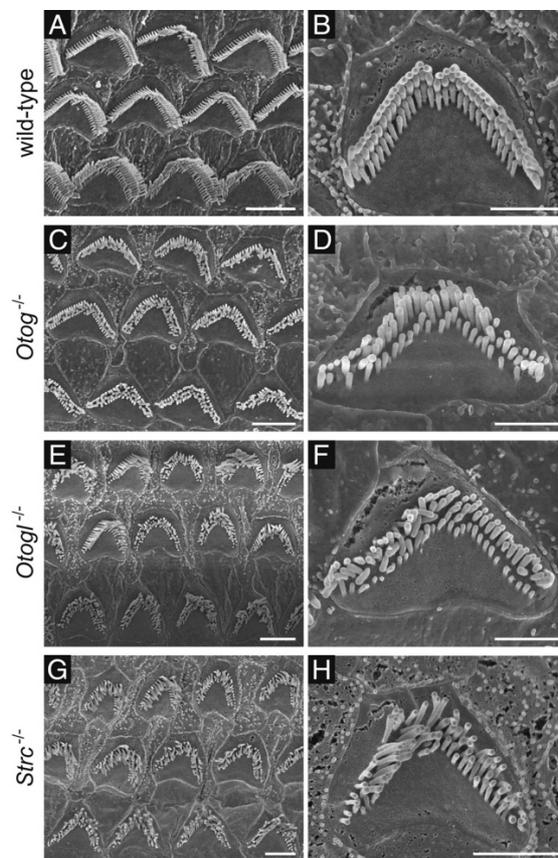


Figure 31 : Images prises au microscope électronique à balayage d'une touffe ciliaire de OHCs présentant des défauts de cohésion chez les mutants *Otog*^{-/-}, *Otogl*^{-/-} et *Strc*^{-/-}.

Une touffe ciliaire de souris adulte sauvage (A et B) montre une rangée en V structurée. L'absence de « top-connectors » désorganise la touffe ciliaire chez les mutants *Otog*^{-/-} (C et D), *Otogl*^{-/-} (E et F) et *Strc*^{-/-} (G et H). (Avan et al. 2019)

L'analyse de la distribution de chacune des trois protéines au sein de la touffe ciliaire des OHCs de souris mutantes pour *Otogl*, *Otog*, ou *Strc* au cours du développement post-natal a permis de démontrer que la stéréociline, otogéline et otogéline-like interagissent directement

ou indirectement pour former les top-connectors et les couronnes d'attachement à la membrane tectoriale des OHCs (Avan et al. 2019). Ce travail a permis de proposer un modèle (**Figure 32**) dans lequel la stéréociline constitue le point d'ancrage à la membrane plasmique de dimères d'otogéline ou d'otogéline-like, formés grâce à la dimérisation du domaine CTCK. Le dimère de CTCK, qui constitue une structure hautement résistante, pourrait correspondre à la densité centrale caractéristique des « top-connectors ». Dans ce modèle, **l'interaction de stéréociline et d'otogéline est nécessaire, dans les premiers jours de développement post-natal, à la formation des couronnes dont le couplage ultérieur à la membrane tectoriale nécessite otogéline-like. De même, les premiers « top-connectors » contiennent stéréociline et otogéline, puis ils sont remplacés par des « top-connectors » constitués de stéréociline et d'otogéline-like.**

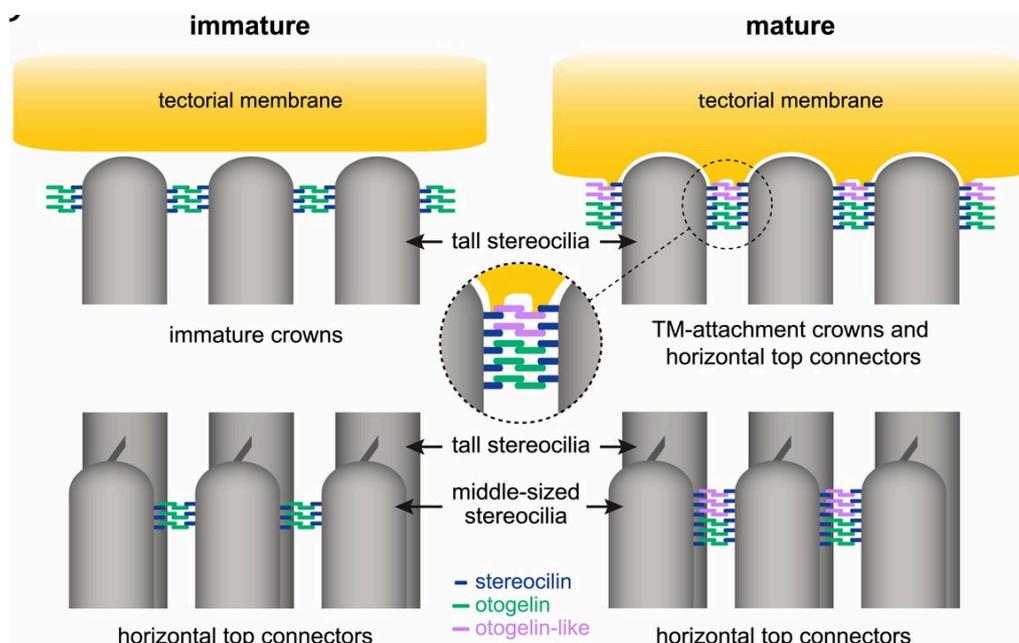


Figure 32 : Modèle proposé pour la formation de couronnes d'attachement de la membrane tectoriale et de connecteurs supérieurs horizontaux dans les OHCs de souris immatures et matures.

Ce modèle est basé sur l'homodimérisation antiparallèle d'otogéline et d'otogéline-like qui interagissent avec stéréociline. La formation post-natal des couronnes immatures implique initialement stéréociline et otogéline, avec l'incorporation d'otogéline-like par la suite (Avan et al. 2019).

En résumé, stéréociline, otogéline et otogéline-like, interagissent (directement ou indirectement) pour former les connecteurs horizontaux des OHCs, assurant ainsi la cohésion de leur touffe ciliaire, et pour ancrer l'apex des grands stéréocils dans la membrane tectoriale. Otogéline et otogéline-like sont également, comme décrites initialement, des protéines de la membrane tectoriale.

Mon projet de thèse avait pour objectif d'améliorer la compréhension du fonctionnement des microcircuits neuronaux dans le cortex auditif et d'étudier les mécanismes développementaux impliqués dans le développement de l'excitation et l'inhibition corticale. Le point d'entrée utilisé par mon laboratoire repose sur l'observation que plusieurs lignées de souris mutantes pour des gènes de surdité présentent une prédisposition aux crises audiogènes. Or, ces crises audiogènes sont un des symptômes d'un défaut de maturation de l'équilibre excitation/inhibition durant le développement. **Cette prédisposition suggère que certains gènes de surdité dont on connaît le rôle dans la cochlée, l'organe sensoriel de l'audition, ont un tout autre rôle indépendant dans le système auditif central.** Parmi ces gènes, deux codent pour des protéines apparentées aux cadhérines, *cdhr15* et *cdhr23* (Libé-Philippot, Michel, Monvel, et al. 2017). Il a été montré que des cellules précurseurs d'une sous-population d'interneurones expriment deux protéines apparentées aux cadhérines, *Cdhr15* et *Cdhr23*, au cours de leur migration embryonnaire, depuis leur naissance dans l'éminence ganglionnaire médiane du cerveau jusqu'à leur destination finale dans le cortex auditif. Chez les embryons de souris mutants déficients pour *Cdhr15* ou *Cdhr23*, la migration de cette sous-population d'interneurones vers le cortex auditif en développement est perturbée. Cette perturbation se traduit plus tard au cours du développement postnatal dans le cortex auditif uniquement par une forte diminution du nombre d'interneurones à parvalbumine, une des trois grandes classes d'interneurones. **Mon projet de thèse porte sur la caractérisation de trois autres protéines : la stéréociline, otogéline et otogéline-like** pour lesquelles des mutations des gènes les codant respectivement entraînent une surdité périphérique mais aussi une susceptibilité aux crises audiogènes chez la souris. Dans la cochlée, ces trois protéines forment un complexe moléculaire impliqué dans la cohésion de la touffe ciliaire, antenne mécanique de réception au son des cellules sensorielles.

Matériels et méthodes

Animaux.

L'expérimentation animale a été effectuée selon les réglementations française et européenne concernant le bien-être animal (directive européenne 2010/63 et décret français 118 du 1er février 2013), avec l'accord du comité d'éthique de l'Institut Pasteur (Institut Pasteur-DAPI 170051). Les animaux ont été élevés dans les de l'Institut Pasteur ainsi que dans l'animalerie centrale de l'Institut de l'Audition, animaleries accréditées par le Ministère de l'Agriculture Française.

Les souris $Otogl^{tm1Ugds/tm1Ugds}$ appelées par la suite $Otogl^{-/-}$, $Otogl^{tm(IRES-CRE)}$ (appelées $POtogl-Cre^{KI/+}$) et $Otogl^{tm(IRES-CRE-F3-ERT2-F3)}$ ($POtogl-Cre-ERT2^{KI/+}$) ont été générées par l'Institut Clinique de la Souris (iCS, Illkirch, France) et possèdent un fonds génétique C57BL/6N. Les souris stéréociline ($Strc^{tm1Ugds/tm1Ugds}$, nommées par la suite, $Strc^{-/-}$) et les souris otogéline ($Otog^{tm1Prs/tm1Prs}$, nommées par la suite $Otog^{-/-}$) ont été décrites dans des articles précédemment publiés (Elisabeth Verpy et al. 2008; Simmler, Cohen-Salmon, et al. 2000). La lignée *Rosa-tdTomato* sous fonds génétique C57BL/6J a été obtenue des laboratoires Jackson (Bar Arbor, États-Unis). Les souris sauvages décrites dans ma thèse proviennent de façon systématique des mêmes portées que les souris mutantes afin de limiter les biais expérimentaux. Toutes les souris génétiquement modifiées ont été prélevées aux phalanges (avant 12 jours) afin d'être identifiées et génotypées.

Génotypage.

Afin d'identifier les souris sauvages, homozygotes et hétérozygotes, les souris ont été prélevées par phalangectomie et les biopsies ont été soit génotypées au sein du laboratoire soit sous-traitées auprès de Transnetyx (Cordova, États-Unis).

L'ADN de chaque échantillon est extrait à l'aide du kit REDEExtract-N-Amp Tissue PCR Kit (Sigma-Aldrich). Une PCR (en anglais, *Polymerase Chain Reaction*) a ensuite été effectuée avec des couples d'amorces (**Tableau 2**) en utilisant une machine PCR de type Thermocycleur Eppendorf Mastercycler Nexus Gradient. Pour chaque PCR, un témoin négatif (eau purifiée stérile) et un témoin positif (souris hétérozygote) ont été testés en parallèle. Les produits de PCR ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,7% dans un tampon TAE 1X (Tris, Acétate, EDTA). La visualisation du gel d'électrophorèse était réalisée sous lumière ultraviolette et le gel photographié grâce à l'E-Box de Vilber.

Lignée	PCR	Amorce forward (5' à 3')	Amorce reverse (5' à 3')
Otog	PCR 1	CTGGGCCAGGCTCTCTGATTGCC	TCTCGGGACCCCTCCAGAGAAGG
	PCR 2	AGACCAACTGGTAATGGTAGCGACC	CTGGGTAATAAGCGTTGGCAATTTAACC
Otogl	PCR 1	GGAGCCTCAGTACACAGTATGGG	GTAAACACATGATATTTCTCCACAGCC
	PCR 2	GTGCAGGGAATCATGTACAGCTTGG	
Strc	PCR 1	GGGCTCTGAGGAGGCTCTTTGGG	CAGAGGCACACCTCTGCTCAGG
	PCR 2	TGGGATTTGAACTCAGGTTGCTAGG	
POtogl-Cre	PCR 1	TTGAAAGTCACCTGAGGTTCTGCAAGTG	AGGGCACAAGGGACTGAATGGAAAG
	PCR 2	GTGATGGGAAATGCCCGTCAGCTAC	CAAGCGGCTTCGGCCAGTAACGTTAG
POtogl-Cre-ERT2	PCR 1	TTGAAAGTCACCTGAGGTTCTGCAAGTG	AGGGCACAAGGGACTGAATGGAAAG
	PCR 2	GCTTCGATGATGGGCTTACT	CCTGATCATGGAGGGTCAAATC
Rosa-tdTomato	PCR 1	AAGGGAGCTGCAGTGGAGTA	CCGAAAATCTGTGGGAAGTC
	PCR 2	CTGTTCTGTACGGCATGG	GGCATTAAAGCAGCGTATCC

Tableau 2 : Liste des amorces utilisées et leurs séquences

Stimulations sonores.

La disposition aux crises audiogènes a été testée en envoyant aux animaux des sons monofréquentiels (ton pur) à partir d'un haut-parleur calibré placé au-dessus d'un cylindre en plexiglas (hauteur : 30 cm, diamètre : 15 cm). Les souris étaient placées à l'intérieur du cylindre en plexiglas, étaient libres de leurs mouvements et étaient testées qu'une seule fois. Les stimulations sonores étaient interrompues dès les premiers signes de crises audiogènes, à savoir le début de sauts effrénés. J'ai évalué la proportion des animaux manifestant des crises audiogènes entre P21 et P28, avec des stimulations de forte intensité (100-110 dB SPL) de sons monofréquentiels basse fréquence pour la souris (majoritairement à 10-11 kHz). Si la crise ne survenait pas au bout d'une minute, l'exposition sonore était interrompue.

Tests auditifs fonctionnels

Les souris étaient anesthésiées par injection intrapéritonéale d'un mélange de kétamine (100mg/kg, Virbac, France) et xylazine (20 mg/kg, Rompun, France). La température de l'animal était maintenue à 37°C (Microprobe Thermometer, BAT-12, WPI, UK) avec un coussin isotherme (Homeothermic Blanket System, Harvard Apparatus).

Les potentiels évoqués auditifs (ABRs) (Ozdamar et al. 1994)

Pour les enregistrements des potentiels évoqués auditifs appelés en anglais *Auditory Brainstem Responses* (ABRs), trois électrodes étaient placées au niveau du crâne : l'électrode de masse dans le dos de l'animal, l'électrode de référence sur son front et l'électrode de mesure au niveau de la mastoïde ipsilatérale. Celles-ci étaient connectées à un préamplificateur afin d'enregistrer les potentiels électriques dans les voies auditives en réponse à des tons purs de fréquences allant de 2 à 32 kHz. L'intensité sonore des stimuli sonores balayait la gamme 15-115 dB de pression acoustique (dB SPL, « *sound pressure level*»), par paliers de 5 dB en 5dB SPL. Les réponses des électrodes ont été amplifiées (gain de 10 000), filtrées, converties de manière digitale, et moyennées avec un système d'acquisition compressif. Les ABRs étaient moyennés sur 250 stimulations.

Les courbes ABRs se présentent sous la forme de 5 ondes ou pics, chaque pic correspondant à l'activité électrique moyennée d'un relais auditif central. En effet les différents relais synaptiques montrent une activité électrique : l'onde I correspond à l'activité électrique mesurée dans les synapses à rubans des IHCs avec les neurones auditifs afférents ; l'onde II correspond aux noyaux cochléaires ; l'onde III au complexe olivaire supérieur ; l'onde IV au colliculus inférieur et l'onde V au thalamus (X. Zhou et al. 2006). Pour chaque fréquence testée, l'intensité sonore a été atténuée jusqu'au moment où aucune onde n'était détectable. Les seuils auditifs sont définis comme le premier niveau de stimulation sonore auquel une forme d'onde ABR est encore détectable par l'expérimentateur. L'amplitude de l'onde I des ABRs est mesurée par la différence de voltage entre le pic de l'onde I et le creux du signal entre les ondes I et II. La latence de l'onde est mesurée par la différence entre l'envoi du son et l'apparition du pic de l'onde I. Les seuils, amplitudes d'ondes et les latences ont été mesurés à partir des tracés des enregistrements par des analyses post-expérimentales.

Les otoémissions acoustiques (Collet 1994)

Les otoémissions acoustiques des produits de distorsion appelées en anglais *distortion-product otoacoustic emissions* (DPOAEs) sont une mesure qui reflète l'activité de transduction mécano-électrique des OHCs. Ceux-ci ont été enregistrés avec un microphone miniature à l'entrée du canal auditif. Deux tons purs primaires ont été envoyés de manière simultanée (sons de fréquence f_1 et f_2 avec la fréquence f_1 qui a été choisie de sorte que le ratio f_2/f_1 soit égal à 1,2 à la même intensité. Les DPOAEs ont été mesurés à $f_2 = 10, 12, 16, 24$ et 32 kHz. Les deux fréquences ont été envoyés à la même intensité, de 15 à 75 dB SPL par pas de 10 dB. La différence de ton cubique à $2f_1-f_2$ a été mesurée pour des fréquences sonores primaires d'intensité égale pour évaluer l'amplitude de la réponse des DPOAEs.

Les réponses auditives masquées du tronc cérébral (Giraudet et al. 2021)

Ce protocole a été utilisé afin d'évaluer la réponse spécifique des fibres à haut seuil. Celui-ci se déroule en deux étapes. Les ABRs étaient d'abord mesurés à 60 dB SPL et ceux-ci sont supposés refléter principalement l'activité des fibres à bas seuil qui sont recrutées par ce protocole dans leur très grande majorité. Un bruit gaussien à large bande continu était ensuite produit par un générateur d'ondes (8904A Multifunction Synthesizer DC-600 kHz, Hewlett-Packard), bruit qui pouvait être atténué au besoin par un atténuateur (PA5, Tucker-Davis Technologies) et envoyé au conduit auditif grâce à un écouteur calibré (FT17 avec adaptateur de champ fermé, Fostex, Japon). Ce montage permettait un spectre de masquage à ± 5 dB entre 3 et 50 kHz. Afin de masquer la réponse des ABRs enregistrés à 60 dB SPL, le niveau de masquage était progressivement accru par pas de 1 dB. Ce niveau de masquage était ensuite maintenu fixe pour le reste de l'expérimentation. Après masquage de la réponse ABR des fibres à bas seuil et donc de 'l'effacement' du signal ABR, le son test servant à générer les ABRs est accru par tranches de 10dB. Cette manipulation fait émerger à nouveau le signal ABR en 5 ondes. Ces ABRs sont appelés ABRs réémergents et ont été enregistrés pour des intensités croissantes de 70 à 100 dB SPL par pas de 10 dB. Ceux-ci seraient générés par les fibres à haut seuil qui sont recrutées par cette augmentation d'intensité sonore. En effet, il a été montré que des souris ayant subi un traumatisme sonore (Kujawa et Liberman 2009) connue pour endommager les fibres à haut seuil, éliminait cette réponse ABR-réémergente (Giraudet et al. 2021). Cette réémergence du signal a donc été provoquée par l'excitation des neurones à haut seuil que le bruit de masquage ne sature pas. La comparaison des ABRs enregistrés à 60 dB et des ABRs réémergents a permis de caractériser les réponses des sous-catégories de neurones du nerf auditif des souris mutantes pour *Otogl*.

Réflexe stapédien (Duron, Monconduit, et Avan 2020)

Le réflexe stapédien (*middle ear muscle reflex*, MEMR en anglais) consiste en une contraction du muscle stapédien tirant sur l'étrier qui transmet les vibrations induites par le son du système tympano-ossiculaire à l'oreille interne remplie de liquide. Ce réflexe est déclenché par le son lorsque le niveau sonore dépasse le seuil réflexe. Ce réflexe protecteur permet d'atténuer le son atteignant l'oreille interne grâce au changement de la rigidité membranaire. Les émissions otoacoustiques produites par distorsion (DPOAE) générées par un stimulus sonore bitonal aux fréquences voisines f_1 et f_2 sont appropriées pour l'étude du MEMR car leur fréquence, $2f_1-f_2$, peut être choisie pour détecter de manière optimale le MEMR.

Le stimulus pour les mesures de DPOAE a été fait de deux tons à $f_2 = 8$ kHz et $f_1 = 6,67$ kHz (donc, $2f_1-f_2 = 5,33$ kHz) envoyés à l'oreille droite à une intensité de 50 dB SPL (en dessous du seuil MEMR) avec des phases d'apparition fixes. Le produit de distorsion $2f_1-f_2$ était recueilli à l'oreille droite. Le son provoquant le MEMR a été présenté dans l'oreille gauche par un écouteur calibré scellé dans le conduit auditif pour éviter les interférences acoustiques avec la détection du DPOAE. Il s'agissait d'un bruit blanc filtré passe-bande [0,02–20 kHz], censé avoir une efficacité de déclenchement maximale, à un niveau augmentant de 40 à 90 dB SPL par pas de 5 dB. Lorsque l'intensité de stimulation est suffisante pour induire un déphasage moyen du DPOAE ($2f_1-f_2$), on considère cette intensité comme seuil d'activation du réflexe stapédien car ce décalage fournit la réponse la plus sensible et la plus robuste au fonctionnement MEMR (Avan et al. 2000).

Les ABRs, les DPOAEs, les réponses auditives masquées et les mesures de réflexes stapédien ont été effectués par Paul Avan et Fabrice Giraudet du laboratoire de Biophysique Neurosensorielle (Clermont-Ferrand, France).

Préparation des tissus

Cerveaux

Au stade embryonnaire, le stade est déterminé soit par la date d'accouplement soit par analogie avec les observations des stades embryonnaire. Jusqu'au stade E17, les embryons de souris ont été fixés par immersion dans un tampon phosphate salin (PBS, pour phosphate-buffered saline) contenant 4% de paraformaldéhyde (PFA). Au-delà de E17, les embryons de souris étaient disséqués et la tête entière fixée par immersion dans du PBS contenant 4% de PFA. Les tissus embryonnaires étaient fixés pendant trois jours, puis rincés dans du PBS. A partir de E18, les

cerveaux des souriceaux étaient extraits de la boîte crânienne puis fixés dans une solution de PBS contenant 4% de PFA durant 24h, et enfin rincés dans du PBS.

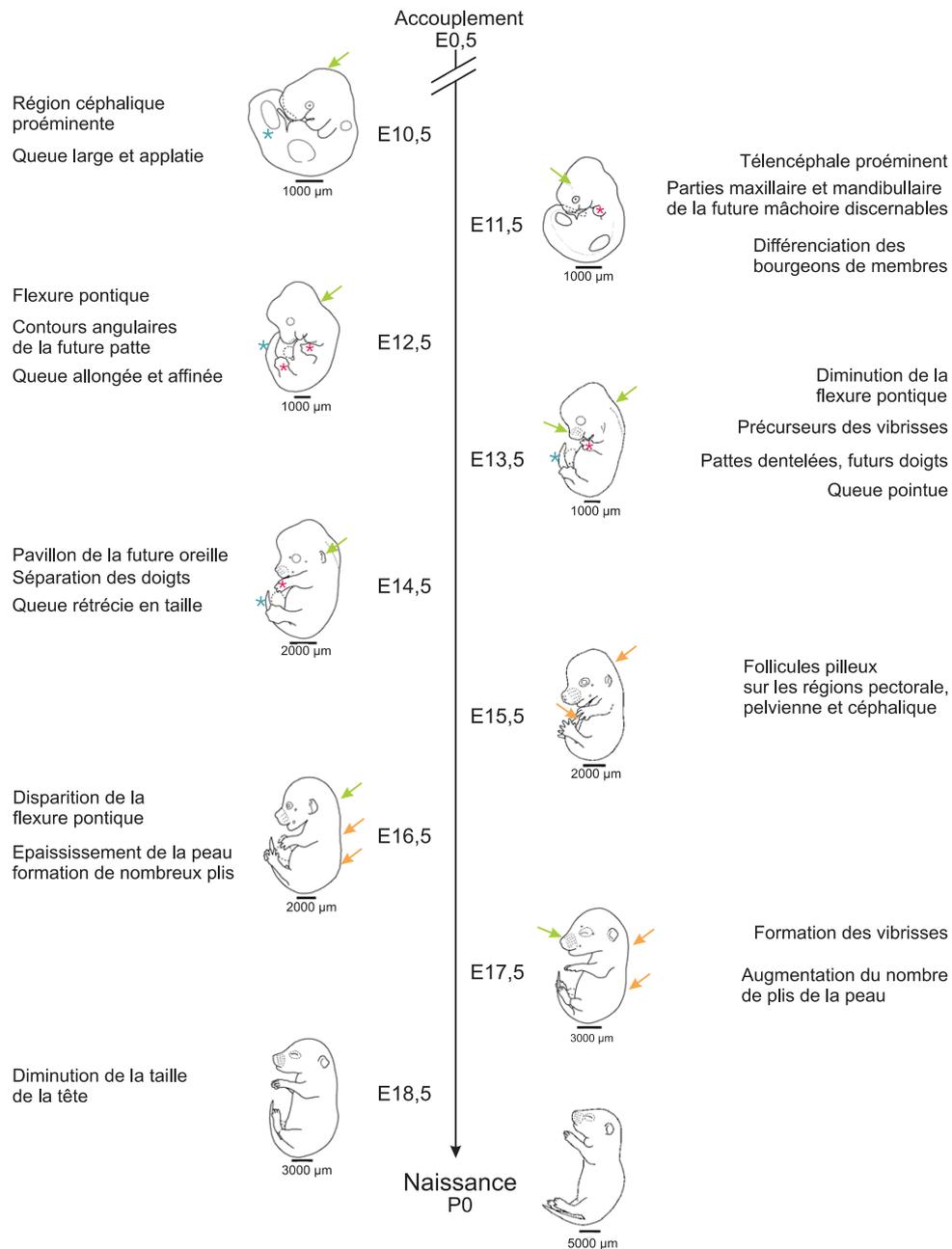


Figure 33 : Caractérisation des stades de développements embryonnaire chez la souris.

La gestation dure 19 à 20 jours, E0,5 correspond au jour suivant la nuit d'accouplement. Les régions céphaliques (flèches vertes), des membres (astérisques rouges), de la queue (astérisques bleues) et de la peau (flèches oranges) permettent de déterminer le stade embryonnaire.

Au-delà de P20, les souris étaient anesthésiées par un mélange de xylazine (60 mg/kg) et kétamine (150 mg/kg) par injection intrapéritonéale, puis étaient fixées par perfusion intracardiaque de PBS contenant 4% de PFA. Les cerveaux étaient inclus soit dans 2% d'agarose pour être coupés avec un vibratome (Leica Biosystems, Wetzlar, Allemagne), épaisseur allant de 80 à 200µm ou étaient déshydratés pendant plusieurs jours dans une solution de 30% de sucrose dans du PBS avant leur inclusion dans de l'OCT (Optimal Cutting Temperature compound) (Sakura Finetek Europe) en vue d'une coupe au cryostat (Leica Biosystems, Wetzlar, Allemagne) en tranches de 20µm déposées sur des lames SuperFrost Plus (Menzel-Gläser, Braunschweig, Allemagne). Parfois, certaines tranches au cryostat étaient coupées à 60µm d'épaisseur afin d'effectuer des marquages sur coupes flottantes. Les tranches étaient déposées dans une plaque 12 puits rempli de PBS.

Immunomarquages cerveau

Après dissection des cerveaux, les tranches étaient perméabilisées dans une solution de 0,25% de Triton X-100 dans du PBS (Sigma-Aldrich) et bloquées dans une solution de 1% d'albumine de sérum bovin (BSA) (Sigma-Aldrich) et 5% de sérum de chèvre dans du PBS. Les anticorps primaires (dont la liste est rapportée dans le **Tableau 3**) étaient dilués dans une solution de 0,1% de Triton X-100, de 1% de BSA et 5% de sérum de chèvre (NGS, en anglais, Normal Goat Serum) dans du PBS et étaient incubés toute la nuit à 4°C sur lame et deux nuits pour les tranches de cerveaux flottantes de 60µm.

Anticorps	Catégorie	Fabricant	Référence	Dilution
Calbindin	Lapin	Cell Signaling	13176	1/200
Calretinin	Lapin	Swant	7697	1/1000
Ctip2	Rat	Abcam	ab18465	
Cux1	Lapin	Sigma	HPA003277	
Doublecortine	Poulet	Abcam	ab153668	
Doublecortine	Lapin	ProteinTech	13925-1-AP	
DARPP-32	Lapin	Abcam	ab40801	
GAD2/65	Cochon d'inde	Synaptic System	198104	
GAD65	Lapin	ProteinTech	21760-1-AP	
GAD67	Poulet	Abcam	ab75712	

Parvalbumine	Lapin	Swant	PV27	1/1000-1/2000
Parvalbumine	Souris	Swant	PV235	1/1000-1/2000
RFP	Lapin	Bio Vision	3993-100	1/1000
SATB2	Lapin	Abcam	ab92446	
Somatostatine	Lapin	Immunostar	20067	1/100
TBR1	Lapin	Abcam	ab31940	1/200
VGlut1	Cochon d'inde	Synaptic System	135304	1/200
NeuN	Souris	Millipore	MAB377	
Pou4f1 (znit Brn-3a)	Souris	Millipore	MAB1585	1/60
GluR2	Souris	Millipore	MAB397	1/500
CtpB2 (GluR2) IgG2	Souris	BD Biosciences	612044	1/2000
Ribeye	Lapin	Synaptic System	192 103	1/200
NeuroFilament	Poulet	Millipore	AB5539	

Tableau 3 : Liste des anticorps primaires utilisés

Les anticorps dirigés contre l'otogéline-like, la stéréociline et l'otogéline avaient été validés sur les souris knock-out correspondantes dans la cochlée et avaient été produits au laboratoire par Elizabeth Verpy. L'anticorps polyclonal de lapin anti-stéréociline est dirigé contre le peptide synthétique CFLSPEELQSLVPLSD (acides aminés 970-985, RefSeq accession number NP_536707.2). Les anticorps polyclonaux de lapin anti-otogéline et anti-otogéline-like sont dirigés contre les deux peptides synthétiques SELHPDPELSRERTC (acides aminés 881-895 RefSeq accession number NP_038652.2) et CDPGLCEAEQVPTCREDQ (acides aminés 2528-2545, RefSeq accession number NP_038652.2) pour otogéline et CTDREEHPRSAGEIWN (acides aminés 1838-1853) et CLNDAPYKQKRSGFFLE (acides aminés 1005-1020, RefSeq accession number NP_001171038.1) pour otogéline-like. Les anticorps ont été purifiés.

Les anticorps 'faits maison' contre otogéline, otogéline-like et stéréociline qui étaient spécifiques dans la cochlée se sont révélés très aspécifiques dans le cerveau. Comme ma thèse

portait principalement sur otogéline-like, j'ai fait produire par ProteoGenix (Schiltigheim, France) de nouveaux anticorps otogéline-like qui étaient dirigés contre plusieurs domaines de la séquence.

Les anticorps secondaires (répertoriés dans le **Tableau 4**) ont été utilisés (1/500) dans du PBS-BSA 1%. Les noyaux cellulaires étaient révélés par du 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (1/10000, #D9542, Sigma-Aldrich) ajouté à la solution d'anticorps secondaires.

Anticorps secondaires	Catégorie	Fabricant	Référence
488 (Alexa Fluor) Donkey Anti-Goat	Âne	Invitrogen	A-11055
488 (Alexa Fluor) Donkey Anti-mouse	Âne	Abcam	ab150105
488 (Alexa Fluor) Donkey Anti-rabbit	Âne	Abcam	ab150073
488 (Alexa Fluor) Donkey Anti-rat	Âne	Invitrogen	A-21208
488 (Alexa Fluor) Donkey Anti-sheep	Âne	Invitrogen	A-11015
488 (Alexa Fluor) Goat Anti-chicken	Chèvre	Invitrogen	A-11039
488 (Alexa Fluor) Goat Anti-guinea-pig	Chèvre	Invitrogen	A-11073
488 (Alexa Fluor) Goat Anti-mouse IgG1	Chèvre	Invitrogen	A21121
488 (Alexa Fluor) Goat Anti-rabbit	Chèvre	Abcam	ab150077
488 (Atto) Goat Anti-rabbit	Chèvre	Sigma	18772
550 (Atto) Goat Anti-rabbit	Chèvre	Sigma	43328
555 (Alexa Fluor) Donkey Anti-goat	Âne	Abcam	ab150130
555 (Alexa Fluor) Donkey Anti-mouse	Âne	Abcam	ab150106
555 (Alexa Fluor) Goat Anti-rabbit	Chèvre	Abcam	ab150078
590 (RED TEXAS) Donkey anti-chicken	Âne	Sigma	SAB3700214
594 (Alexa Fluor) Goat anti-mouse IgG2	Chèvre	Invitrogen	A21135
594 (Alexa Fluor) Goat anti-rabbit	Chèvre	Abcam	ab150080
594 (Alexa Fluor) Donkey Anti-mouse	Âne	Abcam	ab150108
647 (Alexa Fluor) Donkey Anti-goat	Âne	Abcam	ab150131
647 (Alexa Fluor) Donkey Anti-rabbit	Âne	Abcam	ab150075
647 (Alexa Fluor) Goat anti-guinea-pig	Chèvre	Abcam	ab150187
647 (Alexa Fluor) Donkey Anti-rat	Âne	Abcam	ab150155

680 (Alexa Fluor) Donkey Anti-mouse	Âne	Abcam	ab175774
-------------------------------------	-----	-------	----------

Tableau 4 : liste des anticorps secondaires utilisés

Les échantillons étaient montés entre lame et lamelle dans du Fluorsave (Calbiochem, San Diego, Etats- Unis) sur des lames superfrost (FisherScientific, Waltham, Etats-Unis).

Immunomarquages Organe de Corti

Après prélèvement des oreilles internes, une ouverture était réalisée à l’apex de chaque cochlée puis fixées par immersion dans du PBS contenant 4% de PFA pendant 45 minutes à température ambiante. Si celles-ci étaient destinées à une coupe par le cryostat, elles ont été tout d’abord décalcifiées dans de l’EDTA 0,35M (acide éthylènediaminetétraacétique) pendant une à deux nuit à 4°C, puis rincées dans du PBS et refixées 1h dans du PBNS contenant 4% de PFA. Les oreilles internes étaient ensuite déshydratées dans du sucrose 20% une nuit et étaient ensuite incluses dans de l’OCT en vues de coupes au cryostat de 12µm d’épaisseur.

Quant aux organes de Corti montés « in toto », ceux-ci étaient obtenus par microdissection sous loupe binoculaire des cochlées. Une étape de blocage a été réalisée à température ambiante pendant une heure dans une dilution de triton (0,03%) et de sérum de cheval (20%). Les échantillons étaient ensuite incubés en présence d’anticorps primaires (**Tableau 3**) toute la nuit à 4°C, à température ambiante, ou à 37°C en fonction des anticorps. Les échantillons étaient ensuite rincés au PBS puis incubés avec les anticorps secondaires pendant une heure. Les filaments d’actine étaient révélés par la phalloïdine Atto-565 (1/1000, #94072, Sigma-Aldrich) et les noyaux cellulaires par du 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (1/7500, #D9542, Sigma-Aldrich). La microdissection était ensuite finalisée par le retrait de la strie vasculaire, de la membrane de Reissner et de la membrane tectoriale.

Microscopie

Les images ont été acquises à l’aide d’un microscope confocal Airyscan/LSM-900 et d’un microscope LSM 700 (Zeiss, Oberkochen, Allemagne). Les objectifs utilisés étaient : un objectif 63x NA 1.4 à plan apochromatique et à immersion à huile, un objectif 40x NA 0.8 LCI à plan Neofluar à immersion à huile, un objectif 5x NA 0.16 à plan apochromatique sans immersion, et un objectif 20x NA 0.8 à plan apochromatique sans immersion. Toutes les images ont été converties au format RGB avec Fiji (OpenSource, Etats- Unis) et traitées avec Photoshop (Adobe, San José, Etats-Unis).

Quantification des marquages sur tranches histologiques.

Le nombre de corps cellulaires positifs à la parvalbumine a été quantifié avec l'outil "spot detector" du logiciel Icy (Institut Pasteur, Paris, France) ou en utilisant l'outil « cell counter » du logiciel Fiji. Seuls les corps cellulaires d'un diamètre supérieur à 12 µm ont été pris en considération. La fluorescence moyenne du marquage calbindine a été mesurée avec ImageJ, en comparant la distribution des intensités de chaque pixel.

Western blot analysis

Afin de valider l'anticorps dirigé contre otogéline-like, j'ai effectué des western blots. Pour ce faire, les protéines totales de cerveau, du tronc cérébral et de l'organe de Corti de souris P20 mutantes (*Otogl^{-/-}*) et contrôles (*Otogl^{+/+}*) ont été extraites à l'aide du tampon RIPA (tampon de dosage de radioimmunoprécipitation) et solubilisées par sonication. La concentration totale en protéines a été mesurée par le test de Bradford. Les protéines ont été transférées sur membrane PVDF (PolyVinylidene Fluoride) en utilisant le système Trans turbo (Bio-rad). L'hybridation a été effectuée en utilisant l'iBind Western System (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, Etats-Unis) avec un anticorps primaire dirigé contre Otogl (ProtéoGenix) et l'anticorps secondaire IgG de chèvre anti- souris couplé à l'HRP (HorseRadish Peroxidase) (dilution, 1: 2000, GE healthcare). Les protéines ont été révélées par des substrats ECL (Bio-rad) et analysées avec le système d'imagerie ChemiDoc™ (Bio-rad).

Extraction d'ARN et RT-PCR

L'extraction d'ARN cellulaire de cerveaux et de cochlées s'est faite avec le kit RNA Extraction Nucleospin (Macherey-Nagel, Düren, Allemagne). Les concentrations des ARN récupérés étaient mesurées à l'aide d'un NanoDrop (ThermoFisher Scientific). Les RT-PCR étaient effectuées avec le thermocycleur Eppendorf Mastercycler Nexus Gradient et le kit Superscript™ One-step RT-PCR with Platinum Taq (Invitrogen, Carlsbad, Etats-Unis). Le mélange réactionnel contenant 200 ng d'ARN suit une étape de « pré-dénaturation » avec un cycle à 55°C durant 30 minutes et un cycle à 94°C durant 2 minutes. L'étape d'amplification est réalisée en trois étapes : une étape de dénaturation à 94°C durant 15 secondes, suivi d'une étape d'hybridation à 56°C durant 30 secondes et enfin une étape d'extension à 68°C durant 50 minutes (1min/kb). Ces trois étapes sont répétées sur 40 cycles. Les produits de PCR sont analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,7% dans un tampon TAE 1X (Tris, Acétate,

EDTA). Les amorces utilisées sont listées ci-dessous. A chaque lignée murine d'étude, deux couples d'amorces ont été conçues à deux endroits différents de la séquence du transcrit en cas d'épissage.

Otog	CTACCAGCTGTCCAGTGTGGC GTTCTCTACAGCAGACATGAGTG
Otog 2	GGTGAAGTGATCCTGTTACAGCC CTGACACTCAGGCATGGGATC
Otog1	CTCCTGCTGGCTTAATCATAAAGTG GCATCACATTCGTAGCTCCAGAAG
Otog1 2	GAGACACTGAAATATACCTCAATGATGC CCACAGAATGGTGATATCTTCCTCC
Strc	GCTACTGCGAGTCACTCATTCTC CTTCCCGCTGCAAGTACTCTC
Strc 2	CTGCGACACAAATCTCAGAGATGG CTGTGTAACCCAGTGCTGTCAG

Tableau 5 : Amorces de RT-PCR utilisées

Hybridation in situ par la technique de RNAscope

Afin d'analyser l'expression des gènes d'intérêt dans les différents tissus que j'ai étudiés au cours de ma thèse, j'ai choisi d'utiliser le RNAscope (Advanced Cell Diagnostic, Newark, Etats-Unis) qui procure l'information spatiale d'expression des gènes avec une grande sensibilité et une grande spécificité. Le RNAscope est une technique développée récemment qui repose sur la conception de sondes spécifiques et sur l'amplification du signal. Les sondes sont sous forme d'un double Z formées d'une région de 18 à 25 paires de bases (pb) complémentaires à l'ARNm cible, d'un espaceur et d'une queue de 14 pb. Les deux queues du double Z vont s'hybrider avec un pré-amplificateur qui contient des sites de fixations pour l'amplificateur uniquement si les deux sondes Z ont pu s'hybrider côte à côte. C'est l'utilisation de ces doublets de sondes qui permet d'obtenir une grande spécificité avec très peu de bruit de

fond. L'amplificateur contient à son tour une vingtaine de sites de marquage. Les sondes sont marquées par fluorescence et peuvent être visualisées par microscopie à fluorescence.

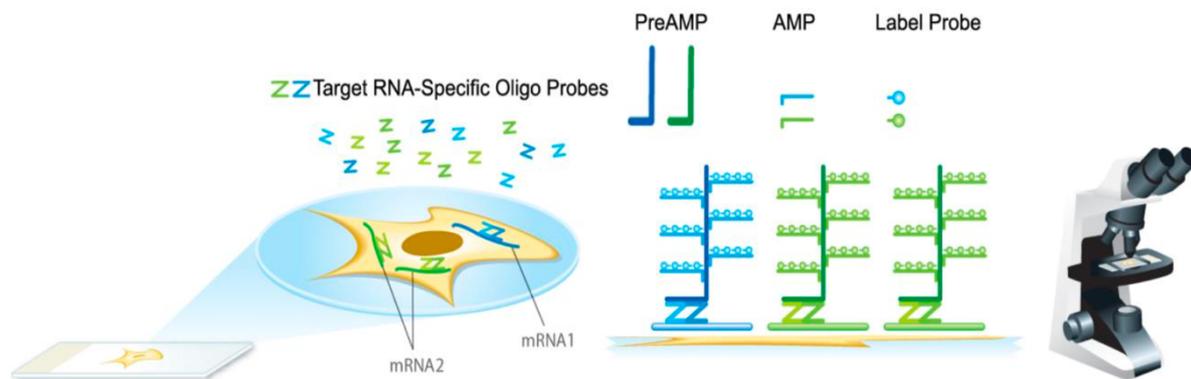


Figure 34 : Schéma descriptif de la technique du RNAscope

Après fixation à la PFA, les cerveaux étaient progressivement déshydratés dans une solution de 10% de sucrose, suivi d'une solution de 20% de sucrose et ensuite 30% de sucrose pour être par la suite inclus dans de l'OCT et coupés au cryostat en tranches de 20µm puis déposées sur des lames SuperFrost Plus (Menzel-Gläser). Les tranches étaient brièvement refixées dans de la PFA4% durant 15 minutes et ensuite déshydratées dans des bains d'éthanol de 50%, 75% et enfin 100%.

L'hybridation *in situ* était réalisée en utilisant le RNAscope Multiplex Fluorescent Reagent Kit V2 (ACD, Cat No. 323100) selon les instructions du fabricant. Les tranches étaient prétraitées avec une solution de peroxyde d'hydrogène pendant 10 min à température ambiante afin de saturer les peroxidases endogènes, puis elles étaient rincées à l'eau Milli-Q, incubées dans un tampon de démasquage de l'antigène durant 5 minutes à température d'ébullition et enfin digérées avec une protéase pendant 30 minutes à 40°C. Les sections de tissu étaient hybridées avec les sondes Probe- Mm-Otogl (Cat No. 567271), Probe- Mm-Otog (Cat No. 824521), Probe- Mm-Strc (Cat No. 513131), Probe- Mm-Slc17a7-C3 (Cat No. 416631-C3 ; VGluT1), Probe- Mm-Slc32a1-C4 (Cat No. 319191-C4 ; GABA), Probe- Mm-Calb2-C2 (Cat No. 313641-C2), Probe- Mm-Pou4f1-C2 (Cat No. 414671-C2) durant 2 heures à 40°C. Après hybridation des sondes sur les lames, elles étaient ensuite soumises à plusieurs cycles d'amplification, marquées ensuite par des fluorophores de type Opal (Opal 570 et Opal 650, Akoya Biosciences, Menlo Park, Etats-Unis) afin d'être détectées. Après blocage, le montage était effectué dans du ProLong™ Gold Antifade Mountant (ThermoFisher Scientific). Les lames étaient ensuite imagées à l'aide de microscopes confocaux.

Analyses statistiques

Les données sont exprimées par leur moyenne + l'écart-type de la moyenne (SEM, pour standard error of the mean). Le nombre (n) dans les figures et le texte correspond au nombre d'animaux. Les animaux de chaque groupe proviennent d'au moins deux portées indépendantes. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel GraphPad et l'outil en ligne BiostaTGV fondé sur le logiciel R (Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique, INSERM, UPMC, Paris, France). Les tests suivants ont été appliqués en fonction des données : test t de Student, test U de Mann – Whitney. La signification statistique est indiquée dans les figures comme suit : n.s., non significatif ; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Les différences ont été considérées comme étant statistiquement significatives si $p < 0,05$.

Résultats

1. Les souris mutantes pour les gènes codant l'otogéline-like, l'otogéline et la stéréociline présentent de fortes prédispositions aux crises audiogènes : une atteinte des voies centrales auditives en plus de l'atteinte cochléaire ?

Plusieurs modèles murins pour des gènes impliqués dans des surdités modérées à sévères présentent une prédisposition aux crises audiogènes. Dans ces modèles murins, on retrouve les souris *Cdhr23*^{+/-}, *Cdhr15*^{+/av-3J} mais également *Adgrv1*^{-/-}, *Strc*^{-/-} et *Otog*^{-/-}. Il a été montré que 100% des souris mutantes homozygotes sont disposées aux crises audiogènes, alors qu'aucune des souris mutantes hétérozygotes des mêmes portées ne le sont (n = 30, p < 10⁻¹³). J'ai poursuivi le criblage des lignées mutantes pour des formes génétiques de surdité et j'ai pu identifier une nouvelle lignée, la lignée *Otogl*^{-/-}. Cette découverte était d'autant plus pertinente qu'*Otogl* est étroitement associée à *strc* et *Otog* dans la touffe ciliaire des cellules ciliées externes où elle participe à la cohésion de la touffe ciliaire.

Les souris mutantes homozygotes *Otogl*^{-/-} ayant une surdité modérée, les sons de forte intensité leurs sont perceptibles et l'audition des souris mutantes hétérozygotes et contrôles *Otogl* étant normale, j'ai exposé ces trois génotypes à un son de forte intensité (11kHz, 110 dB SPL) entre P20 et P28. 93% des souris mutantes homozygotes *Otogl*^{-/-} ont développé les signes de crises audiogènes (course folle, phase tonique, phase clonique) (n = 40) alors qu'une faible proportion des souris sauvages *Otogl*^{+/+} (11%, n = 27) a manifesté ces signes (test exact de Fisher, p < 10⁻⁷) (**Figure 35.A**). 38% des souris mutantes hétérozygotes *Otogl*^{+/-} (n = 32) ont fait des crises audiogènes (test exact de Fisher, p = 0,034).

Notons que la susceptibilité aux crises audiogènes des souris *Otogl*^{-/-} est persistante avec l'âge. A P40, elles font toujours des crises audiogènes contrairement aux souris *Cdhr23*^{+/-} ou *Cdhr15*^{+/av-3J} (80% des souris mutantes homozygotes *Otogl*^{-/-}, n = 5, test exact de Fisher, p = 0,047). Les souris mutantes hétérozygotes *Otogl*^{+/-}, quant à elles, ne font plus de crises à P40 (0 souris sur n = 16, test exact de Fisher, p = 1). Il n'y a aucune différence dans la proportion des mâles et des femelles qui présentaient une susceptibilité aux crises audiogènes (15 sur 19 femelles, 9 sur 12 mâles, test exact de Fisher, p = 0.325). Une observation remarquable de cette prédisposition des mutants *Otogl* aux crises audiogènes est la sévérité et la rapidité de survenue de ces crises. Dès les premiers signes de crise, les deux premières phases (tonique et clonique) s'enchaînent très vite et aboutissent souvent à un arrêt cardiaque et une mort brutale si le son n'est pas arrêté immédiatement dès les premiers signes de la crise. En plus de cette sévérité,

50% des souris mutantes homozygotes *Otogl*^{-/-} démarrent une crise dans les dix premières secondes qui suivent le début de la présentation du son continu. Les souris mutantes hétérozygotes sont moins touchées par cette promptitude à déclencher la crise : dans les dix premières secondes, elles ne sont que 34% à avoir déclenché une crise (**Figure 35.B**).

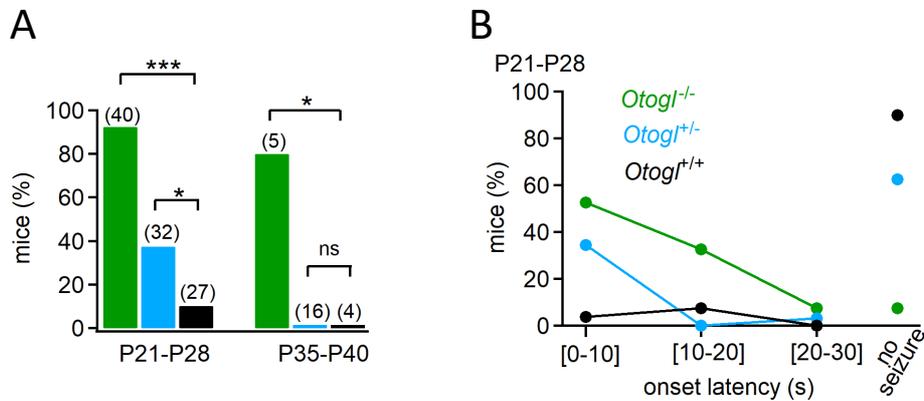


Figure 35 : La lignée mutante *Otogl* présente une prédisposition aux crises audiogènes. (A) Pourcentage des souris contrôles *Otogl*^{+/+} (vert), mutantes hétérozygotes *Otogl*^{+/-}, (bleu) mutantes homozygotes *Otogl*^{-/-} (noir) manifestant des crises audiogènes, (B) Temps de survenue de la crise audiogène après le début du son. On peut voir par exemple que plus de 50% des souris *Otogl*^{-/-} font une crise dans les dix premières secondes après le déclenchement du son. *, p<0,05 ; ***, p < 0,001 ; ns, non significatif (test exact de Fisher)

Afin d'étudier le rôle possible d'*otogl*, *otog* et *strc* dans le système nerveux central, j'ai étudié leur expression dans ces régions d'intérêt, en particulier le cortex auditif. Après extraction de l'ARN messager (ARNm), l'ADN complémentaire (ADNc) a été généré par RT-PCR (rétro-transcriptase). *Strc* ainsi que *MyoVIIa*, *Cdhr15*, *Cdhr23*, *CIB2*, *GPIC3*, impliqués dans la touffe ciliaire et dont la mutation provoque une surdité sont exprimés dans les régions cérébrales telles que le cortex auditif, l'hippocampe, l'IC, le cervelet, en embryonnaire et post-natal. L'expression d'*Otog* est détectée dans l'organe de Corti mais est très faible dans le colliculus inférieur, l'hypothalamus et le tronc cérébral à 6 jours post-natal (P6). La grande majorité des gènes de surdité sont ainsi détectés et exprimés dans les régions cérébrales. Seul *Tecta* est détecté uniquement dans l'organe de Corti à P6 (**Figure 36**). Quant à *Otogl*, 6 isoformes principales sont prédites. Cependant, aucune donnée n'a été publiée sur ces isoformes. En me basant sur leur séquence, il est observé que les isoformes prédits possèdent une séquence supplémentaire en 5' de la séquence principale sauf l'isoforme X3 qui possède une délétion courte en milieu de séquence. Afin d'éviter de ne détecter aléatoirement que certaines isoformes, j'ai choisi des amorces dans la région commune à tous les isoformes. De plus, afin de rendre plus robuste les résultats, j'ai utilisé deux couples d'amorces à deux endroits

distincts de la séquence du transcrit. Après révélation par gel, j'ai observé une expression d'*Otogl* dans toutes les régions cérébrales et dans l'organe de Corti aux stades embryonnaires et post-nataux (**Figure 37**). J'ai cependant cherché à savoir quels isoformes précis étaient détectés dans les régions cérébrales. Pour cela, j'ai créé une amorce forward spécifique à chaque isoforme et une amorce reverse dans la séquence principale et commune à tous les isoformes. Avec ces amorces, j'étais en mesure de pouvoir détecter chaque isoforme mais je n'ai réussi à détecter que les isoformes X1 et X2 dans l'organe de Corti.

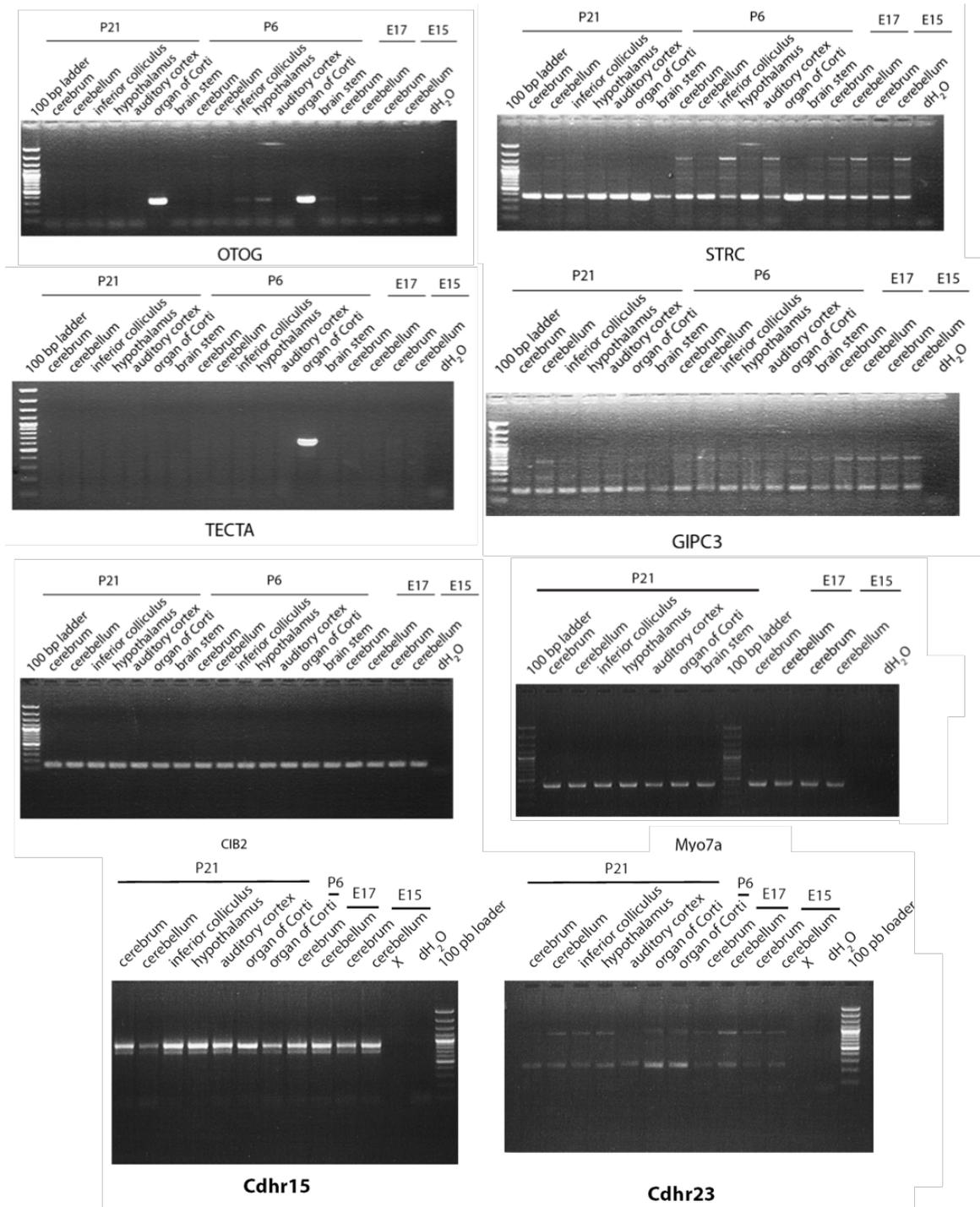


Figure 36 : Étude de l'expression génomique d'ARNm de gènes connus pour leur rôle dans la touffe ciliaire et la transduction. 8 lignées de souris sont présentées ici : *Otog*, *Strc*, *Tecta*, *Gipc3*, *CIB2*, *Myo7a*, *Cdhr15*, *Cdhr23*. Les ARNm sont révélés sur gel par électrophorèse. Une bande blanche indique la présence de transcrits d'ARN. Un contrôle négatif est fait avec de l'eau distillée. Marqueur moléculaire à 100 paires de bases. P21 : 21^{ème} jour post-natal, P6 : sixième jour post-natal, E17-E15 : dix-septième et quinzeième jour embryonnaire.

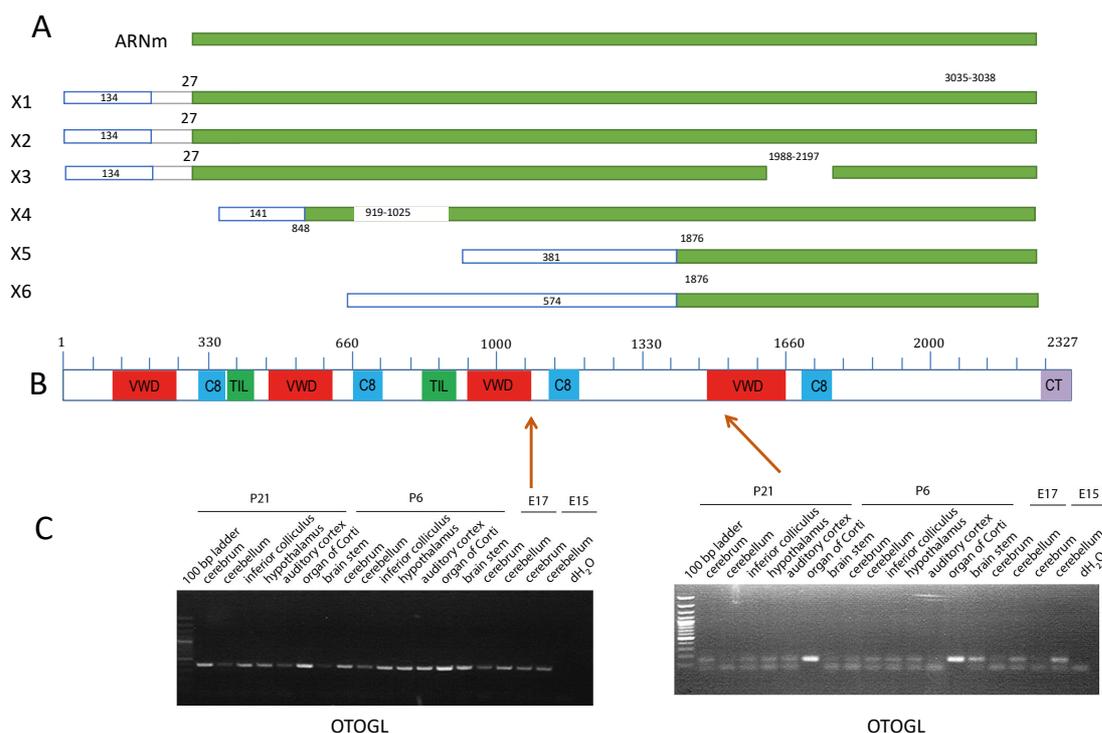


Figure 37 : Expression d'Otogl dans les régions cérébrales du modèle murin. A : il existe 6 isoformes prédits en plus de la séquence principale (en vert) avec une partie variable spécifique à chaque isoforme (en blanc). B : séquence en acides aminés d'Otogl et position des deux couples d'amorces testés. C : Révélation des transcrits d'ARN par électrophorèse, une bande blanche signifie la présence de transcrits d'ARNm. Un contrôle négatif est fait avec de l'eau distillée. Marqueur moléculaire à 100 paires de bases. P21 : 21^{ème} jour post-natal, P6 : sixième jour post-natal, E17-E15 : dix-septième et quinzième jour embryonnaire.

Cette expression d'Otogl et de Strc dans les régions cérébrales a été corroborée par le RNAscope, une technique d'hybridation *in situ*, sensible et spécifique. Otogl et strc sont détectés à différents stades (E18, P1, P21) et dans plusieurs régions cérébrales, à savoir tout le cortex mais également l'hippocampe (**Figure 38**). En co-marquage avec des sondes marquées contre VGluT1, GABA et GFAP afin de détecter respectivement les neurones excitateurs, inhibiteurs et les astrocytes, les ARNm détectés d'Otogl ou Strc ne montrent pas de clusters co-marquant préférentiellement avec une de ces deux sondes. A ce stade, il m'était impossible de conclure sur les types cellulaires exprimant éventuellement Otogl et Strc.

Face à la complexité grandissante de manipuler plusieurs gènes de surdité au début de ma thèse, il est vite apparu qu'il fallait me concentrer sur l'étude d'un gène de surdité en particulier. Comme les souris Otogl présentait la plus forte prédisposition aux crises audiogènes, je me suis focalisée sur ce gène et je vais présenter les résultats pour ce gène uniquement.

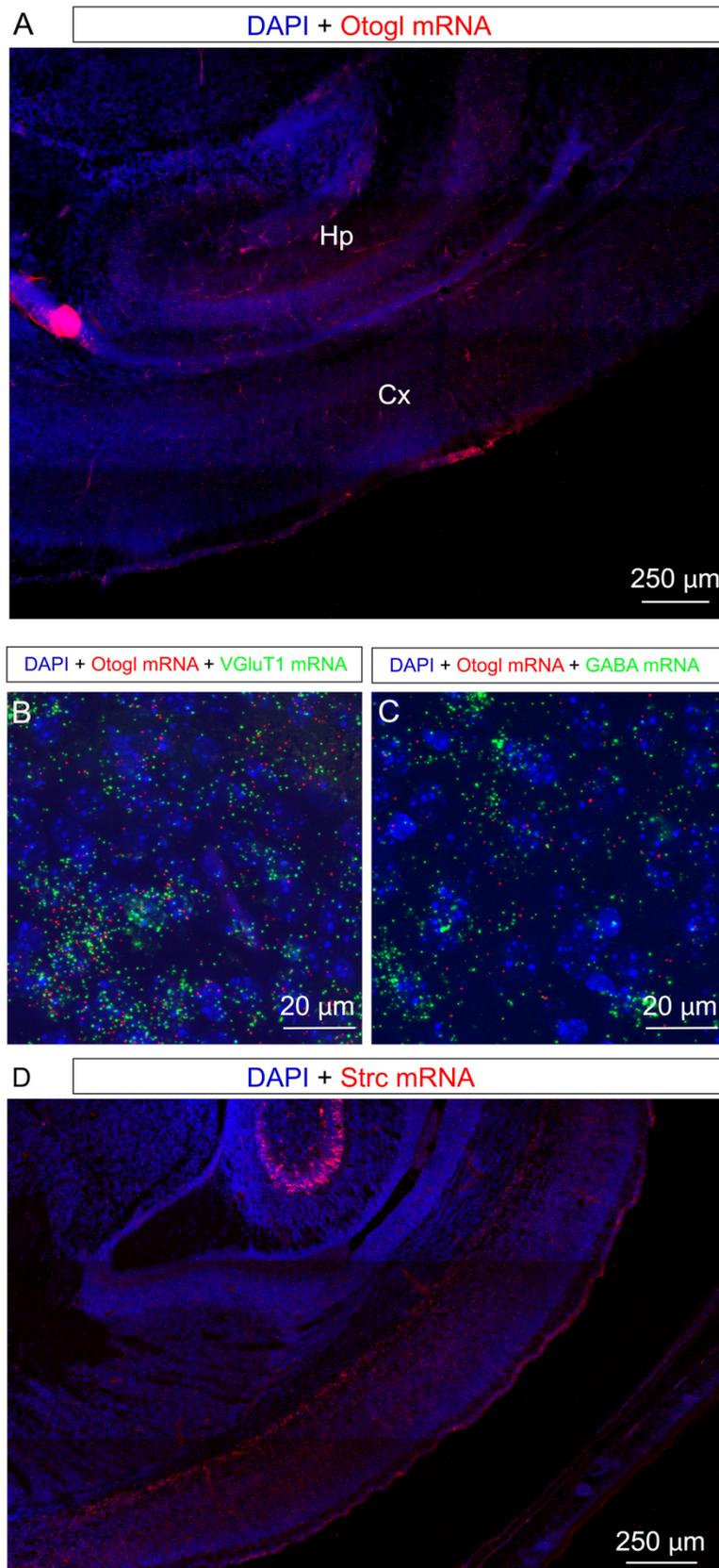


Figure 38 : Expression d'Otogl dans les régions cérébrales. A : Sections de coupes coronales de souris C57BL/6 à P1 marqués avec la sonde Otogl (en rouge). B : Expression des sondes Otogl (en rouge) et GABA (en vert) dans le cortex auditif de souris C57BL/6 à P1. Les noyaux sont marqués par DAPI (en bleu). C : Expression des sondes Otogl (en rouge) et VGluT1 (en vert) dans le cortex auditif de souris C57BL/6 à P1. Les noyaux sont marqués par DAPI (en bleu). Abréviations : cortex (Cx) ; hippocampe (H).

2. Les souris *Otogl^{-/-}* n'ont pas de défaut majeur d'inhibition dans le cortex auditif

Étant donné que les animaux mutants homozygotes *Otogl^{-/-}* et hétérozygotes *Otogl^{+/-}* sont prédisposés aux crises audiogènes, j'ai cherché à relever des défauts anatomiques et fonctionnels dans le cortex auditif pouvant expliquer cette prédisposition. Les crises audiogènes pouvant être un défaut de l'inhibition corticale comme l'ont montré les gènes *Cdhr15* et *Cdhr23* (Libé-Philippot, Michel, Boutet de Monvel, et al. 2017b), j'ai étudié deux grandes classes d'interneurones dans le cortex auditif. J'ai donc quantifié chez les souris sauvages *Otogl^{+/+}* et les souris mutantes homozygotes *Otogl^{-/-}* le nombre d'interneurones à parvalbumine ou à calbindine. Ces deux familles de neurones recouvrent environ 50% de l'inhibition corticale totale. Chez des animaux P20-25, je n'ai observé aucun changement significatif du nombre d'interneurones à parvalbumine en comparant les souris *Otogl^{+/+}* et *Otogl^{-/-}* (n = 6 pour chaque génotype, test-t de Student, p = 0,479) (**Figure 39A-B**). Pour la calbindine, j'ai quantifié l'intensité du marquage des souris *Otogl^{+/+}* et des souris *Otogl^{-/-}* sans différence significative (n = 6 pour chaque génotype, test-t de Student, p = 0,999) (**Figure 39C-D**). J'ai également comparé les épaisseurs de la plaque corticale qui ne montraient aucune différence entre les souris *Otogl^{+/+}* (n = 7) et *Otogl^{-/-}* (n = 7) (test-t de Student, p = 0,55). Ainsi la délétion bi-allélique d'*Otogl* n'a pas de conséquence sur les interneurones à parvalbumine et à calbindine. Au vu de ces résultats non concluants, je n'ai pas effectué cette étude sur des souris hétérozygotes *Otogl^{+/-}*.

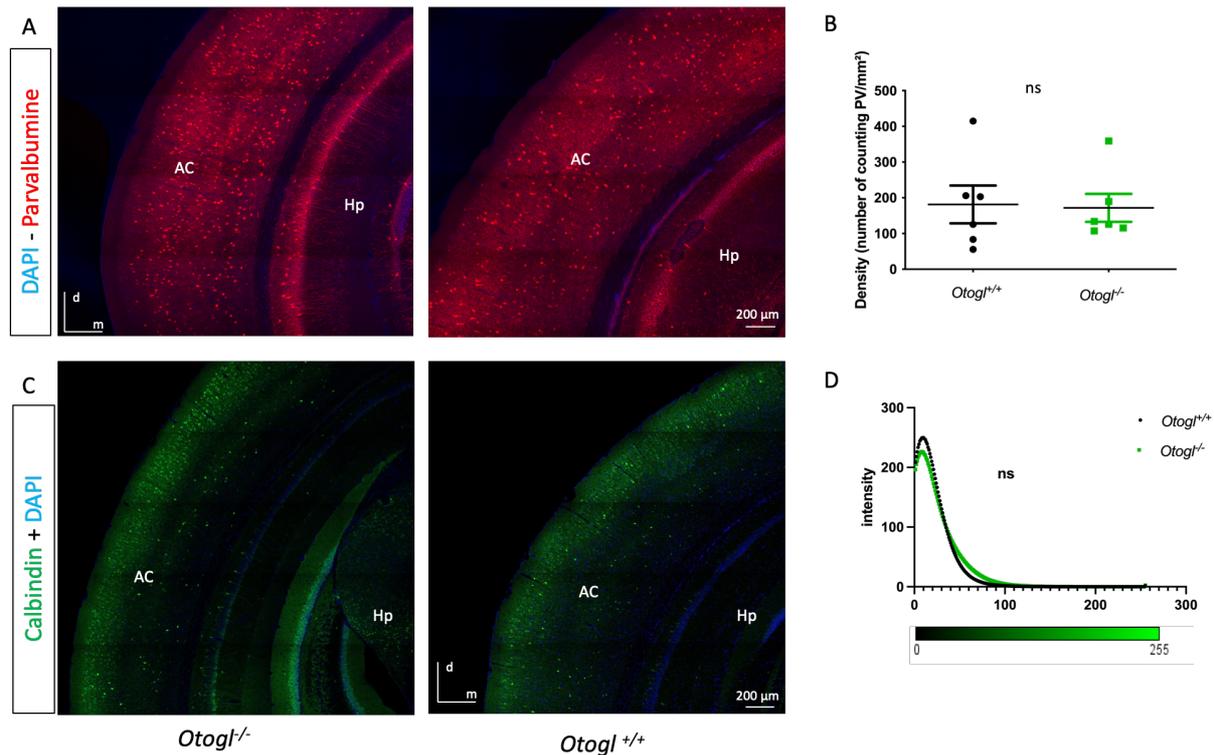


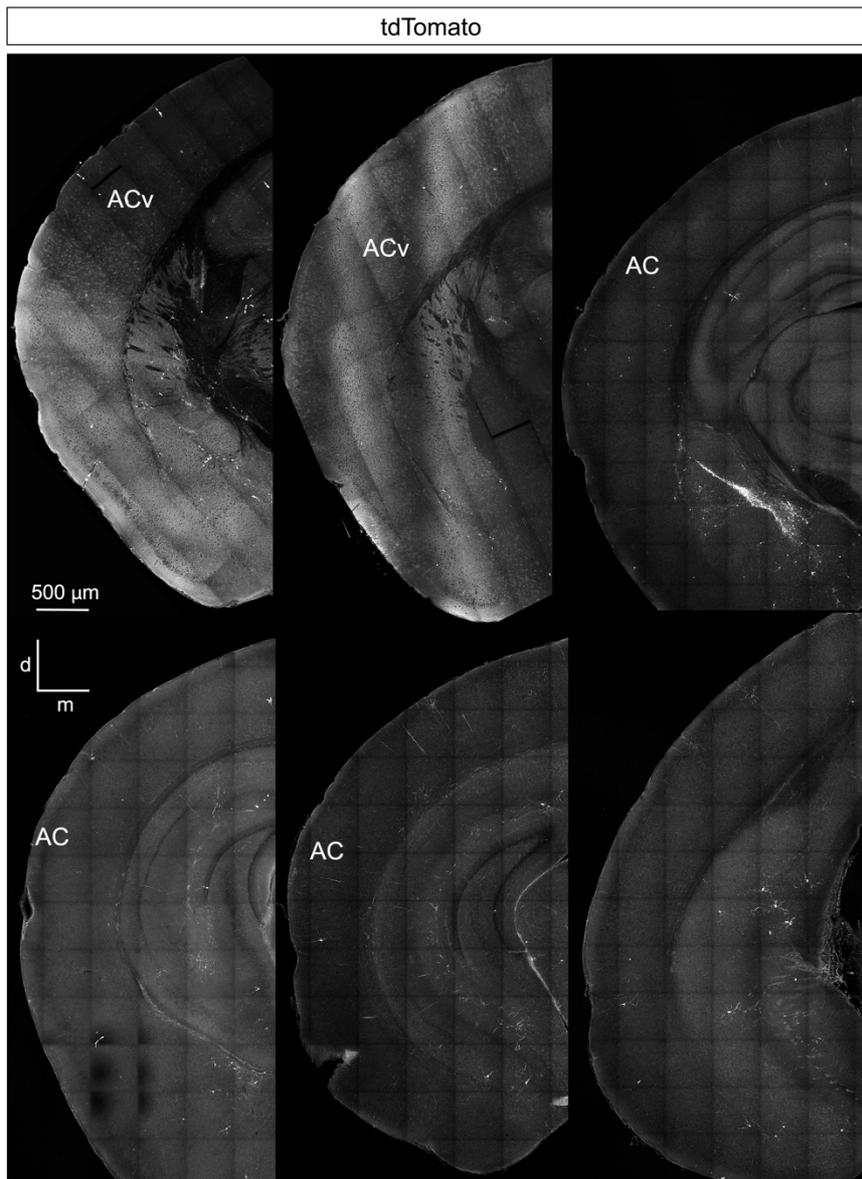
Figure 39 : La délétion biallélique d'*Otogl* n'entraîne pas de défauts anatomiques dans le cortex. A : coupes coronales de souris *Otogl*^{-/-} et *Otogl*^{+/+} à P23 immuno-marquées pour la parvalbumine (PV) comprenant le cortex auditif (AC), l'hippocampe (Hp). B : Densité des neurones/mm² de surface corticale exprimant la parvalbumine des souris *Otogl*^{-/-} et *Otogl*^{+/+}. Les données sont représentées par des moyennes, ns, non significatif (test-t de Student, n = 6). C : coupes coronales de souris *Otogl*^{-/-} et *Otogl*^{+/+} à P23 immuno-marquées pour la calbindine (CB) comprenant le cortex auditif (AC), l'hippocampe (Hp). D : Intensité du marquage CB quantifiée des souris *Otogl*^{-/-} et *Otogl*^{+/+}. Les données sont représentées par des moyennes, ns, non significatif (test-t de Student, n = 6). Noyaux cellulaires marqués en bleu (**DAPI**). Abréviations : d, dorsal ; m, médial

En conclusion de ces premiers résultats anatomiques et fonctionnels (Figure 35-39), *Otogl* est une lignée prédisposée aux crises audiogènes et donc présentant une hyperexcitabilité des voies auditives centrales. Cette hyperexcitabilité est d'autant plus exacerbée quand les deux allèles *Otogl* sont inactivés. L'expression d'*Otogl* dans différentes régions cérébrales (et donc rétro-cochléaires) font d'*Otogl* un modèle d'étude sur les crises audiogènes. Cependant, à ce stade de ma thèse, je ne disposais pas d'outils suffisamment puissants pour caractériser efficacement le rôle d'*Otogl*.

3. La souris *POtogl-cre*, un nouvel outil de traçage pour étudier les types cellulaires exprimant *Otogl* dans la cochlée et le cerveau.

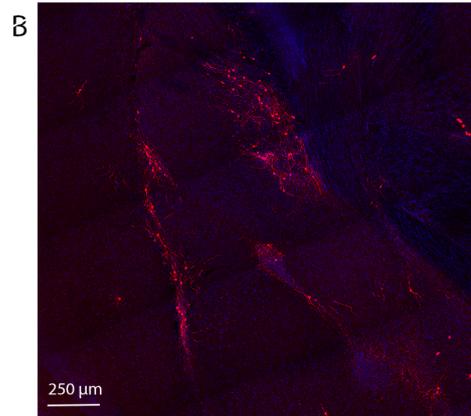
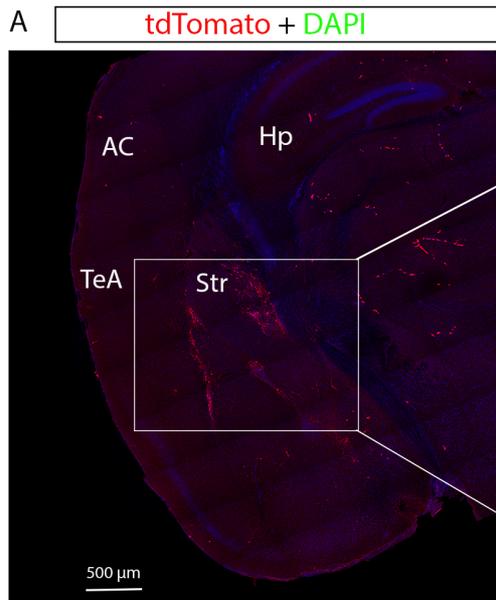
Au vu des difficultés précédentes pour mieux définir et caractériser les populations exprimant *Otogl*, nous avons lancé, avec mes directeurs de thèse, la production de souris *POtogl-cre* exprimant la cre recombinase sous le contrôle du promoteur *Otogl* (noté *POtogl*). La cre recombinase permet d'exciser l'ADN entouré de sites dits « lox » de façon conditionnelle. Les souris rapportrices *Rosa-tdTomato* utilisées ici, possèdent la séquence ADN codante pour *tdTomato*, encadrée par les mêmes sites *LoxP* autour desquels une cassette *STOP* est présente, empêchant la transcription et donc l'expression de la fluorescence. Après croisement avec une souris *POtogl-cre*, une recombinaison par la *Cre* a lieu là où le promoteur d'*Otogl* est actif, retirant la cassette *STOP* du génome, ce qui entraîne une expression de la *tdTomato* sous le contrôle du promoteur d'*Otogl*. Ainsi les cellules *tdTomato* positives sont des cellules qui expriment ou ont exprimé *Otogl* auparavant. Ce croisement permet donc le traçage des populations neuronales fluorescentes exprimant *Otogl*.

En analysant le cerveau de ces animaux, je n'ai observé aucune population neuronale exprimant *tdTomato* de taille conséquente dans le cortex auditif mais également dans le cortex visuel, l'hippocampe ou les aires associatives (**Figure 40**). J'ai observé, malgré tout, la présence de neurones isolés répartis de façon disparate dans les cortex et à la jonction avec l'hippocampe. Puisque le cortex auditif n'est pas mis en jeu dans le modèle d'*Otogl*, j'ai étudié les autres aires corticales. Un marqueur du néostriatum et des neurones épineux (MSN, medium spiny neuron) est le *DARPP-32* (Ivar Walaas, Aswad, et Greengard 1983; Greengard 2001). Ce marqueur permet d'identifier les régions striatales ainsi que les neurones de projection du striatum (**Figure 41C-D**). Dans cette région, plus particulièrement une sous-région du striatum chevauchant les noyaux amygdaliens, j'ai observé un amas de neurones exprimant la *tdTomato* (**Figure 41A-B**). Ces neurones sont présents en petit nombre, agglomérés ensemble. Ces neurones sont présents dès P12, jusqu'à des stades tardifs, le dernier stade étudié étant P39. Ce marquage est récurrent et est présent en plus forte quantité, allant jusqu'à une trentaine de neurones dans les stades P25-P40 par tranche. Ce marquage est très présent dans les stades où il y a le striatum dorsal. Je n'ai observé aucune projection venant du striatum, marquée par *DARPP-32* (**Figure 41C**) dans ces régions d'intérêt, excluant l'idée que les neurones *tdTomato*⁺ puissent provenir du striatum.

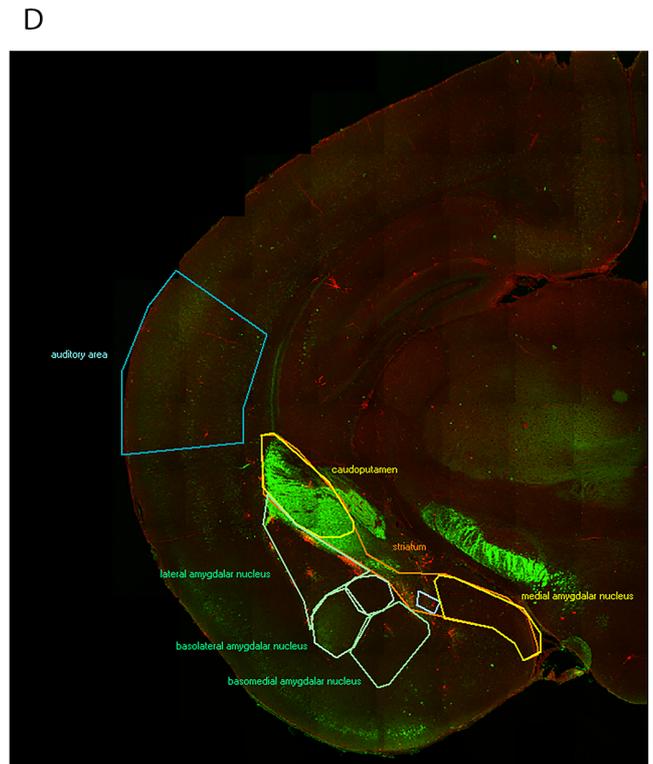
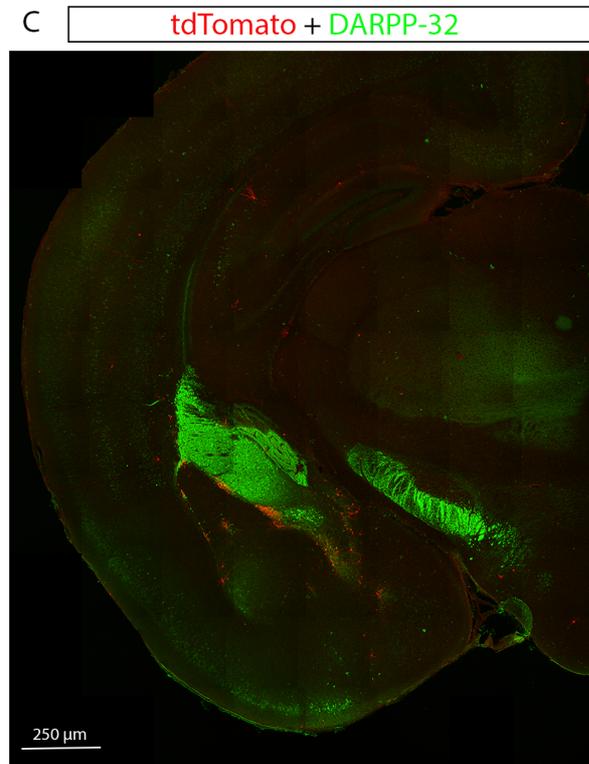


P18 *POtogl-cre^{+K1}, Rosa-tdTomato*

Figure 40 : Coupes coronales de cortex auditifs allant du côté antérieur (en haut à gauche) au côté postérieur (en bas à droite). Coupes coronales de souris *POtogl-cre^{+K1}, Rosa-tdTomato* comprenant le cortex auditif marqué par tdTomato. Abréviations : ACv : Cortex auditif ventral (début du cortex auditif) ; AC : cortex auditif.



P22 *POtogl-cre^{+/-K1}, Rosa-tdTomato*



P18 *POtogl-cre^{+/-K1}, Rosa-tdTomato*

Figure 41 : Expression d'*Otogl* dans les régions cérébrales grâce à l'expression de la tdTomato sous le contrôle du promoteur *Otogl*. A : Coupe coronale de souris *POtogl-cre^{+/-K1}, Rosa-tdTomato* comprenant le cortex auditif (AC), l'aire associative temporelle (TeA), striatum (St) ainsi que l'hippocampe (Hp) marqués pour tdTomato à P22. B : zoom de la région dense en neurones tdTomato+. C : Coupe coronale de souris *POtogl-cre^{+/-K1}, Rosa-tdTomato* immuno-marquée pour tdTomato et DARPP-32. D : Localisation des aires corticales à l'aide du logiciel NeuroInfo. Noyaux cellulaires marqués en bleu (DAPI).

J'ai poursuivi l'exploration des régions qui pouvaient exprimer *Otogl* en analysant finement les relais des voies auditives du tronc cérébral. Dans le tronc cérébral, en partant de la

cochlée jusqu'au cortex auditif, j'ai étudié attentivement les quatre relais principaux : les noyaux cochléaires, le complexe olivaire supérieur, le noyau médian du corps trapézoïde, le lemnisque latéral et le colliculus inférieur.

L'exploration de ces régions a révélé une expression de la tdTomato marquée dans les noyaux cochléaires (**Figure 42A, Figure 43**). En effet, j'ai découvert dans ces noyaux de nombreuses fibres nerveuses exprimant la tdTomato sous le contrôle du promoteur d'*Otogl* avec une majorité des fibres se concentrant dans l'AVCN (à 80% environ). Cependant, il n'y avait aucun corps cellulaire suggérant que ces fibres proviennent du nerf auditif. Cette expression est présente dans tout le noyau cochléaire, dès le stade P7 jusqu'aux stades tardifs, le dernier testé étant P28. Cependant, aucune expression d'*otogl* n'est détectée dans le MNTB (**Figure 42A**), le CSO (**Figure 42A-B**), le LL (**Figure 42C**) et l'IC (**Figure 42C**).

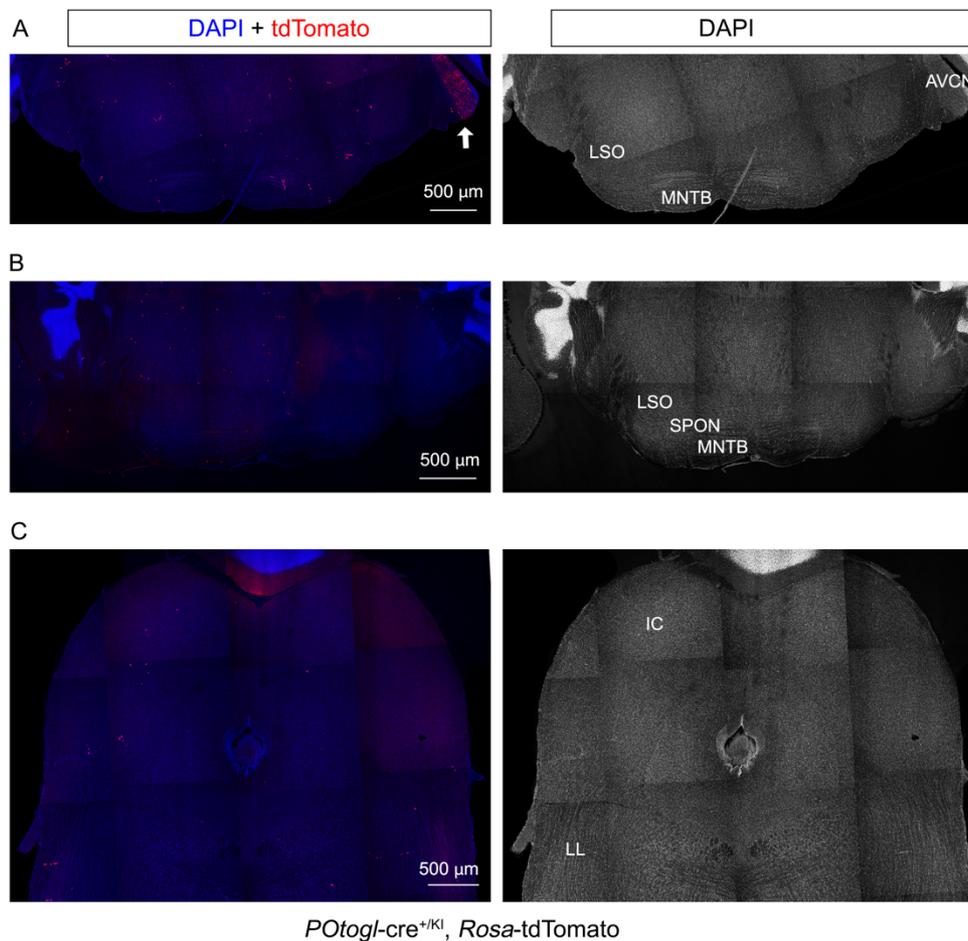


Figure 42 : Étude des voies ascendantes du système auditif primaire et des régions exprimant la tdTomato sous le contrôle du promoteur d'*Otogl*. A : Coupe coronale à travers les noyaux cochléaires antérieurs (AVCN) et le noyau médian du corps trapézoïde immuno-marquée pour tdTomato d'une souris *P0togl-cre^{+/KI}, Rosa-tdTomato*. B : Coupe coronale à travers le noyau médian du corps trapézoïde et le complexe olivaire supérieur immuno-marquée pour tdTomato d'une souris *P0togl-cre^{+/KI}, Rosa-tdTomato*. C : Coupe coronale à travers le lemnisque latéral et le colliculus inférieur immuno-marquée pour tdTomato

d'une souris *POtogl-cre^{+KI}*, *Rosa-tdTomato*. Abréviations : AVCN : noyau cochléaire antéro-ventral, LSO : olive supérieur latéral, MNTB : noyau médian du corps trapézoïde, et le, SPON : noyau paraolivaire supérieur, IC : colliculus inférieur, LL : lemnisque latéral. Les noyaux des cellules sont marqués en bleu (DAPI).

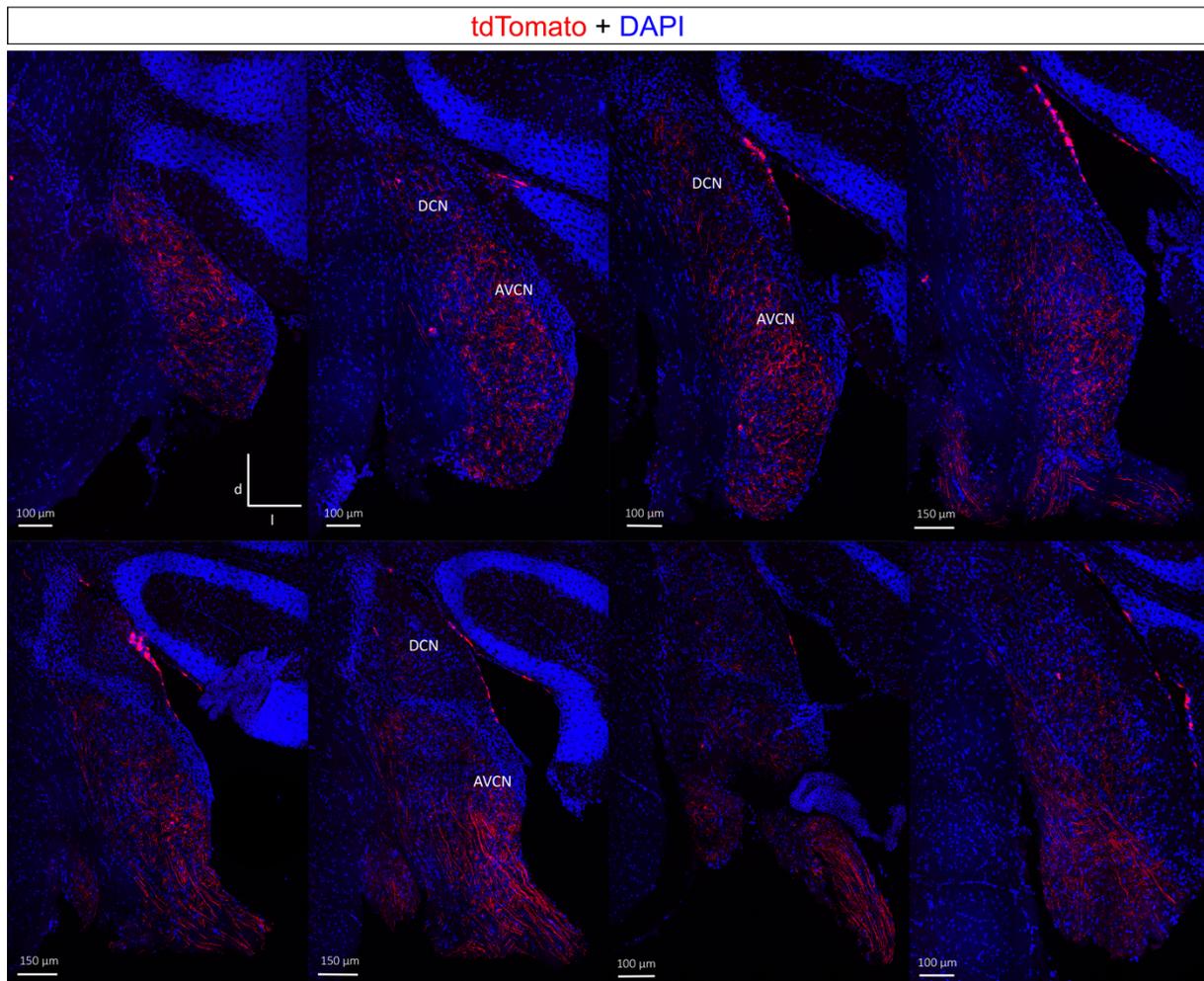


Figure 43 : Coupes coronales des noyaux cochléaires allant du côté postérieur (en haut à gauche) au côté antérieur (en bas à droite). Coupes coronales de souris *POtogl-cre^{+KI}*, *Rosa-tdTomato* comprenant les noyaux cochléaires marquées par tdTomato. Noyaux cellulaires marqués en bleu (DAPI). Abréviations : AVCN : noyau cochléaire antéro-ventral, DCN : noyau cochléaire dorsal, d = dorsal, l : latéral.

J'ai ensuite étudié la cochlée des souris *POtogl-cre^{+KI}*, *Rosa-tdTomato* afin de m'assurer que les types cellulaires attendus de la cochlée exprimaient bien *Otogl*, notamment les cellules ciliées externes, et vérifier si des corps cellulaires du nerf auditif exprimaient la tdTomato comme attendu, suite à la découverte de fibres nerveuses marquées dans le noyau cochléaire. Dans la cochlée, *Otogl* est déjà exprimée à P4 dans de nombreuses structures (**Figure 44**) notamment les cellules ciliées internes et externes. *Otogl* est exprimée dans toute la cochlée sans aucune discrimination tonotopique comme le montrent les cellules ciliées, les fibres auditives et les SGNs, tous marqués tdTomato+ qui se répartissent de façon hétérogène le long de l'axe tonotopique, de la base à l'apex (**Figure 45**).

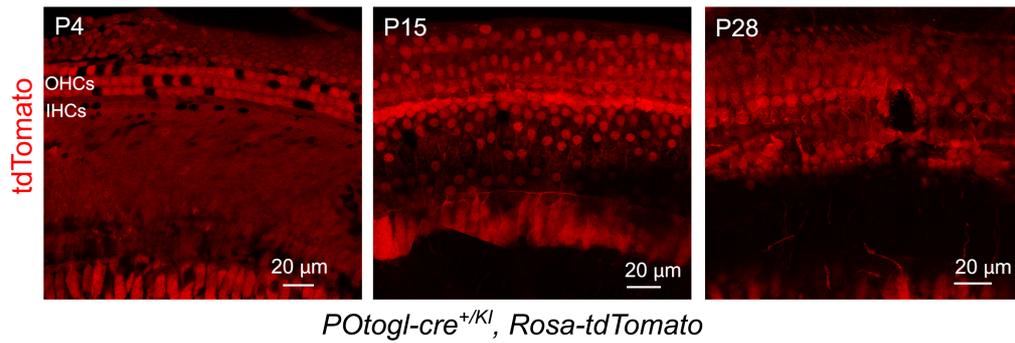


Figure 44 : Expression de la tdTomato sous le contrôle du promoteur *Otogl* dans la cochlée à P4, P14 et P28. Abréviations : OHCs : cellules ciliées externes, IHCs : cellules ciliées internes.

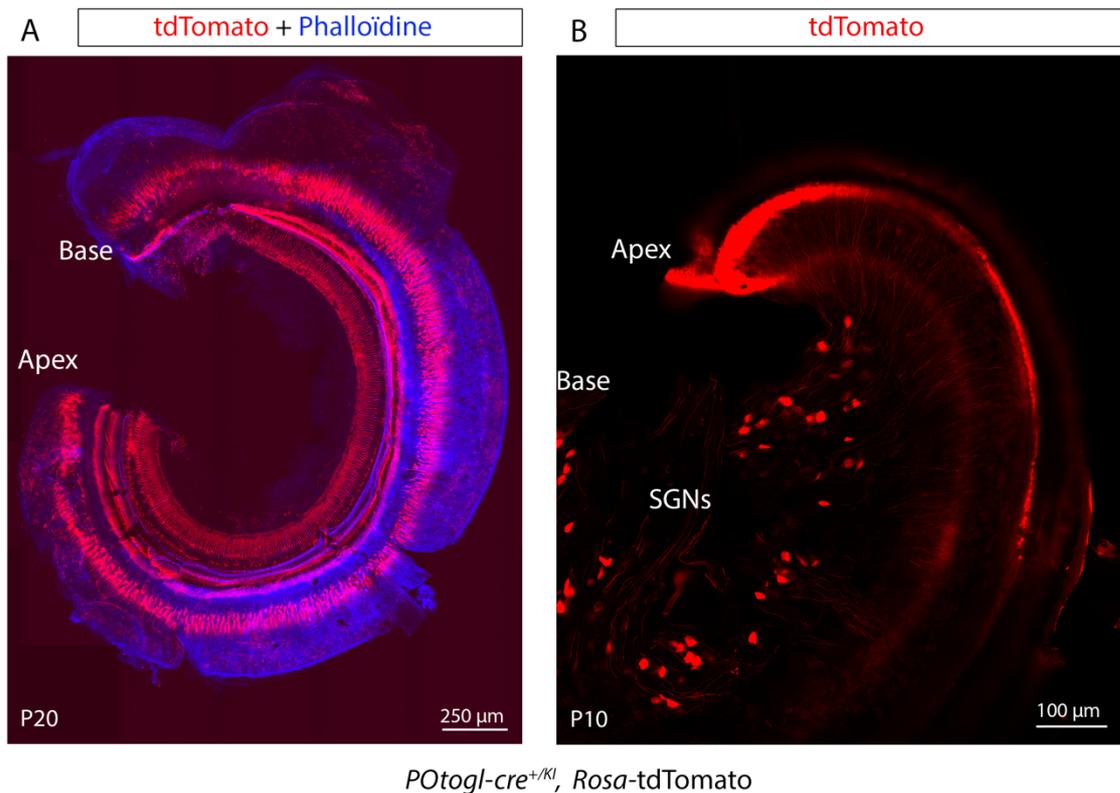


Figure 45 : *Otogl* n'a pas de discrimination tonotopique. A : montage « in toto » d'une cochlée entière de souris *P0togl-cre*^{+/*Kl*}, *Rosa-tdTomato* à P20 par A. Lelli. B. Détail sur des SGNs de la cochlée qui sont répartis tout le long de la tonotopie.

Afin de mieux caractériser la localisation et la fonction d'*otogl*, j'ai réalisé des cryo-sections d'épaisseur fine (12 µm) sur lesquelles j'ai observé qu'*otogl* est plus précisément localisée dans les cellules de soutien, la strie vasculaire (**Figure 46-1**, **Figure 46-2**), les neurones du ganglion spiral (SGNs), les root cells, le limbe spiralé, les cellules sensorielles du saccule (qui constitue le vestibule) (**Figure 46-4**). On remarque surtout des SGNs tdTomato+ avec des fibres qui semblent innervent les IHCs (**Figure 46-3**). Afin de déterminer si ces fibres sont bien les fibres du nerf auditif reliant les IHCs/OHCs aux SGNs, j'ai réalisé un co-marquage

à P10 pour tdTomato avec la parvalbumine, un marqueur des fibres auditives et des cellules ciliées. Les fibres auditives innervent soit les IHCs (fibres auditives de type 1) soit les OHCs (fibres auditives de type 2). Les marquages dirigés contre PV et tdTomato colocalisent dans les IHCs et les OHCs. De plus, la totalité des SGNs, exprimant la tdTomato, expriment également la parvalbumine (**Figure 47**). *Otogl* est donc bien exprimé dans les SGNs confirmant que les fibres exprimant la tdTomato dans le noyau cochléaire étaient bien des fibres du nerf auditif.

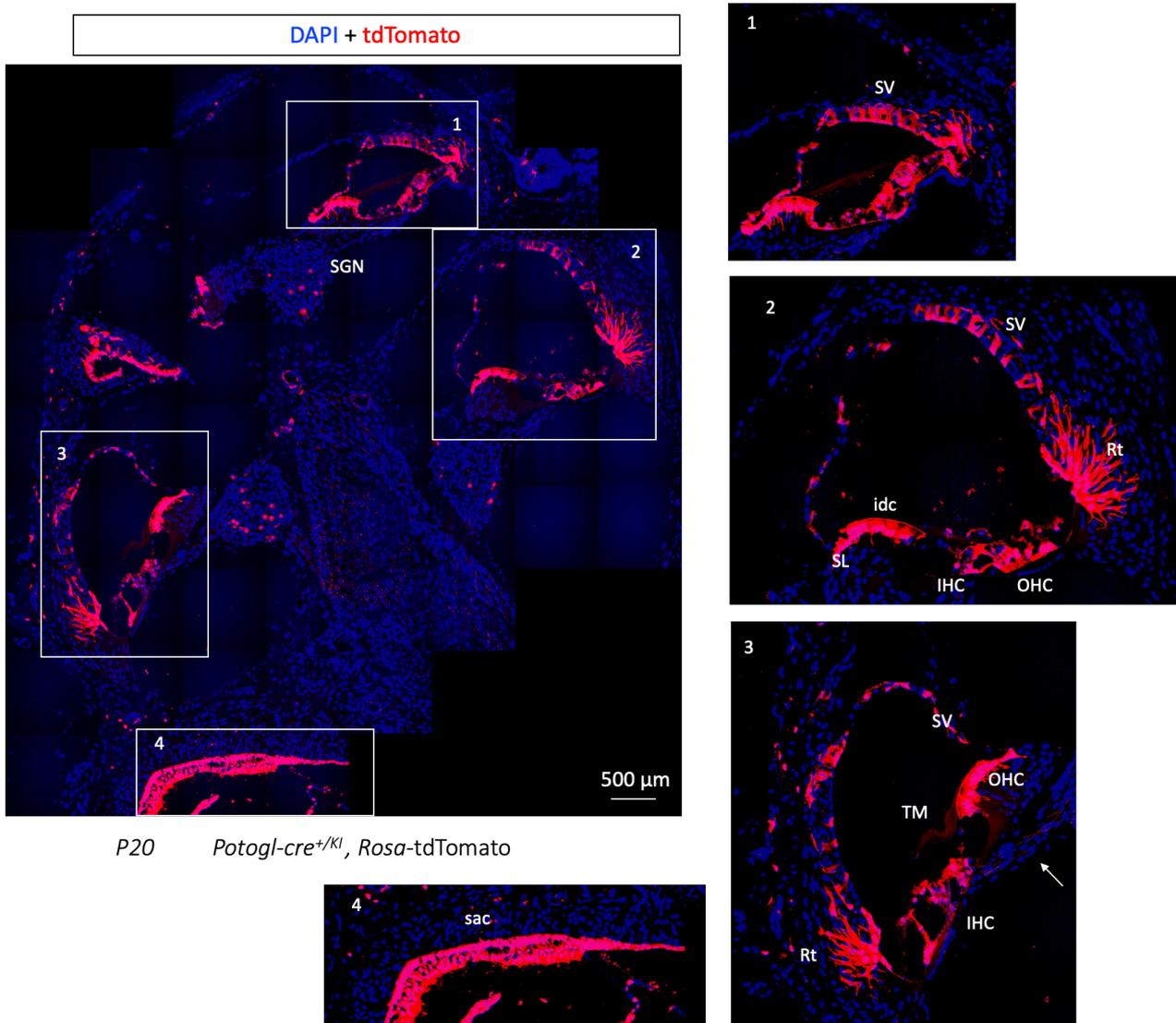


Figure 46 : *Otogl* est localisée dans de nombreuses structures de la cochlée. Cryo-dissection d'une cochlée *POtogl-cre^{+/Kl}, Rosa* avec des vues zoomées de l'organe de Corti (1-2-3) et les cellules ciliées vestibulaire (sacculle) (4). Abréviations : Rt : Root cells, SV : strie vasculaire, idc : cellules interdentaires sc : cellules de soutien, OHC : cellules ciliées externes, IHC : cellules ciliées internes, TM : membrane tectoriale, SL : limbe spiralé, Sac : sacculle, SGNs : neurones du ganglion spiral. Noyaux cellulaires marqués en bleu (DAPI).

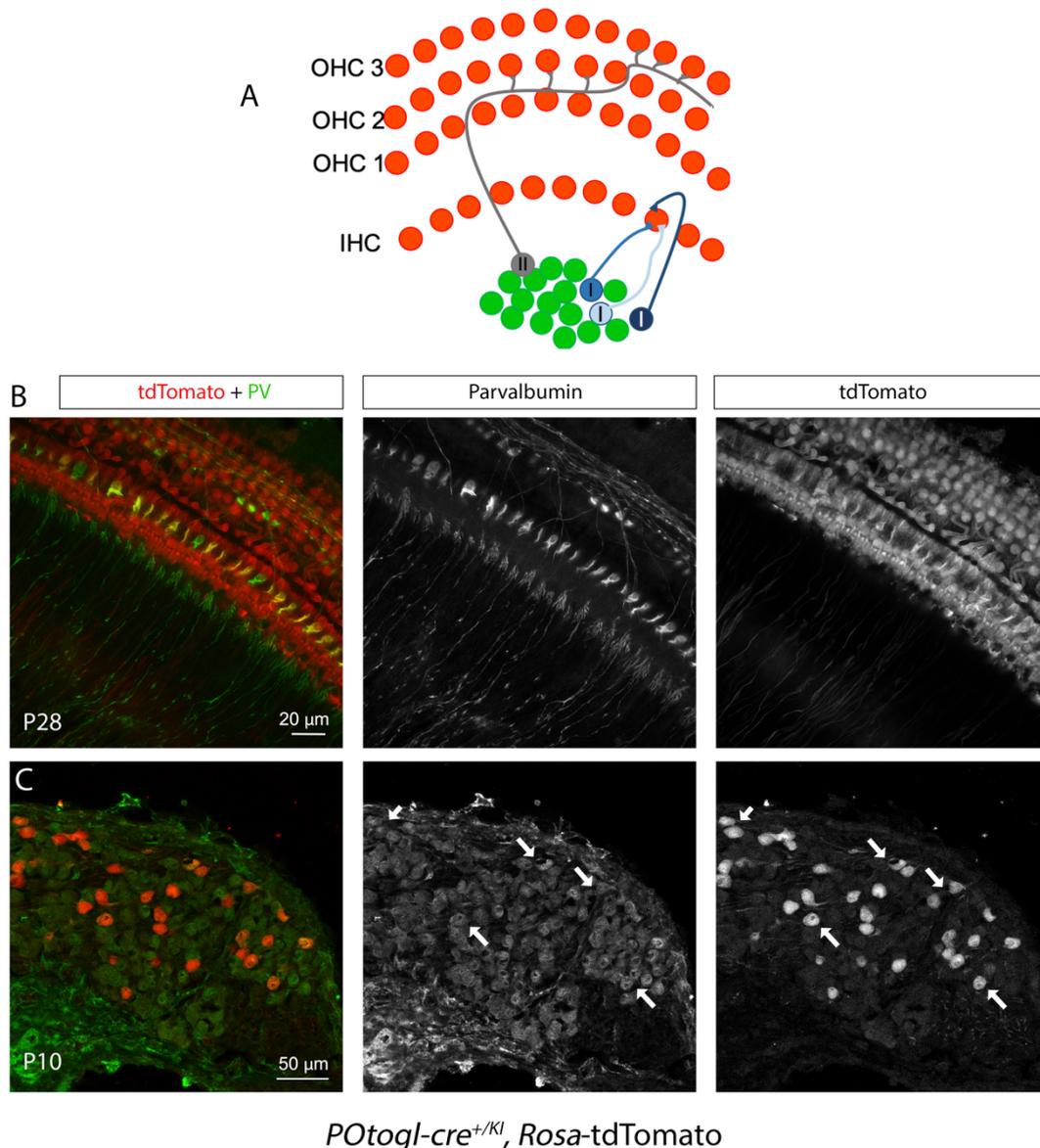


Figure 47 : *Otogl* est exprimée dans les SGNs et les cellules ciliées. A : schéma montrant l'innervation des SGNs de type 1 et de type 2 dans les cellules ciliées internes et externes dans une préparation in toto. Une cellule ciliée interne est innervée par une douzaine de fibres auditives de type 1. B : Cochlée d'une souris *POtogl-cre^{+Kl}, Rosa-tdTomato* où les cellules ciliées et les fibres auditives sont immuno-marquées pour la tdTomato et la parvalbumine. C : coupe d'un ganglion spiral avec des neurones immuno-marqués pour tdTomato et parvalbumine. Abréviations : OHC : cellules ciliées externes, IHC : cellules ciliées internes.

Dans les voies auditives rétro-cochléaires, *Otogl* est donc uniquement exprimé dans les fibres auditives de type 1. En plus des OHCs, j'ai découvert qu'*Otogl* est exprimé dans de nombreux autres types cellulaires de la cochlée. La rareté des neurones/cellules marqués dans le système nerveux central fait que l'activité du promoteur *Otogl* dans les SGNs est probablement à l'origine de la susceptibilité de la lignée mutante *Otogl* aux crises audiogènes.

4. *Otogl* est préférentiellement exprimé par l'un des trois sous-types de SGNs de type 1 qui ont été définis.

La signature moléculaire des SGNs se met en place dès la naissance mais finit de définir son identité moléculaire tardivement vers les stades P20-28, j'ai donc regardé l'expression de tdTomato+ sous le contrôle d'*Otogl* dans les SGNs aux stades précoces. A P0, *Otogl* est déjà exprimée (**Figure 48**).

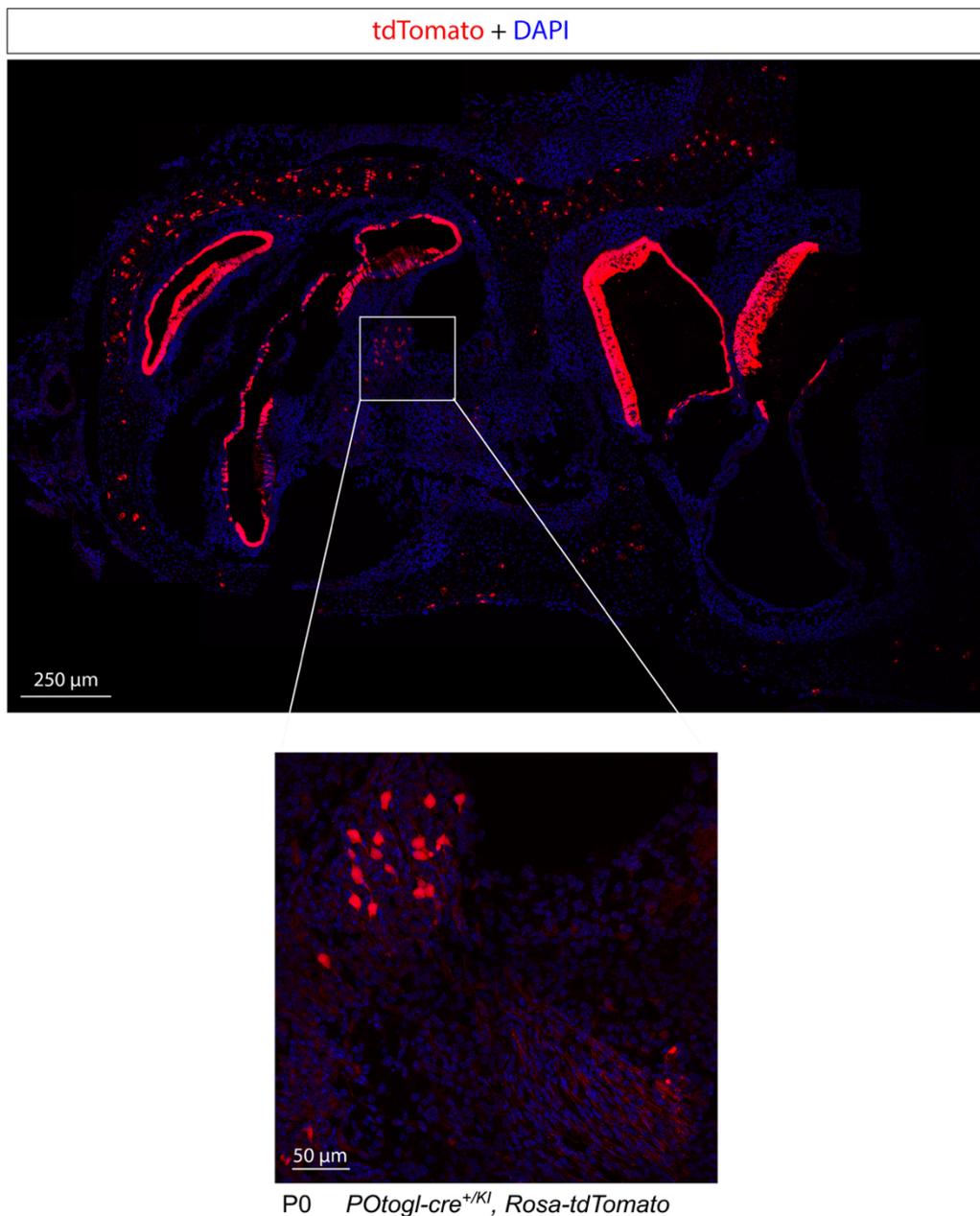


Figure 48 : *Otogl* est exprimée dans les SGNs et les cellules de soutien à P0. Noyaux cellulaires marqués en bleu (DAPI).

J'ai ensuite exploré quels sous-types de fibres de type I exprimeraient *Otogl*. Chez la souris, il existe trois sous-types de SGNs appartenant à la classe des fibres de type 1 sur des critères morphologiques, électrophysiologiques et moléculaires. J'utiliserai dans mon mémoire la dénomination Ia, Ib, Ic sur la base d'une publication qui définit ces sous-types sur la base de marqueurs moléculaires établis par séquençage ARN au niveau de la cellule unique (Shrestha et al. 2018). En effet, plusieurs articles ont nommé ces fibres Ia, Ib et Ic mais avec différentes correspondances fonctionnelles. Les fibres de type Ia sont caractérisées par le marqueur calrétinine, les Ib par calbindine et les Ic par Pou4f1. J'ai donc réalisé une série d'immunomarquages de coupes du ganglion spiral à l'aide d'anticorps dirigés contre ces trois marqueurs afin de savoir quels types de fibres du ganglion spiral expriment *Otogl*. Au stade P22, 18% des SGNs tdTomato+ co-expriment avec Pou4f1, 11% co-expriment avec calrétinine et 9% co-expriment avec calbindine, ce qui fait de Pou4f1 le marqueur exprimé en majorité par les SGN tdTomato+ (**Figure 49**). Sur l'ensemble des fibres ayant soit marquage pou4f1 ou calbindine ou calrétinine, les fibres exprimant pou4f1 représentent 47% de la totalité des fibres. Cependant, ces résultats posent problème car la somme des trois pourcentages des neurones tdTomato marqués est égale à 38% alors que ces 3 sous-types représentent l'intégralité de la population neuronale. Quelle est donc la nature des 62% de neurones non-marqués ? J'ai fait l'hypothèse qu'il s'agissait d'un biais expérimental. En effet, l'anticorps dirigé contre Pou4f1 nécessite un traitement des tissus par le citrate et du chauffage à 95°C afin de mieux exposer les épitopes. Il était donc fort probable que ce marquage ne soit pas fiable et reproductible à 100 %.

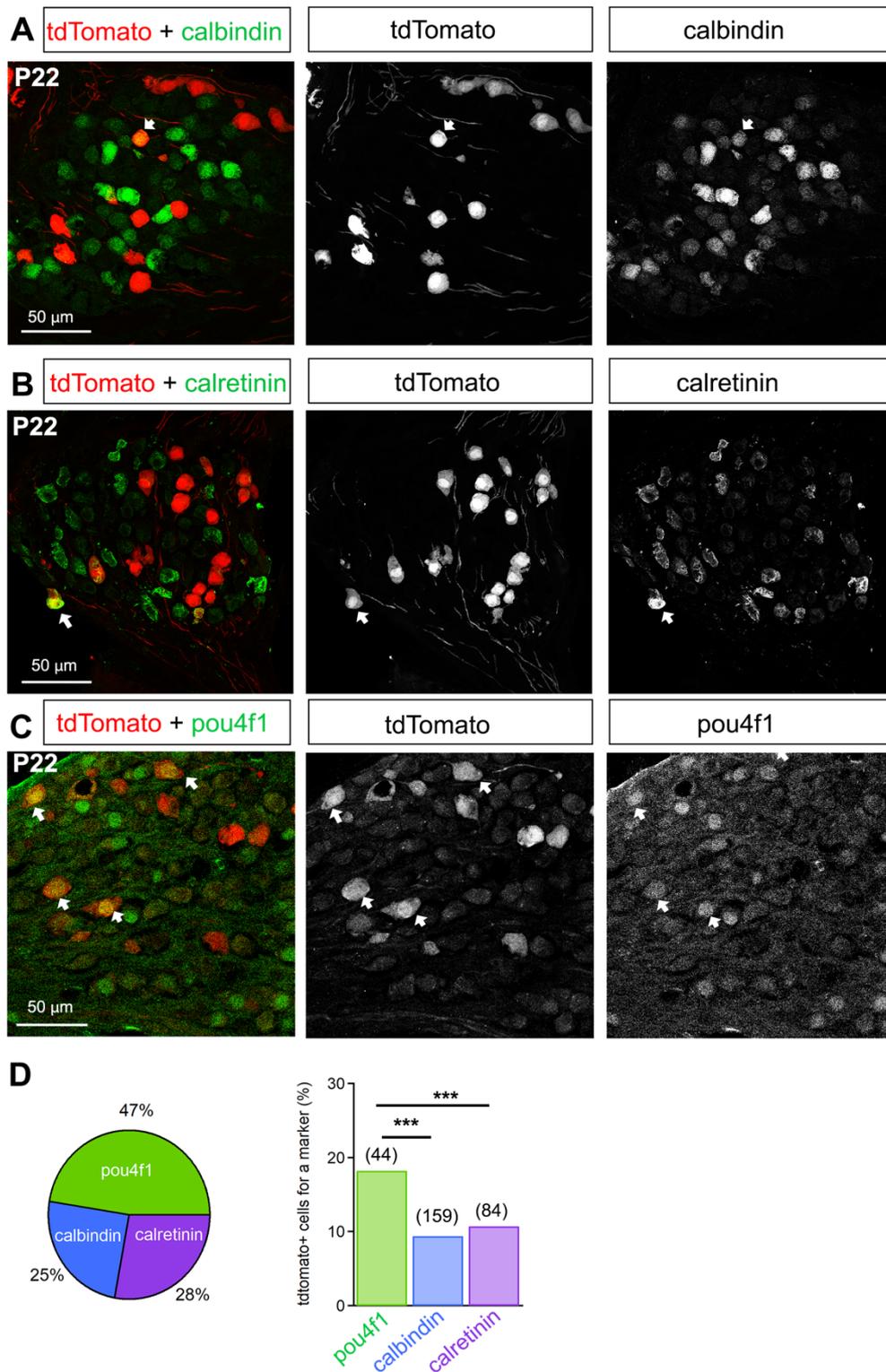


Figure 49 : Otogl est préférentiellement exprimé par les SGNs exprimant pou4f1. A. Coupe transversale de cochlée montrant le ganglion spiral de souris *POtogl-cre^{+KI}*, *Rosa-tdTomato* exprimant la tdTomato et immuno-marquée pour le marqueur calbindine. B : Tranche de cochlée montrant le ganglion spiral de souris *POtogl-cre^{+KI}*, *Rosa-tdTomato* exprimant la tdTomato et immuno-marquée pour le marqueur calrétinine. C Tranche de cochlée montrant le ganglion spiral de souris *POtogl-cre^{+KI}*, *Rosa-tdTomato* exprimant la tdTomato et immuno-marquée pour le marqueur pou4f1. C : Quantification des trois marqueurs co-exprimés avec les SGNs tdTomato+.

Le tampon de citrate pouvant influencer les données, j'ai cherché à confirmer ces premiers résultats en RNAscope avec des sondes dirigées contre les ARNm de *Pou4f1* et de la calbindine. Les transcrits *Pou4f1* co-marquent à 94% avec les SGNs tdTomato+ (**Figure 50B-C**), suggérant que l'anticorps pou4f1 est probablement difficile à utiliser de façon optimale pour des marquages. En comparaison, les transcrits *Calb* ne sont que 15% à co-marquer avec les SGNs tdTomato+ (**Figure 50A-C**), confirmant les résultats obtenus par immuno-marquage. Les SGNs exprimant à la fois *Pou4f1* et tdTomato sont donc 6 fois plus nombreux que les SGNs exprimant *calb* et tdTomato ($p = 10^{-13}$, test de Fisher) (**Figure 50C**). Dans les SGNs dont la tdTomato n'est pas exprimée, 24% sont marqués par *Pou4f1* soit environ 4 fois moins que les SGNs tdTomato négatif marqués par *calb* (94%) ($p = 10^{-23}$, test de Fischer). Il est à noter que la proportion de 24% est probablement surestimée car un neurone dont l'expression de tdTomato était incertaine a systématiquement été comptabilisé comme n'exprimant pas la tdTomato. Je dois encore compléter ces données par la sonde dirigée contre l'ARNm de la calrétinine. Cependant, l'anticorps dirigé contre la calrétinine ne présentant aucune difficulté d'utilisation, on s'attend à confirmer les résultats déjà obtenus.

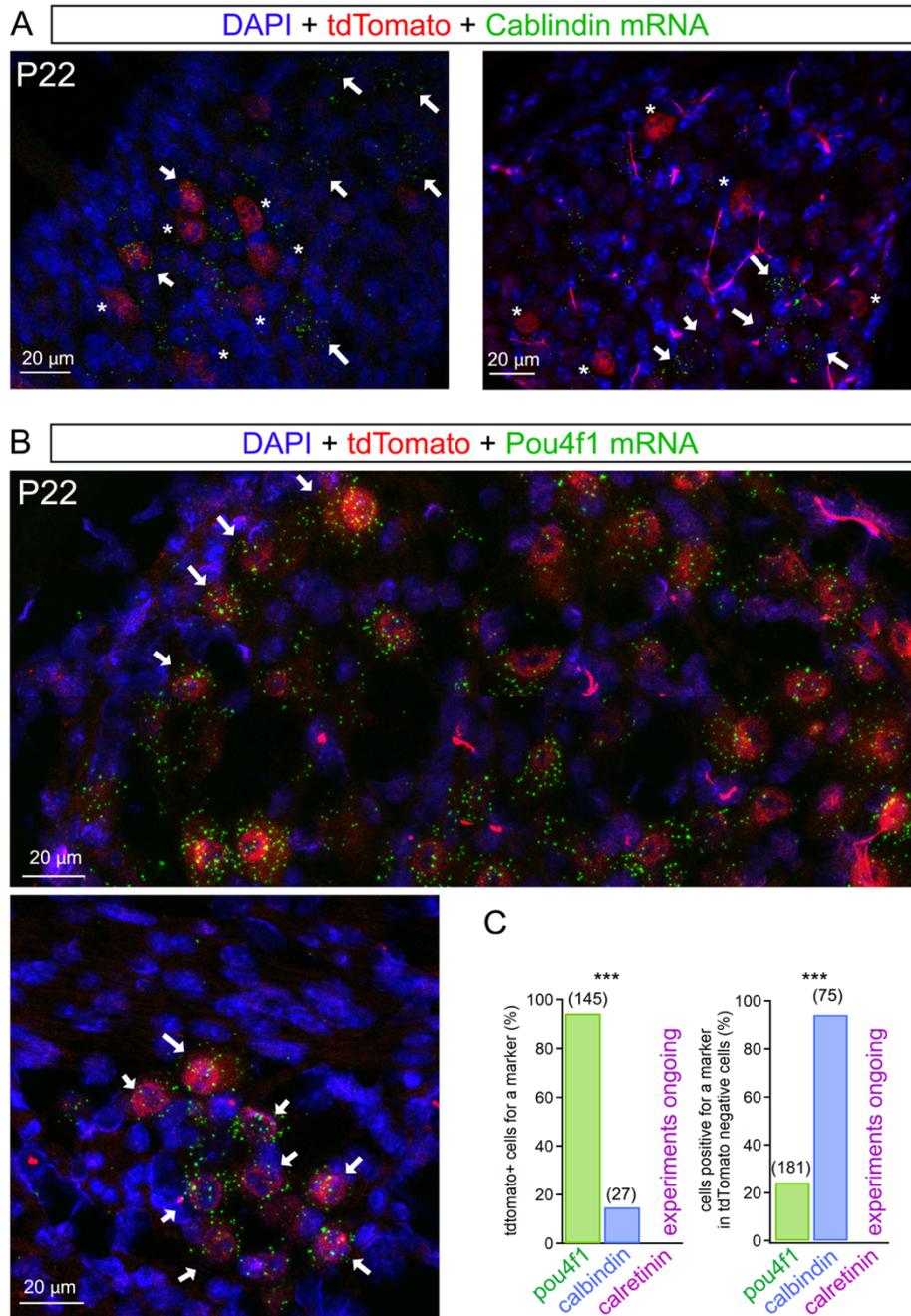


Figure 50 : *Otogl* est bien co-exprimée avec Pou4f1 par les SGNs de type 1. A : Coupe de ganglion spiral de *POtogl-cre^{+KI}, Rosa-tdTomato* à P22 exprimant la tdTomato et marquée à l'aide d'une sonde dirigée contre les transcrits *Calb*. B : Coupe de ganglion spiral de *POtogl-cre^{+KI}, Rosa-tdTomato* à P22 exprimant la tdTomato et marquée à l'aide d'une sonde dirigée contre les transcrits *Pou4f1*. C : Quantification des cellules exprimant à la fois tdTomato et un des deux marqueurs. Noyaux cellulaires marqués en bleu (DAPI). ***, $p < 0.001$ (test de Fisher).

En conclusion, nous pouvons affirmer qu'*Otogl* est exprimée dans les fibres de type Ic, fibres dont le marqueur principal est Pou4f1. Ces fibres sont définies fonctionnellement comme à basse activité spontanée et à haut seuil (voir introduction). Mes résultats suggèrent qu'*Otogl* est probablement un marqueur très fiable des fibres à haut seuil dès P0.

5. Quel type cellulaire reçoit les fibres exprimant *Otogl* dans les noyaux cochléaires ?

Dans les noyaux cochléaires, il existe plusieurs types cellulaires qui peuvent être caractérisés à l'aide de marqueurs tels que la calrétinine, la calbindine, la parvalbumine ou la synaptotagmine. Une des projections majeures des fibres du nerf auditif dans l'AVCN sont les *endbulbs of Held*, des terminaisons synaptiques géantes qui forment un contact synaptique avec les cellules en buisson des noyaux cochléaires. Afin de tenter de mieux définir quel type cellulaire reçoit les fibres exprimant *Otogl*, j'ai réalisé des immuno-marquages de tranches avec trois marqueurs : la calrétinine, la synaptotagmine-2 (syt-2) (qui révèle la structure des *Endbulbs of Held et modified Endbulb of Held*) et la parvalbumine (qui est exprimée dans la majorité des neurones du noyau cochléaire) (**Figure 51**). Les fibres tdTomato+ exprimant *Otogl* forment des connexions synaptiques avec les cellules PV+, excluant tout défaut synaptique PV+. En revanche, les fibres tdTomato+ ne comportent pas d'*Endbulb of Held et modified Endbulb of Held* marquées par syt-2, un résultat qui suggère que les fibres auditives exprimant *Otogl* ne forment pas de connexion synaptique avec les cellules en buisson. Le marquage calrétinine dans les noyaux cochléaires n'a pas été davantage informatif sur le type cellulaire recevant les fibres tdTomato+, le marquage n'ayant pas très bien marché.

En conclusion, je n'ai pas pu pour le moment définir précisément la cible post-synaptique des fibres du nerf auditif exprimant *Otogl* à l'exception du fait qu'elles ne forment pas les fibres ayant des *Endbulbs of Held* pour terminaison synaptique. Cependant, il existe d'autres marqueurs qui peuvent être testés afin de continuer l'exploration du type cellulaire recevant les fibres tdTomato+.

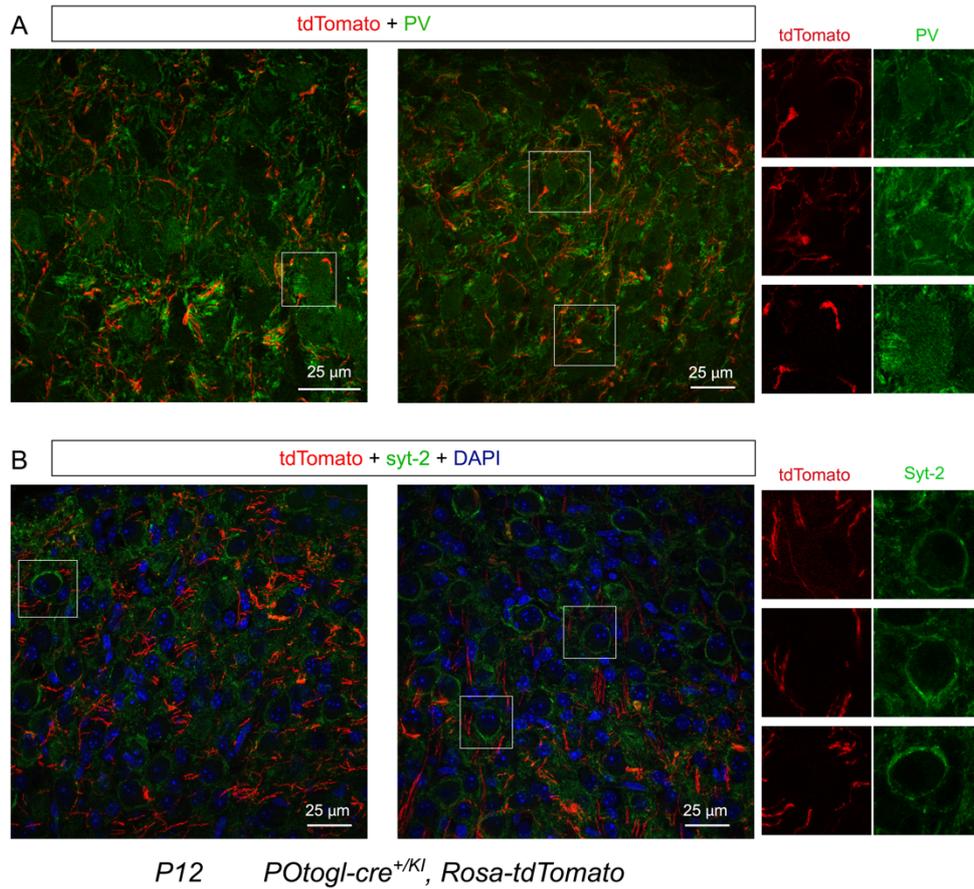


Figure 51 : Les fibres du nerf auditif exprimant *Otogl* ne contactent pas les cellules en buisson du noyau cochléaire. A : coupe de noyau cochléaire de *POtogl-cre^{+K1}, Rosa-tdTomato* à P12 exprimant la tdTomato immuno-marquée pour parvalbumine. B : coupe de noyau cochléaire de *POtogl-cre^{+K1}, Rosa-tdTomato* à P12 exprimant la tdTomato et immuno-marquée pour Syt-2. Noyaux cellulaires marqués en bleu (**DAPI**).

6. L'étude fonctionnelle des souris mutantes *Otogl*^{+/-} a révélé des défauts fonctionnels des fibres à haut seuil

Les souris mutantes homozygotes *Otogl*^{-/-} étant sourdes à cause du déficit des cellules ciliées externes, il est difficile d'étudier l'éventuel lien entre crise audiogène et éventuel déficit dans les voies cochléaires et les voies centrales auditives, regroupés en une voie rétro-cochléaire dans ce modèle. Les souris hétérozygotes *Otogl*^{+/-}, quant à elles, ont des seuils de potentiels auditifs évoqués (ABRs) et des produits de distorsion (DPOAEs) normaux, conformément à ce qui avait été rapporté précédemment (Avan et al. 2019) (**Figure 52**). Le mutant hétérozygote *Otogl*^{+/-} peut donc servir de modèle à l'étude fonctionnelle de l'origine rétro-cochléaire des crises audiogènes puisqu'il possède une audition périphérique semblable en tout point à celle de souris sauvages *Otogl*^{+/+}. La mesure des seuils auditifs par potentiels évoqués auditifs repose essentiellement sur les fibres à bas/moyen seuil à ces niveaux sonores. Ce premier résultat suggérerait donc qu'il pourrait y avoir un défaut des fibres à haut seuil.

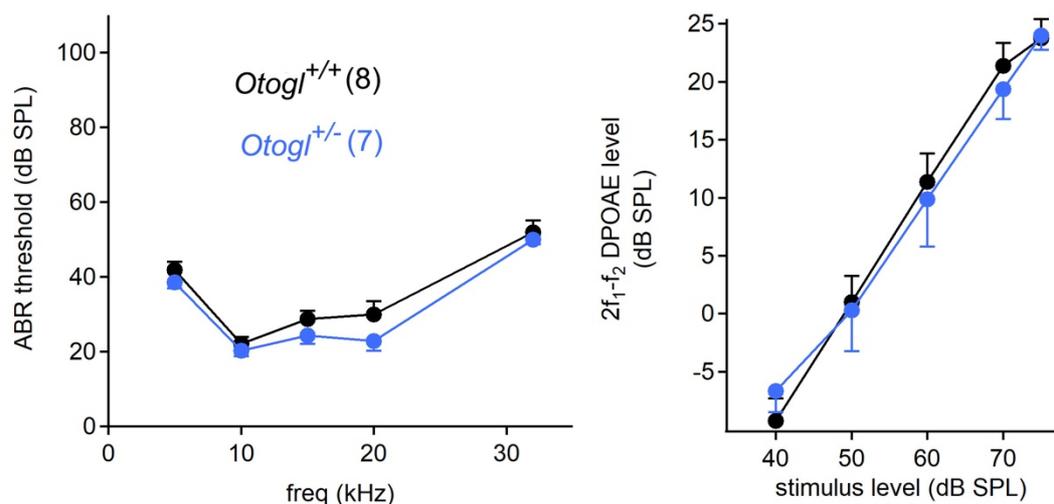


Figure 52 : Tests fonctionnels de l'audition des souris *Otogl* sauvages et hétérozygotes. Les potentiels évoqués auditifs (à gauche) et les produits de distorsion (à droite) sont normaux chez le mutant hétérozygote et le sauvage.

Afin d'étudier les fibres à haut seuil, un ABR classique est tout d'abord enregistré en réponse à un ton dit « probe tone » d'intensité d'environ 60 dB SPL (typiquement à une fréquence de 10 kHz), un niveau sonore auquel toutes les fibres à bas seuil sont recrutées sans solliciter les fibres à haut seuil. Puis, un bruit blanc à large spectre d'intensité sonore croissante est présenté à la souris pendant l'enregistrement de l'ABR en réponse au « probe tone » jusqu'à masquer la réponse des ABRs. Ce masquage permet de désynchroniser la réponse des fibres à

bas seuil sur les réponses ABRs enregistrées et aplatit le signal. Une fois le masquage obtenu, il suffit d'augmenter le volume du « probe tone » à 10 kHz permettant la réémergence du signal ABR. Le volume du « probe tone » servant à générer les ABRs est accru par tranches de 10dB. Cette manipulation fait émerger à nouveau le signal ABR en 5 ondes. Ces ABRs sont appelés ABRs ré-émergents (r-ABRs). En ce qui concerne les souris *Otogl^{+/-}*, on observe des ABRs ré-émergents comme classiquement décrits chez d'autres lignées de souris sauvages (Giraudet et al. 2021). Cependant, la forme du signal des r-ABRs des souris *Otogl^{+/-}* était anormale (**Figure 53A**). Les amplitudes des ondes I et V des r-ABRs ont été analysées plus en détail. En regardant de plus près l'onde I qui rend compte de l'activité électrique des SGNs, on note chez le mutant hétérozygote *Otogl^{+/-}* une baisse significative moyenne de 47% des amplitudes de l'onde I des R-ABR pour le probe tone +10 dB SPL en comparaison des souris contrôles *Otogl^{+/+}* (n = 7, test de Mann-Whitney, p = 0.0068) (**Figure 53B**). Lorsque l'intensité sonore du probe tone est davantage accrue (+20 dB et +30 dB), cette différence s'estompe (n = 7 pour les deux génotypes, test de Mann-Whitney, p = 0.62 pour 20dB et p = 0.95 pour 30 dB) (**Figure 53B**). L'onde V qui rend compte de l'activité électrique des voies supérieures à partir du thalamus montre une différence significative pour les +10 dB et les +20 dB SPL (n = 7, test de Mann-Whitney, p = 0.038 pour +10dB et p = 0.011 pour 20dB). Cependant pour la tonalité masquant +30dB, aucune différence significative n'est observée entre les sauvages *Otogl^{+/+}* (n = 7) et les mutants hétérozygotes *Otogl^{+/-}* (n = 7) (test de Mann-Whitney, p = 0.34). Ces résultats suggèrent un déficit fonctionnel des fibres à haut seuil des souris *Otogl^{+/-}* qui peut être compensé au moins partiellement par une augmentation du volume sonore.

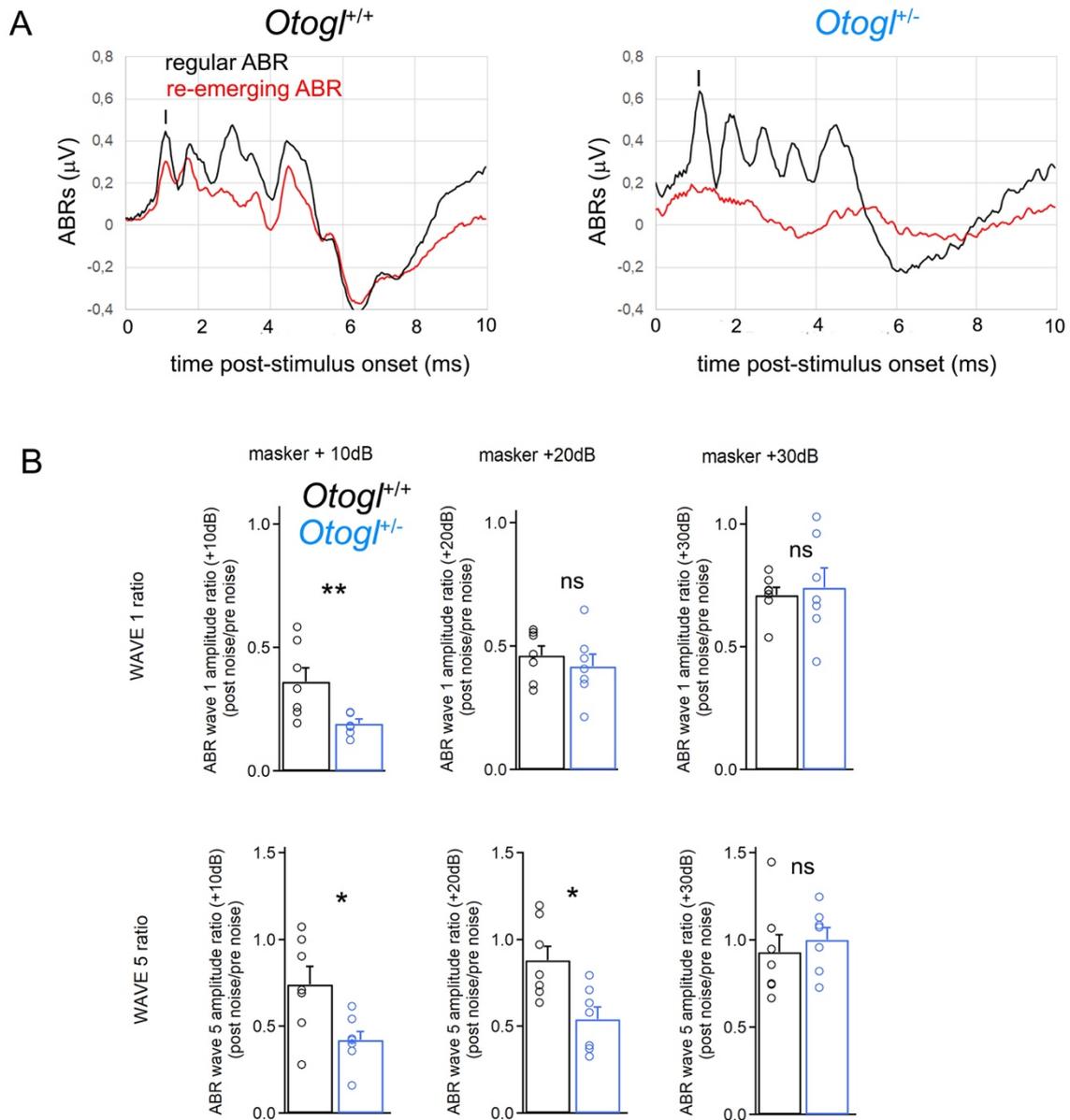


Figure 53 : *Otogl* possède des défauts fonctionnels qui ont été mesurés à l'aide de tests fonctionnels auditifs. A : mesures d'ABRs ré-émergents chez les sauvages *Otogl*^{+/+} et les mutants hétérozygotes *Otogl*^{+/-}. B. Détails de l'onde I et de l'onde V avec différents pas de volume du « probe-tone ». Les données sont représentées par des moyennes + SEM avec les valeurs individuelles (cercles) ; **, $p < 0,01$; ns, non significatif (test bilatéral non-paramétrique de Mann-Whitney)

Le déficit fonctionnel des fibres à haut seuil est, à première vue, plutôt surprenant puisqu'on pourrait s'attendre à ce que ce déficit prévienne les crises audiogènes plutôt qu'il ne les encourage. Une hypothèse est que les fibres à haut seuil par leur activation pourraient enclencher une série de réflexes protecteurs de l'oreille comme le réflexe musculaire de l'oreille

moyenne (MEMR) ou encore le réflexe de sursaut. Un défaut d'activation de ces réflexes à cause du déficit des fibres à haut seuil pourrait expliquer le lien surprenant entre crise audiotogène et un déficit fonctionnel des fibres à haut seuil. Pour tester cette hypothèse, nous nous sommes concentrés sur le MEMR. L'intensité de ce réflexe peut être mesurée indirectement par la mesure des DPOAEs. Les DPOAEs sont mesurés à une fréquence primaire en présentant à l'oreille ipsilatérale les fréquences f_1 et f_2 (avec $f_2 = 8000$ Hz et $f_2/f_1 = 1,2$) pour une intensité d'environ 60 dB. Le produit de distorsion $2f_1 - f_2$ qui en résulte est recueilli à l'oreille ipsilatérale à intervalles réguliers. Puis, une stimulation acoustique de type bruit blanc filtré passe-bande [0,02–20 kHz] est présentée à l'oreille controlatérale. Le seuil du réflexe MEMR est défini comme l'intensité sonore minimale déclenchant une baisse des DPOAEs. En effet, le réflexe MEMR étant bilatéral, son activation entraînera une atténuation du son à l'entrée de la cochlée des deux côtés, puis une baisse de la réponse des cellules ciliées externes, et donc tout logiquement celle des DPOAEs. Sur les exemples individuels de la **Figure 54A**, la baisse du niveau sonore des DPOAEs $2f_1 - f_2$ qui définit le seuil d'activation du MEMR a été observée pour un bruit de 70 dB SPL pour l'exemple *Otogl^{+/+}* et de 82 dB SPL pour l'exemple *Otogl^{+/-}* (**Figure 54A**). En comparant les moyennes des seuils de réflexe mesurés dans les deux groupes, on observe une différence significative entre les sauvages *Otogl^{+/+}* qui ont un seuil de réflexe de $80 \pm 0,97$ dB SPL ($n = 9$) et les souris mutantes hétérozygotes *Otogl^{+/-}* avec un seuil de déclenchement du réflexe de $90 \pm 2,37$ dB SPL ($n = 9$), (test de Mann-Whitney, $p = 0,0023$ et test-t de Student avec correction de Welch, $p = 0,0029$) (**Figure 54B**).

Un décalage de phase de rotation des DPOAEs et un changement dans les niveaux de stimuli du canal de l'oreille (qui rend compte de l'impédance de l'oreille moyenne et qui est contrôlé par le réflexe stapédien et non affecté par l'activité de la voie olivo-cochléaire médiale) permettent d'exclure d'autres contributions que celles de la contraction musculaire (**Figure 54C**). Les changements des seuils et des DPOAEs sont donc un résultat uniquement de la contraction du muscle stapédien, l'influence de la voie olivo-cochléaire étant éliminée. De plus, cette voie est très peu active à la fréquence de 8 kHz.

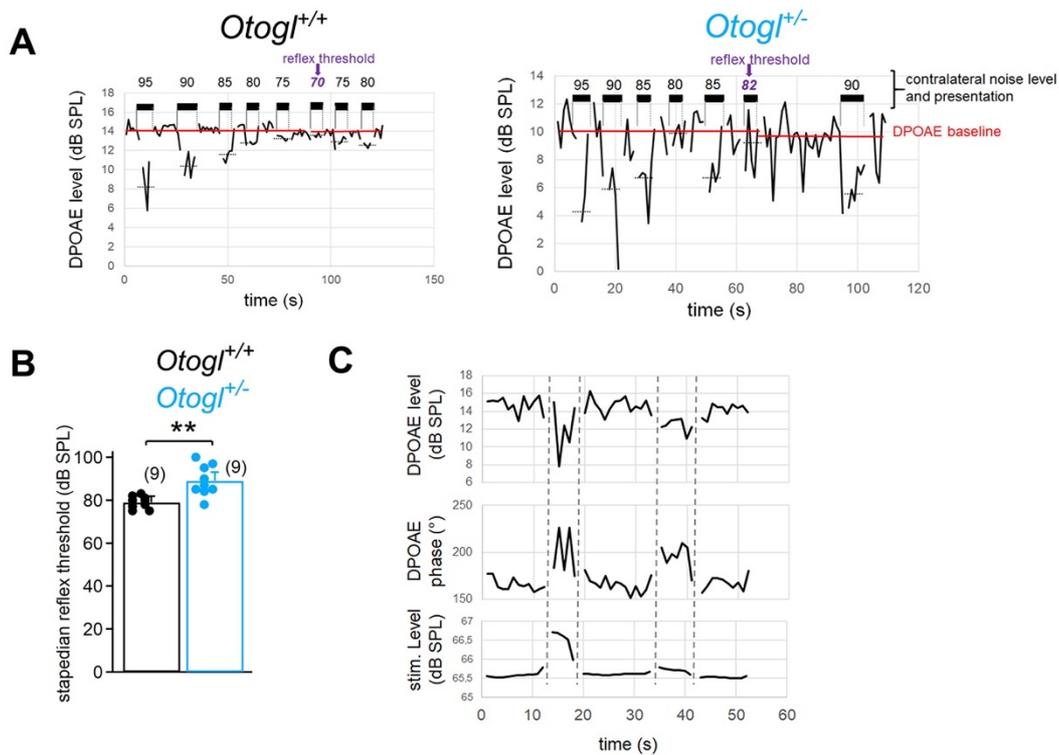


Figure 54 : Le réflexe musculaire de l'oreille moyenne des souris *Otogl*^{+/-} est défectueux. A : Exemple de MEMR déclenché par un bruit controlatéral à des intensités croissantes. Le DPOAEs est produit par la présentation de deux fréquences $f_2 = 8$ kHz et $f_1 = 6,67$ kHz, 60 dB SPL. L'intensité du bruit blanc controlatéral déclenchant le réflexe MEMR est présenté à des intensités croissantes de 40 à 90 dB SPL. B : Moyenne des seuils d'activation du MEMR de chaque groupe (*Otogl*^{+/+} et *Otogl*^{+/-}). Les données sont représentées par des moyennes + SEM avec les valeurs individuelles (cercles) ; **, $p < 0,01$; (test bilatéral non-paramétrique de Mann-Whitney). C : paramètres excluant l'influence de la voie olivo-cochléaire.

Afin de m'assurer que les IHCs étaient innervées par un nombre normal de fibres de type I dans les souris *Otogl*^{+/-} et *Otogl*^{-/-}, j'ai effectué une analyse détaillée par immunofluorescence du nombre de synapses à ruban (définies par la colocalisation de densités pré et post-synaptiques). Pour ce faire, j'ai fait des immuno-marquages dans les IHCs des *Otogl*^{-/-}, *Otogl*^{+/-} et *Otogl*^{+/+} dirigés contre GluR2/CtBP2 (marqueurs des récepteurs AMPA post-synaptiques et des rubans pré-synaptiques) et Myo7a (marqueur des cellules ciliées) (**Figure 55**). Aucune différence significative n'a été observée entre le contrôle *Otogl*^{+/+} et les mutants homozygotes *Otogl*^{-/-} (test de Mann-Whitney, $p = 0,84$), ainsi qu'entre les mutants hétérozygotes *Otogl*^{+/-} et les sauvages (test de Mann-Whitney, $p = 0,69$).

Discussion et perspectives

1. La susceptibilité aux crises audiogènes, un phénotype révélateur d'un déficit auditif central.

Les souris mutantes *Otogl*, une lignée fortement excitable

Les études portant sur la possible implication du cortex auditif dans la survenue des crises audiogènes sont peu nombreuses et la plupart de ces crises sont considérées comme ayant une origine dans le colliculus inférieur (IC) (Carl L. Faingold 2002). Une étude récente de mon laboratoire d'accueil illustre le fait qu'un défaut d'inhibition dans le cortex auditif pourrait suffire à induire une prédisposition aux crises audiogènes, suggérant un possible rôle cortical dans la survenue de certaines de ces crises (Libé-Philippot, Michel, Boutet de Monvel, et al. 2017b). Cette observation suggère que l'origine de ces crises est probablement multiple et le déchiffrement des mécanismes moléculaires en jeu reste encore à élucider. La survenue des crises audiogènes chez la plupart des modèles entre P20 et P35, période pendant laquelle l'audition périphérique est mature, suggère que des mécanismes de compensation se mettent en place dans les systèmes auditifs centraux. Ces mécanismes pourraient avoir lieu à l'échelle du réseau neuronal cortical (une excitabilité qui diminuerait ou une inhibition qui augmenterait) et sous-cortical (régions auditives sous-corticales qui renforceraient leur inhibition).

Chaque lignée de souris prédisposée aux crises audiogènes peut potentiellement ouvrir une nouvelle voie d'entrée à la compréhension des bases moléculaires du développement du réseau neuronal du système auditif central. Mon laboratoire d'accueil a récemment identifié 5 gènes impliqués dans la susceptibilité aux crises audiogènes chez la souris et exprimés au cours du développement : *Cdhr15*, *Cdhr23*, *Adgrv1*, *Otog* et *Strc*. *Otog* et *Strc* étant nouvellement identifiés comme gènes de prédisposition aux crises audiogènes et étant l'objet d'une étude avec *Otogl* dans la cochlée, j'ai naturellement commencé ma thèse sur l'étude de ces trois protéines et leurs rôles dans l'établissement des réseaux neuronaux du système auditif central.

Otogéline, Stéréociline et Otogéline-like sont trois composantes majeures des connecteurs supérieurs de la touffe ciliaires des cellules sensorielles externes dont la mutation provoque une surdité modérée. Les données de l'étudiant en thèse me précédant avaient révélé une prédisposition aux crises des lignées mutantes *Strc* et *Otog*. J'ai donc complété ces données en testant la susceptibilité aux crises audiogènes des souris *Otogl^{+/+}*, *Otogl^{+/-}* et *Otogl^{-/-}*. Mes résultats ont montré une très forte prédisposition aux crises audiogènes des souris mutantes homozygotes *Otogl^{-/-}*. Les souris hétérozygotes *Otogl^{+/-}* font également des crises mais en plus faible proportion. Le temps de latence est extrêmement court entre le début du son et les

premières manifestations de la crise audiogène pour les souris *Otogl*^{-/-} alors que les souris *Otogl*^{+/-} ont un temps de latence un peu plus long. La délétion bi-allélique d'*Otogl* induirait donc une plus forte prédisposition aux crises audiogènes et entraînerait une plus forte excitabilité. Le fait que les souris mutantes hétérozygotes *Otogl*^{+/-} puissent manifester des crises malgré une audition normale permet d'écarter l'hypothèse qu'un défaut auditif purement cochléaire serait à l'origine des crises. **Les crises audiogènes chez le modèle *Otogl* auraient donc pour origine un déficit des voies rétro-cochléaires, i.e. au-delà des cellules sensorielles dans les voies auditives.** La présence de crises audiogènes après P35 chez les souris mutantes *Otogl*^{-/-} indique que les mécanismes de compensation ne sont pas suffisants, les déficits provoqués par l'inactivation d'*Otogl* étant probablement trop importants. Il est à noter que l'absence de crise audiogène chez les souris hétérozygotes *Otogl*^{+/-} au-delà de P35-P40 n'implique pas l'absence de défaut fonctionnel des voies auditives rétro-cochléaires. Il est tout à fait possible que des animaux *Otogl*^{+/-} présentent les mêmes défauts fonctionnels que les animaux mutants *Otogl*^{-/-} mais qu'une compensation d'autres régions cochléaires ou cérébrales soit suffisante pour que les souris *Otogl*^{+/-} échappent au déclenchement de la crise audiogène.

***Strc* et *Otogl* sont exprimés dans les cortex à différents stades**

À ce jour, la littérature est très peu documentée sur les profils d'expression de *Strc*, *Otog* et *Otogl* dans l'encéphale. *Otogl* serait exprimé dans le cortex chez la souris à P6 mais ne serait pas exprimé dans l'hippocampe (Yariz et al. 2012). De même, *Strc* ne serait pas exprimé dans le cerveau (E. Verpy et al. 2001). J'ai donc établi un profil d'expression grâce à la RT-PCR, une méthode de détection sensible et reproductible des molécules par PCR en temps réel grâce à une rétro-transcription de l'ARN. Seuls *Strc* et *Otogl* sont exprimés en embryonnaire et dans différentes structures telles que l'IC, le tronc cérébral, le cervelet, l'hypothalamus et l'AC en post-natal. Il n'y a pas de discrimination dans l'expression des isoformes *Otogl* en fonction des régions cérébrales. Elles ont toutes été détectées dans les mêmes régions. *Gipc3*, *CIB2*, *Cdhr23*, *Cdhr15*, *MyoVIIa* sont également exprimés dans les régions cérébrales et possèdent un rôle dans la touffe ciliaire et la transduction mécano-électrique. *Tecta* n'est pas détecté dans les régions cérébrales auditives. *Gipc3*, *Cdhr15* et *Cdhr23* sont des lignées de souris prédisposées aux crises audiogènes, confortant l'idée d'un modèle général de quelques lignées de souris dont la mutation provoque une surdité et sont susceptibles aux crises audiogènes comme point d'entrée dans la compréhension des mécanismes moléculaires centraux. Cette méthode de détection est cependant très sensible et n'est absolument pas quantitative : il est possible de

détecter aussi bien une seule copie comme plusieurs milliers de copies d'ARN, qui sont ensuite amplifiées et ne rendent donc pas compte de l'état initial du nombre de copies d'ARN.

Au début de ma thèse, j'ai donc démarré l'étude des trois lignées suivantes : stéréociline, otogéline et otogéline-like et j'ai commencé à investiguer leur rôle dans l'encéphale, jusqu'à présent inconnu. Les outils mis auparavant en place dans notre laboratoire comme les anticorps qui avaient été validés dans la cochlée (Avan et al. 2019) se sont révélés non-spécifiques pour l'étude des systèmes auditifs centraux. Dès le début de ma thèse, j'ai donc développé de nouveaux outils pour caractériser *Strc*, *Otog* et *Otogl* dans le cerveau. L'un des premiers outils développés a été le RNAscope, une méthode de détection très spécifique de l'ARN cible. Avec cette technique, j'ai détecté l'expression de l'ARN *Strc*, *Otog* et *Otogl* dans les cortex et l'hippocampe à différents stades embryonnaires et post-nataux. Cependant, ces trois sondes n'ont pas montré de co-localisation avec les sondes VGluT2, GABA et GFAP, marquant respectivement les neurones excitateurs, les neurones inhibiteurs, les astrocytes et ne renseignent donc pas sur le type cellulaire qui exprimerait ces trois protéines. Un désavantage de cette méthode est l'absence d'informations qualitatives. En effet, l'ARN ne rend pas compte de la présence de la protéine traduite, et n'a pas d'indication spatio-temporelle durant le développement cérébral. L'ARN détecté peut être résiduel ou encore ubiquitaire sans rendre compte d'une future spécialisation dans un compartiment précis de la cellule. Il est donc difficile de conclure sur le reflet d'un rôle biologique des ARN marqués.

Au vu de la complexité du sujet, il a été décidé de restreindre l'étude à une seule protéine. L'excitabilité extrême de la lignée *Otogéline-like*, la présence d'ARN dans les structures d'intérêt ont fait d'otogéline-like la meilleure candidate pour l'étude de ce modèle. Avec le choix de cette protéine, j'ai fait produire une lignée murine transgénique exprimant la Cre recombinase sous le contrôle du promoteur *Otogl*. Cet outil, croisé avec une lignée rapportrice conditionnelle *Rosa-tdTomato* permet l'expression de la protéine fluorescente rouge tdTomato, et rend possible le traçage des populations neuronales où le promoteur *Otogl* est actif ou a été actif au cours du développement. Une fois l'expression de la tdTomato enclenchée, celle-ci est permanente même si l'expression de la cre cesse ultérieurement.

Le développement de ce nouveau modèle de souris cre sous le contrôle du promoteur d'*Otogl* ouvrait la voie pour identifier le lien entre la susceptibilité aux crises audiogènes et des défauts des voies auditives centrales dans les souris mutantes *Otogl*.

2. Quels sont les défauts anatomiques et fonctionnels du cortex auditif chez les souris mutantes *Otogl^{-/-}* ?

En attendant la production des souris transgéniques (durée de 18 mois), j'ai étudié les possibles défauts anatomiques et fonctionnels des voies centrales auditives en me basant sur les défauts qui avaient été observés au laboratoire dans d'autres lignées de souris montrant une prédisposition aux crises (Libé-Philippot, Michel, Boutet de Monvel, et al. 2017b).

Il est vraisemblable que plusieurs mécanismes et différentes zones du cerveau soient à l'origine des crises audiogènes. Cependant, il existe un principe commun à la très grande majorité de ces crises, celles-ci surviennent lorsqu'il y a une perturbation des mécanismes régulant l'équilibre entre l'excitation et l'inhibition neuronales (voir pour revue Scharfman 2007). Se basant sur une étude de mon laboratoire d'accueil montrant une baisse du nombre d'interneurones à parvalbumine dans le cortex auditif chez les souris mutantes *Cdhr23* et *Cdhr15* (Libé-Philippot, Michel, Boutet de Monvel, et al. 2017b) et perturbant cet équilibre entre l'inhibition et l'excitation, je me suis donc interrogée sur la possibilité d'observer les mêmes défauts en post-natal chez les souris mutantes homozygotes *Otogl^{-/-}* et hétérozygotes *Otogl^{+/-}*, à savoir, une baisse significative du nombre d'interneurones à parvalbumine dans le cortex auditif. En l'absence de ce phénomène dans le cortex auditif mais également dans les cortex visuels et somatosensoriels, les interneurones exprimant la calbindine ont alors été étudiés. La calbindine est une protéine de transport liant le calcium et qui marque environ 10% des interneurones. Elle joue également un rôle dans les modèles épileptiques. Une baisse de l'expression de la calbindine dans le gyrus denté, une structure de l'hippocampe, est un marqueur morphologique observé dans les modèles animaux et humains susceptibles à l'épilepsie (Carter et al. 2008; Shetty et Hattiangady 2007). De nouveau, je n'ai observé aucune différence significative dans l'expression de la calbindine au niveau cortical, excluant cette protéine des possibles défauts anatomiques du cortex auditif. Bien que je n'aie relevé aucun défaut de l'inhibition dans les souris mutantes *Otogl*, un déséquilibre de l'excitation ne peut pas être exclu.

A ce stade de ma thèse, le mystère restait entier sur l'origine des crises. Les seuls éléments de réponse étaient une expression d'otogéline-like dans les cortex à un niveau d'expression inconnu, une relation d'interdépendance des crises audiogènes avec le génotype de l'animal testé et aucun défaut d'inhibition relevé.

3. Une expression d'Otogl dans les voies auditives rétro-cochléaires

3.1. L'expression de la tdTomato sous le contrôle du promoteur *Otogl* révèle l'implication de la voie rétro-cochléaire.

Les souris *POtogl-cre^{+KI}* croisées avec la lignée *Rosa-tdTomato* permettent le traçage des populations où les promoteurs *Otogl* et *Rosa* (par laquelle est contrôlée l'expression de la tdTomato) sont tous les deux actifs. Cependant, la fluorescence des cellules *rosa-tdTomato⁺* ne rend pas compte de l'expression précise, spatialement et temporelle, de la protéine *otogl*.

Contrairement aux modèles de souris mutantes *Cdhr15* et *Cdhr23*, je n'ai trouvé aucun défaut majeur d'inhibition corticale dans les souris mutantes *Otogl^{-/-}* ou *Otogl^{+/-}*. Les animaux *POtogl-cre^{+KI}*, *rosa-tdTomato* confirment cette hypothèse par l'absence d'expression de la tdTomato dans le cortex auditif, excluant définitivement l'implication directe de cette structure dans la susceptibilité aux crises audiogènes des souris mutantes *Otogl^{-/-}* ou *Otogl^{+/-}*. Cette observation corrobore le fait que l'ARN d'*Otogl* a été détecté dans de nombreuses structures sans spécificité pour le cortex auditif. Par ailleurs, j'ai observé des amas de neurones exprimant la tdTomato (reflétant ainsi l'activité du promoteur *Otogl*) dans une sous-région du striatum. Ces neurones se localisent à la jonction des noyaux amygdaliens latéraux et du noyau caudé, région qui n'est pas répertoriée dans les atlas de neuroanatomie. Les noyaux amygdaliens font partie du système limbique, connu pour jouer un rôle dans les émotions telles que la peur et l'anxiété (Almeida-Suhett et al. 2014; Bzdok et al. 2013). L'excitabilité neuronale du noyau amygdalien joue également un rôle dans l'épilepsie du lobe temporal (Aroniadou-Anderjaska, Qashu, et Braga 2007) mais aucune donnée ne relie un phénotype de crises audiogènes à cette région. Au vu du faible nombre de ces neurones, un à deux dizaines par tranche, il apparaît peu probable qu'un déficit dans ces neurones soient à l'origine de la sévérité du phénotype des crises audiogènes. D'autres modèles de souris *Cre* croisées avec la *Rosa-tdTomato* telles que la *Myo7a^{+floxed}*, *Rosa-tdTomato* montrent des expressions beaucoup plus prolifératives des cellules exprimant le gène sous le contrôle de la protéine fluorescente que dans notre modèle. Cela renforce l'idée que le faible nombre de neurones résulte d'une faible expression d'*Otogl* dans le cortex et le striatum, et non pas d'un défaut de la lignée *Rosa-tdTomato*.

L'IC étant impliqué dans les crises audiogènes de nombreux modèles de souris, il me fallait explorer l'expression de la tdTomato des souris *POtogl-cre^{+KI}*, *Rosa-tdTomato* dans les voies auditives centrales. Par exemple, chez le hamster (modèle *GASH:Sal*), la susceptibilité

aux crises audiogènes est liée à des défauts morphologiques du système efférent olivo-cochléaire (Sánchez-Benito et al. 2017). En ce qui concerne *Otogl*, je n'ai observé aucune cellule exprimant la tdTomato dans le colliculus inférieur, le lemnisque latéral et le complexe olivaire supérieur des souris *POtogl-cre^{+KI}*, *Rosa-tdTomato*. **A partir de ces premiers résultats, j'ai pu conclure qu'il est peu probable que le site d'initiation des crises audiogènes dans les souris *Otogl^{-/-}* ou *Otogl^{+/-}* provienne des voies auditives centrales.**

Cependant, en observant plus attentivement les noyaux cochléaires, j'ai détecté la présence de fibres exprimant la tdTomato mais de aucun corps cellulaire. Ces fibres ont une organisation spatiale qui se concentre principalement dans l'AVCN, malgré quelques fibres qui ramifient vers le DCN. Cette concentration des fibres dans l'AVCN et la grande quantité de fibres marquées m'ont très vite orientée sur la piste des fibres afférentes de type 1 du nerf auditif. Le CN est également un des relais de la voie efférente, les neurones de la voie olivaire médiale projetant collatéralement dans le CN, en particulier dans le VCN (Baashar, Robertson, et Mulders 2015; Brown et al. 1988), les fibres exprimant *Otogl* pourraient être ces fibres provenant du SOC mais les coupes sagittales ont montré qu'aucune fibre ne provenait du LSO, confirmant la non implication de la voie olivo-cochléaire dans le modèle *Otogl*. Une particularité du CN est que c'est un lieu d'arrêt obligatoire de toutes les fibres de type 1 du nerf auditif.

La relation entre les crises audiogènes, le nerf auditif et ses projections dans les CNs est très mal connue et peu documentée dans la littérature scientifique. Les rares études à ce sujet indiquent que des lésions du noyau cochléaire ventral provoquent un blocage des crises audiogènes chez le rat (Browning 1986) et que des anomalies morphologiques des noyaux cochléaires sont observées dans le modèle épileptique *GASH:Sal* (Sánchez-Benito et al. 2020). Notre modèle est différent du modèle *GASH:Sal* puisque ce modèle met en jeu la voie olivo-cochléaire contrairement au mien.

Ainsi les souris mutantes *Otogl* seraient un nouveau modèle de crise audiogène mettant en jeu les fibres afférentes du nerf auditif.

3.2. Otogl est exprimée dans de nombreuses structures cochléaires

J'ai ensuite naturellement poursuivi l'étude de l'expression d'*Otogl* en caractérisant l'expression de la tdTomato dans la cochlée avec deux objectifs majeurs : utiliser la cochlée comme contrôle en confirmant que l'expression d'*Otogl* (révélée par l'expression de la

tdTomato) est bien exprimée dans les OHCs, et trouver l'origine des fibres du nerf auditif côté périphérique. Dans la cochlée, comme attendu, le promoteur *Otogl* était actif dans les OHCs. De plus, celui-ci était également actif dans de nombreuses structures de la cochlée telles que les IHCs, les cellules de soutien, la strie vasculaire, le limbe spiral, les cellules interdentes, des cellules de la strie vasculaire, les *root cells*, et les SGNs. Ces résultats surprenants ouvrent la possibilité de nouveaux rôles/fonctions pour *Otogl*. Brièvement, je rappelle que les cellules de soutien maintiennent les IHCs et les OHCs tandis que la strie vasculaire a non seulement pour rôle le transport de l'oxygène et des nutriments dans la cochlée, mais aussi de créer le potentiel endolymphatique. Il est à noter que la membrane tectoriale est composée de glycoprotéines (dont otog et otogl) synthétisées par les cellules du limbe spiral, les cellules interdentes et les cellules de soutien (El-Amraoui et al. 2001). Est-ce que les cellules de soutien auraient ainsi un rôle dans l'expression d'*Otogl* ? On peut exclure l'idée qu'*Otogl* serait fournie par la membrane tectoriale puisque c'est une structure qui ne se renouvelle quasiment pas et où les protéines sont intégrées dans les fibres. Cependant, **une hypothèse est que les dimères d'otogéline et d'otogéline-like seraient sécrétées en conséquence dans l'espace sous-tectorial par les cellules de soutien** sachant que les dimères faits avec les CTCK se forment dans le réticulum endoplasmique (Perez-Vilar et Hill 1999). Otog et otogl par la suite seraient captées par la stéréociline à la surface des OHCs. Ce rôle est à explorer plus en détail. Quant aux *root cells*, elles ne sont pas encore très bien connues, on leur prête des rôles d'homéostasie en plus de leur rôle d'ancrage de l'épithélium sensoriel au ligament spiral (Stanković et al. 1997).

L'innervation afférente transmet les informations de la cochlée au système auditif central via deux types de neurones résidant dans le ganglion spiral cochléaire. La parvalbumine (PV) marque les deux types d'afférences (type 1 et type 2), qui sont clairement distinguables par des traits anatomiques :

- les fibres de types 1 s'approchent radialement des cellules ciliées, tandis que les fibres afférentes de type II se dirigent en spirale sous les projections vers le haut pour innover les OHCs (Petitpré et al. 2018; Webber et al. 2021).
- chaque SGN de type I ne contacte qu'une seule IHC, tandis que chaque SGN de type II contacte plusieurs OHCs.

Les SGNs exprimant *Otogl* co-marquent avec les neurones PV + ; *Otogl* est donc bien exprimée dans les SGN afférents. Les fibres auditives *tdTomato*⁺ possèdent des corps cellulaires de grande taille et innervent les IHCs. *Otogl* pourrait donc être exprimé dans les fibres de type 1.

Ces fibres exprimant *Otogl* sont présentes tout le long de la tonotopie, montrant qu'il n'y a aucune discrimination fréquentielle par les fibres exprimant *Otogl*.

3.3. Caractérisation du sous-type de SGN exprimant *Otogl*

Chez la souris, les SGNs naissent des progéniteurs dans la vésicule otique et se séparent du pool de progéniteurs au stade E10 pour former le ganglion spiral (Perkins et Morest 1975; Huang et al. 2007; Koundakjian, Appler, et Goodrich 2007). Ensuite entre E18 et P3, le ganglion spiral se forme, les SGNs post-mitotiques se développent et innervent les cellules ciliées entre P0 et P3. Les fibres innervant les cellules ciliées vont ensuite se rétracter afin d'éliminer la grande majorité des innervations des OHCs tout en conservant celles des IHCs (P3-P6) (Huang et al. 2007). Le promoteur *Otogl* étant exprimé dans les SGNs dès P0, on peut supposer que les fibres se différencient moléculairement très tôt au cours du développement (S. Sun et al. 2018; Echter 1992; Huang et al. 2007; Koundakjian, Appler, et Goodrich 2007; Perkins et Morest 1975).

Les SGNs de type 1 se catégorisent en trois sous-classes et diffèrent par leur sensibilité au son et leur taux de décharge spontanée (SR) : neurones à basse décharge spontanée (haut seuil), neurones à moyenne décharge spontanée et neurones à haute décharge spontanée (bas seuil) (M. C. Liberman 1978). Ces trois sous-types sont présents chez la souris quelle que soit la position tonotopique. Les SGNs avec différents types de SR forment des synapses à différentes positions autour de la périphérie basolatérale des IHCs et envoient leurs projections vers le CN. Chez le chat, les fibres à bas SR innervent préférentiellement le côté modiolaire faisant face au ganglion spiral, tandis que les fibres à haut SR innervent préférentiellement le côté pilaire faisant face aux OHCs (M. C. Liberman 1982a). En revanche chez la souris, cette étude consistant à enregistrer, marquer, et reconstruire la morphologie et l'innervation des SGNs *in vivo* n'a pas été faite, cette connectivité n'est donc que supposée. D'un point de vue moléculaire, plusieurs nomenclatures différentes ont été définies simultanément pour les mêmes sous-types. Shrestha, Sun et leurs équipes (Shrestha et al. 2018; S. Sun et al. 2018) ont ainsi renommé les trois classes en Ia, Ib, Ic, correspondant respectivement à haut SR, moyen SR et bas SR. Par souci de clarté, je vais garder cette même dénomination. Le manque de connaissance des signatures moléculaires spécifiques aux sous-types représentait jusque récemment un obstacle majeur à la compréhension de la physiologie des SGNs. Cependant, l'approche transcriptomique a permis de mieux caractériser les 3 sous-types de SGNs. Les SGNs de type Ia représenteraient environ 25-35% des SGNs de type 1 et sont caractérisés par

le marqueur *Calb2* (calrétinine). Les SGNs de type 1b représentent la large majorité des SGNs avec 40-50 % et sont caractérisés par le marqueur *Calb*. Enfin, les SGNs de type 1c représentent 25% et expriment le marqueur *Pou4f1* (Shrestha et al. 2018; S. Sun et al. 2018).

Mes résultats d'immunohistochimie ont montré que 18% des SGNs tdTomato+ co-expriment avec *Pou4f1*, 11% co-expriment avec calrétinine et 9% co-expriment avec calbindine. Comme déjà expliqué dans la partie résultat, les proportions de neurones exprimant *Pou4f1* étaient largement sous-évaluées probablement à cause du manque de fiabilité du marquage anticorps pou4f1 qui nécessite un traitement citrate et une exposition à la chaleur à 95°C degrés. D'où la nécessité de poursuivre cette étude des sous-types de SGNs par la technique du RNAscope, méthode très spécifique et sensible. Mes premiers résultats RNAscope montrent un co-marquage des transcrits de *Pou4f1* avec la grande majorité (94%) des SGNs exprimant *Otogl* à P22 contre 15% des SGNs co-marqués avec les transcrits de *Calb1*. Cependant, ces résultats sont pour le moment incomplets car la sonde dirigée contre l'ARNm *Calb2* (CR) n'était pas encore disponible. Il convient de poursuivre l'étude des fibres de type 1 exprimant *Otogl* avec les trois sondes au complet et une quantification plus poussée en termes de nombre de cellules et d'animaux. Étant donné que l'hétérogénéité moléculaire et des trois sous types de SGNs n'est établi qu'après la troisième semaine post-natale, uniquement les stades au-delà de P25 doivent être retenus comme stades de référence (S. Sun et al. 2018). Un marquage par RNAscope par une sonde dirigée contre le transcrit de la périphérine, un marqueur des SGNs de type 2, est également en cours pour éliminer l'hypothèse d'une expression d'*Otogl* dans ces fibres. **Actuellement, nos résultats montrent qu'*Otogl* est exprimée dans la grande majorité des fibres de type 1 à basse activité spontanée/haut seuil.**

Un point à relever est que les travaux d'Ulrich Müller et son équipe (S. Sun et al. 2018) ont fortement suggéré que la différenciation des fibres se faisait en partie grâce à l'activité fonctionnelle des cellules sensorielles, notamment en parallèle de la mise en route de la transduction mécano-électrique. En effet, la grande majorité des fibres du ganglion spiral co-expriment les marqueurs clés calbindine, CR, et pou4f1 entre P0 et P14. Ce n'est qu'à partir de P10 que les trois types de fibres expriment spécifiquement uniquement un des trois marqueurs clés (*Calb1*, CR et pou4f1). Or *Otogl* est déjà exprimée dans les SGNs à P0 et est détectée uniquement dans les fibres à haut seuil à P20, suggérant une spécification des SGNs déjà à P0 des fibres à haut seuil. Cela suggère que les marqueurs *Calb1*, *Calb2*, et *Pou4f1* ne sont pas des marqueurs de spécification mais de maturation. L'outil *POtogl-cre*, *Rosa-tdTomato* est un outil de cartographie du devenir des neurones, les SGNs exprimant la tdTomato à P0 l'exprimeront

toujours à P20 et au-delà. Cela pourrait contredire le postulat publié d'une différenciation des SGNs par l'activité neuronale. Le devenir des SGNs serait déjà décidé au plus tôt au cours du développement, au plus tard à P0, donc bien avant la mise en place de la transduction mécano-électrique, de l'activité spontanée des IHCs, et de l'activité dépendantes de la stimulation sensorielle.

4. Quels types cellulaires reçoivent les fibres exprimant *Otogl* dans les noyaux cochléaires ?

Dans le noyau cochléaire ventral, où la majorité des fibres tdTomato se situent, il existe plusieurs types de cellules classées en trois grandes familles : les cellules en buisson caractérisées par des structures synaptiques remarquables que sont les *endbulbs of Held* et les *modified endbulbs of Held*, les cellules étoilées et les cellules « pieuvres ». Les cellules en buisson et les cellules étoilées expriment en majorité la calbindine et la calrétinine. La parvalbumine est exprimée dans la grande majorité des neurones des CN et ne rend pas compte d'une famille de cellules en particulier. Comme le montre les résultats, les cellules PV+ sont contactées par les fibres tdTomato+, montrant que la connexion synaptique est correcte et ces résultats sont cohérents avec les marquages observés dans la cochlée des SGNs co-marqués PV et tdTomato+. Quant aux *endbulbs of Held* et les *modified endbulbs of Held*, on a pu exclure les cellules en buisson comme type cellulaire recevant les fibres tdTomato+ puisque ces contacts synaptiques n'expriment pas la tdTomato. Ce résultat exclut donc une des principales connexions des voies ascendantes. Cependant, on ne peut pas exclure que nos fibres tdTomato forment de petits contacts synaptiques « conventionnels » avec les cellules en buisson. Il reste comme grandes familles les cellules « pieuvres » et les cellules étoilées. Les cellules « pieuvres » faisant partie d'une sous-région particulière du CN (noyau cochléaire postéro-ventral) (Harrison et Irving 1966), ce type cellulaire ne peut pas être le seul recevant des connexions synaptiques des fibres tdTomato. De plus, il est peu probable que les cellules pieuvres en reçoivent car la majorité des neurones tdTomato se localisent dans le noyau cochléaire antéro-ventral. La population cellulaire cible des fibres tdTomato+ est vraisemblablement les cellules étoilées qui se divisent en deux sous-familles : les cellules étoilées de type D et les cellules étoilées de type T. L'un des moyens de distinguer ces deux populations est d'étudier l'inhibition glycinergique, caractérisant les cellules étoilées de type L, (Ngodup, Romero, et Trussell 2020) en utilisant des marqueurs de la glycine, ce que je m'appête à faire.

5. Les fibres à haut seuil des souris *Otogl*^{+/-} présentent des défauts fonctionnels

Les résultats préliminaires de l'étude histochimique des fibres auditives et des SGNs nous ont orientés vers l'hypothèse qu'*Otogl* est exprimé dans les fibres à haut seuil. Toutefois, la caractérisation histochimique des fibres à haut, moyen et bas seuil est relativement récente et se base à l'origine sur une caractérisation fonctionnelle. Cette caractérisation fonctionnelle se base sur le taux de décharge spontanée des neurones (N. Y.-S. Kiang 1965; M. C. Liberman 1978) associé aux seuils de sensibilité. Il est donc apparu primordial d'étudier et de caractériser les fibres exprimant *Otogl* d'un point de vue fonctionnel.

De plus, des études récentes chez l'animal ont montré que la surexposition au bruit peut conduire à une perte sélective de terminaisons nerveuses auditives afférentes sans affecter de manière permanente les IHCs (Kujawa et Liberman 2009). Cette surexposition affecte uniquement les neurones à haut seuil de sensibilité et faible décharge spontanée, induisant un décalage de seuil par l'exposition au bruit qui se rétablit complètement. Cet exemple de synaptopathie induite par le bruit (Liberman et Kujawa 2017) est intéressant puisqu'elle présente des défauts fonctionnels mais avec des seuils auditifs normaux. De plus, une atteinte des fibres à haut seuil pourrait avoir des effets non négligeables sur l'activité des cellules du noyau cochléaire. En effet, l'activité spontanée des cellules du noyau cochléaire est déterminée par l'activité des nerfs auditifs en provenance de la cochlée (Koerber et al. 1966) mettant en lumière une possible relation d'interdépendance entre les fibres dont les fibres à haut seuil et le noyau cochléaire. Ces structures sont concernées par l'expression d'*Otogl*, ce qui rend encore plus intéressant l'étude des fibres à haut seuil du modèle de la souris *Otogl*.

L'évaluation du fonctionnement des fibres à haut seuil s'est faite par un protocole récemment mis en place par le laboratoire de biophysique neurosensorielle de Clermont-Ferrand (Giraudet et al. 2021). Se basant sur les découvertes de la surexposition au bruit affectant les neurones à haut seuil et le protocole de Kujawa (Kujawa et Liberman 2009), l'objectif de ce protocole est de saturer les neurones à bas seuil, éliminant ainsi leur contribution aux ABRs afin de ne mesurer que les ABRs engendrés par des neurones à haut seuil. Pour cela, un ton à 60dB SPL est présenté à l'animal d'expérimentation afin de masquer la réponse des fibres à bas seuil et très probablement à moyen seuil. Après masquage, l'augmentation progressive de l'intensité du ton test ne fait émerger que les ABRs ré-émergents correspondant

à l'activité des fibres à haut seuil. Cette procédure permet de rendre compte de l'activité de ces fibres principalement.

Il était nécessaire de faire cette expérience avec le mutant hétérozygote *Otogl^{+/-}* car cette souris possède des seuils d'audition tout à fait normaux, excluant l'atteinte cochléaire comme conséquence des résultats et elle possède des défauts centraux comme le montre sa susceptibilité aux crises audiogènes. De plus, ce test nécessite une gamme de fonctionnement de l'audition d'environ 90dB. Or, les souris mutantes *Otogl^{-/-}* ayant une perte auditive moyenne d'environ 70dB, il nous était impossible d'effectuer ce test car nous ne pouvons pas présenter techniquement des sons d'intensité supérieure à 110 dB. L'étude de l'activité des fibres à haut seuil de souris contrôle *Otogl^{+/+}* et de souris mutantes *Otogl^{+/-}* a révélé que les mutants hétérozygotes *Otogl^{+/-}* ont un défaut des fibres à haut seuil, défaut visible par les ABRs ré-émergents.

La fonction des fibres à haut seuil des souris hétérozygotes *Otogl^{+/-}* est donc anormale. Ce dysfonctionnement est probablement pire dans les fibres à haut seuil de souris homozygotes *Otogl^{-/-}*. Cependant, un paradoxe apparaît ici. Les fibres à haut seuil ne s'activant pas normalement, comment expliquer que les mutants hétérozygotes et homozygotes fassent des crises audiogènes alors qu'on s'attendrait à ce que les crises soient atténuées par ce défaut ? Les diverses fonctions des fibres à haut seuil restent encore méconnues. On ne connaît pas exactement les populations cellulaires connectées par ces fibres dans les noyaux cochléaires, seule leur région cible qui est l'AVCN et leur morphologie sont plus renseignées. Par ailleurs cette population de fibres est la plus sensible aux traumatismes sonores (Furman, Kujawa, et Liberman 2013).

Une hypothèse qui pourrait expliquer la survenue des crises audiogènes des souris mutantes *Otogl* serait que les fibres à haut seuil aient un rôle protecteur. Actuellement, deux mécanismes de protection acoustique sont connus : le réflexe stapédien et le réflexe du muscle tenseur du tympan. Ces boucles s'activent en réponse à des stimulations auditives intenses et ont pour rôle d'éviter les dommages dans l'oreille interne. Le réflexe stapédien est le réflexe le plus important chez l'homme et se déclenche pour des sons supérieurs à 80 dB SPL. L'information est transmise par le nerf auditif jusqu'au tronc cérébral en passant par le nerf facial et entraîne la contraction du muscle de l'étrier, également appelé muscle stapédien. Le deuxième réflexe, réflexe plus secondaire, est le réflexe du muscle du marteau suite à l'activation du nerf crânien trijumeau. Afin d'étudier un possible rôle protecteur des fibres à haut seuil, on a cherché à savoir si le réflexe stapédien était fonctionnel chez le mutant

hétérozygote *Otogl*^{+/-}, réflexe qui serait influencé par les fibres à haut seuil (Valero, Hancock, et Liberman 2016). On a observé une baisse de l'intensité des DPOAEs des souris hétérozygote *Otogl*^{+/-} et une élévation de son seuil de déclenchement. Les voies efférentes du tronc cérébral liées à l'intensité sonore sont constituées du réflexe stapédien et du réflexe efférent olivo-cochléaire médial mais seul le réflexe stapédien a été observé durant cette expérimentation. En effet, des contrôles des DPOAEs montrent un changement de phase du signal qui est synonyme de changement de propriétés physiques de la transmission du son excluant la voie olivo-cochléaire. L'anesthésie inhibe également le réflexe efférent de la voie olivo-cochléaire (Duron, Monconduit, et Avan 2020). Il convient de noter l'importance de la fréquence utilisée lors de l'expérimentation du réflexe stapédien, les contractions musculaires n'agissant pas sur la conduction des fréquences élevées. D'autres réflexes seront également testés tels que le test de sursaut acoustique.

Une autre possibilité de l'origine du déficit cortical provoquant la crise audiogène serait un défaut d'activation de l'inhibition des cellules du noyau cochléaire telles que les cellules multipolaires par les fibres à haut seuil et dont la conséquence serait le fameux déséquilibre entre l'excitation et l'inhibition corticale.

Les immuno-marquages dans l'organe de Corti du mutant hétérozygote *Otogl*^{+/-} et *Otogl*^{-/-} pour les composants pré et post-synaptiques CtBP2 et GluR2 excluent une connectivité défectueuse entre les IHCs et les fibres afférentes à haut seuil du nerf auditif.

Tous les éléments concordent et confirment une expression d'*Otogl* dans les fibres à haut seuil que ce soit d'un point de vue fonctionnel ou histologique avec Pou4f1, marqueur de ces mêmes fibres. D'autres éléments, telles que l'expression des fibres tdTomato+ tout le long de la tonotopie et la différenciation précoce des SGNs, confirment également qu'il s'agit de fibres à haut seuil.

Pourquoi les fibres à haut seuil sont-elles touchées ? Le rôle d'*otogl* est encore très mal connu. Les données déjà publiées décrivent *otogl* comme une protéine extracellulaire, mais comment relier cette protéine à l'activation des fibres à haut seuil ? L'absence d'un allèle, ou délétion monoallélique, suffit à engendrer des défauts d'activation de ces fibres. On s'attend donc à avoir un phénotype plus sévère des fibres à haut seuil lors d'une délétion bi-allélique mais je n'ai pas pu jusqu'à présent tester cette hypothèse. Une solution pour étudier l'effet de

la délétion biallélique serait de produire un mutant conditionnel, c'est-à-dire un mutant dont le gène a été désactivé uniquement dans une région spécifique. Dans cette perspective, un croisement des souris *Otogl* flox/flox avec une lignée rapportrice qui est la lignée *Bhlhb5-cre* est en cours. *Bhlhb5* est un facteur de transcription et l'expression de *Bhlhb5* est considérée comme spécifiquement localisée dans les SGNs (Brunelli, Innocenzi, et Cossu 2003). Ce croisement permettrait d'inactiver *Otogl* spécifiquement dans les SGNs sans aucune atteinte des autres structures cochléaires et nous permettrait de confirmer nos résultats précédemment obtenus.

6. Perspectives : les crises audiogènes existent elles chez l'homme ?

Les crises audiogènes, déclenchées par le son, appartiennent à la classe des épilepsies réflexes. Ces épilepsies réflexes peuvent être déclenchées par des stimuli sensoriels plus ou moins complexes comme des stimuli gustatifs, olfactifs, thermiques, visuels et auditifs. L'origine des crises est très multiple et leur survenue chez L'Homme est plutôt rare. Il est bien sûr impossible de tester la possibilité de déclencher une crise audiogène chez les humains suite à une exposition sonore. En effet, chez la souris, la période de plasticité cérébrale correspondant à la période la plus sensible aux crises audiogènes se situe aux alentours de P20-P28. Cette période de plasticité cérébrale transposée chez l'humain serait entre 1 et 3 ans, ce qui exclut toute idée d'étude clinique des crises audiogènes déclenchées suite à une exposition chez l'humain pour des raisons éthiques et morales.

Les pathologies chez l'Homme qui s'apparentent le plus près aux crises audiogènes chez sont l'hyperacousie, les acouphènes ou les épilepsies du lobe temporal. L'hyperacousie est une diminution de la tolérance au son, tout son pouvant devenir offensant. Les acouphènes rendent compte d'un dysfonctionnement du cortex auditif qui se réorganise suite à une perte auditive mais en générant une activité anormale qui entraîne une perception de sons fantômes. Ces défauts sont associés à une perte auditive et ont une origine corticale ou sous-corticale, suggérant un mécanisme de compensation suite à cette perte auditive par les voies auditives centrales (Auerbach, Rodrigues, et Salvi 2014). Les épilepsies du lobe temporal sont également très intéressantes puisqu'elles comportent des manifestations auditives mais ne sont pas déclenchées par un son.

En revanche nos résultats montrent que les crises audiogènes sont corrélées avec les fibres à haut seuil chez la souris. Actuellement, ces fibres à haut seuil ont été identifiées dans de nombreux modèles animaux tels que le rat (Barbary 1991), la gerbille (Richard A Schmiedt 1989), le lapin (Borg et al. 1988), le cochon d'inde (Winter, Robertson, et Yates 1990) le chat ou la souris (Taberner et Liberman 2005). Dans le modèle murin, il a été montré que suite à une surexposition sonore (trauma acoustique) suivi d'une phase de récupération, les seuils auditifs sont normaux mais une perte des fibres à haut seuil est observée (Kujawa et Liberman 2009; M. Charles Liberman et Kujawa 2017; Oxenham 2016)(Furman, Kujawa, et Liberman 2013). Il existe également une perte des SGNs à haut seuil suite à un vieillissement (R. A. Schmiedt, Mills, et Boettcher 1996). Ce qui pourrait expliquer la difficulté que ressentent les personnes âgées à comprendre dans un environnement bruyant. Il est donc possible de supposer

l'existence de ces fibres chez l'humain car ces synaptopathies ont été observées dans un grand nombre de modèles animaux. Cependant, ces surdités cachées restent très difficiles à mettre en évidence malgré le protocole de Kujawa (Kujawa et Liberman 2009).

Si on suppose que ces fibres existent bien chez l'Homme, la lignée *Otogl* pourra servir de modèle d'étude reliant les fibres à haut seuil, les surdités et les crises audiogènes. L'étude de personnes porteuses de mutations bi-allélique d'*OTOGL* est possible malgré une atteinte auditive si le sujet est équipé d'aides auditives ou d'un implant cochléaire. Cependant, mes résultats montrent qu'on pourrait réunir une cohorte de personnes hétérozygotes *OTOGL*^{+/-} en recherchant les parents, frères et sœurs des personnes homozygotes *OTOGL*^{-/-}. Un patient homozygote identifié permettrait d'identifier beaucoup plus de patients hétérozygotes dans la famille proche et permettrait de constituer une cohorte assez conséquente malgré la faible prévalence d'*OTOGL* dans la population humaine. Avec ce modèle humain, on pourrait peut-être mettre en lumière pour la première fois les relations entre les atteintes des voies rétro-cochléaires (atteintes pouvant être considérées comme des surdités cachées) et certaines atteintes auditives centrales.

Références

- Adams, J. C., E. A. Mroz, et W. F. Sewell. 1987. « A Possible Neurotransmitter Role for CGRP in a Hair-Cell Sensory Organ ». *Brain Research* 419 (1-2): 347-51. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(87\)90606-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)90606-8).
- Ahmed, Bashir, John C. Anderson, Kevan A. C. Martin, et J. Charmaine Nelson. 1997. « Map of the Synapses onto Layer 4 Basket Cells of the Primary Visual Cortex of the Cat ». *Journal of Comparative Neurology* 380 (2): 230-42. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19970407\)380:2<230:AID-CNE6>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19970407)380:2<230:AID-CNE6>3.0.CO;2-4).
- Ahmed, Z. M., S. Riazuddin, S. L. Bernstein, Z. Ahmed, S. Khan, A. J. Griffith, R. J. Morell, T. B. Friedman, S. Riazuddin, et E. R. Wilcox. 2001. « Mutations of the Protocadherin Gene PCDH15 Cause Usher Syndrome Type 1F ». *American Journal of Human Genetics* 69 (1): 25-34. <https://doi.org/10.1086/321277>.
- Ahmed, Zubair M., Richard Goodyear, Saima Riazuddin, Ayala Lagziel, P. Kevin Legan, Martine Behra, Shawn M. Burgess, et al. 2006. « The Tip-Link Antigen, a Protein Associated with the Transduction Complex of Sensory Hair Cells, Is Protocadherin-15 ». *Journal of Neuroscience* 26 (26): 7022-34. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1163-06.2006>.
- Alagramam, K. N., H. Yuan, M. H. Kuehn, C. L. Murcia, S. Wayne, C. R. Srisailpathy, R. B. Lowry, et al. 2001. « Mutations in the Novel Protocadherin PCDH15 Cause Usher Syndrome Type 1F ». *Human Molecular Genetics* 10 (16): 1709-18.
- Almeida-Suhett, Camila P., Eric M. Prager, Volodymyr Pidoplichko, Taiza H. Figueiredo, Ann M. Marini, Zheng Li, Lee E. Eiden, et Maria F. M. Braga. 2014. « Reduced GABAergic Inhibition in the Basolateral Amygdala and the Development of Anxiety-Like Behaviors after Mild Traumatic Brain Injury ». Édité par Uwe Rudolph. *PLoS ONE* 9 (7): e102627. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102627>.
- Amraoui, A. el-, I. Sahly, S. Picaud, J. Sahel, M. Abitbol, et C. Petit. 1996. « Human Usher 1B/Mouse Shaker-1: The Retinal Phenotype Discrepancy Explained by the Presence/Absence of Myosin VIIA in the Photoreceptor Cells ». *Human Molecular Genetics* 5 (8): 1171-78. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.8.1171>.
- Aroniadou-Anderjaska, V., F. Qashu, et M. F. M. Braga. 2007. « Mechanisms Regulating GABAergic Inhibitory Transmission in the Basolateral Amygdala: Implications for Epilepsy and Anxiety Disorders ». *Amino Acids* 32 (3): 305-15. <https://doi.org/10.1007/s00726-006-0415-x>.
- Ashmore, Jonathan. 2008. « Cochlear Outer Hair Cell Motility ». *Physiological Reviews* 88 (1): 173-210. <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2006>.
- Assad, John A., Gordon M.G. Shepherd, et David P. Corey. 1991. « Tip-Link Integrity and Mechanical Transduction in Vertebrate Hair Cells ». *Neuron* 7 (6): 985-94. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90343-X](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90343-X).
- Auerbach, Benjamin D., Paulo V. Rodrigues, et Richard J. Salvi. 2014. « Central Gain Control in Tinnitus and Hyperacusis ». *Frontiers in Neurology* 5. <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00206>.
- Avan, Paul, Béla Büki, Bert Maat, Monique Dordain, et Hero P Wit. 2000. « Middle Ear Influence on Otoacoustic Emissions. I: Noninvasive Investigation of the Human Transmission Apparatus and Comparison with Model Results ». *Hearing Research* 140 (1): 189-201. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(99\)00201-4](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(99)00201-4).
- Avan, Paul, Sébastien Le Gal, Vincent Michel, Typhaine Dupont, Jean-Pierre Hardelin, Christine Petit, et Elisabeth Verpy. 2019. « Otogelin, Otogelin-like, and Stereocilin Form Links

Connecting Outer Hair Cell Stereocilia to Each Other and the Tectorial Membrane ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116 (51): 25948-57. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902781116>.

Baashar, Ahmaed, Donald Robertson, et Wilhelmina H. A. M. Mulders. 2015. « A Novel Method for Selectively Labelling Olivocochlear Collaterals in the Rat ». *Hearing Research* 325 (juillet): 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2015.02.011>.

Bahloul, Amel, Vincent Michel, Jean-Pierre Hardelin, Sylvie Nouaille, Sylviane Hoos, Anne Houdusse, Patrick England, et Christine Petit. 2010. « Cadherin-23, myosin VIIa and harmonin, encoded by Usher syndrome type I genes, form a ternary complex and interact with membrane phospholipids ». *Human Molecular Genetics* 19 (18): 3557-65. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq271>.

Bahloul, Amel, Elise Pepermans, Bertrand Raynal, Nicolas Wolff, Florence Cordier, Patrick England, Sylvie Nouaille, et al. 2017. « Conformational Switch of Harmonin, a Submembrane Scaffold Protein of the Hair Cell Mechanoelectrical Transduction Machinery ». *FEBS Letters* 591 (15): 2299-2310. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12729>.

Bannister, A. Peter. 2005. « Inter- and Intra-Laminar Connections of Pyramidal Cells in the Neocortex ». *Neuroscience Research* 53 (2): 95-103. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2005.06.019>.

Barbary, Aïda El. 1991. « Auditory Nerve of the Normal and Jaundiced Rat. I. Spontaneous Discharge Rate and Cochlear Nerve Histology ». *Hearing Research* 54 (1): 75-90. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(91\)90138-Y](https://doi.org/10.1016/0378-5955(91)90138-Y).

Bartolini, Giorgia, Gabriele Ciceri, et Oscar Marín. 2013. « Integration of GABAergic Interneurons into Cortical Cell Assemblies: Lessons from Embryos and Adults ». *Neuron* 79 (5): 849-64. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.08.014>.

Baughman, R. W., et C. D. Gilbert. 1981. « Aspartate and Glutamate as Possible Neurotransmitters in the Visual Cortex ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 1 (4): 427-39.

Baulac, Stéphanie, Saeko Ishida, Tomoji Mashimo, Morgane Boillot, Naohiro Fumoto, Mitsuru Kuwamura, Yukihiro Ohno, et al. 2012. « A Rat Model for LGI1-Related Epilepsies ». *Human Molecular Genetics* 21 (16): 3546-57. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds184>.

Behar, T. N., A. E. Schaffner, C. A. Scott, C. L. Greene, et J. L. Barker. 2000. « GABA Receptor Antagonists Modulate Postmitotic Cell Migration in Slice Cultures of Embryonic Rat Cortex ». *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 10 (9): 899-909. <https://doi.org/10.1093/cercor/10.9.899>.

Belyantseva, I. A., E. T. Boger, et T. B. Friedman. 2003. « Myosin XVa Localizes to the Tips of Inner Ear Sensory Cell Stereocilia and Is Essential for Staircase Formation of the Hair Bundle ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (24): 13958-63. <https://doi.org/10.1073/pnas.2334417100>.

Berglund, A. M., et D. K. Ryugo. 1986. « A Monoclonal Antibody Labels Type II Neurons of the Spiral Ganglion ». *Brain Research* 383 (1-2): 327-32. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)90034-x](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)90034-x).

Beurg, Maryline, Michael G. Evans, Carole M. Hackney, et Robert Fettiplace. 2006. « A Large-Conductance Calcium-Selective Mechanotransducer Channel in Mammalian Cochlear Hair Cells ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 26 (43): 10992-0. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2188-06.2006>.

- Beurg, Maryline, Wei Xiong, Bo Zhao, Ulrich Müller, et Robert Fettiplace. 2015. « Subunit Determination of the Conductance of Hair-Cell Mechanotransducer Channels ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (5): 1589-94. <https://doi.org/10.1073/pnas.1420906112>.
- Bobbin, R. P., G. Ceasar, et M. Fallon. 1990. « Potassium Induced Release of GABA and Other Substances from the Guinea Pig Cochlea ». *Hearing Research* 46 (1-2): 83-93. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(90\)90141-b](https://doi.org/10.1016/0378-5955(90)90141-b).
- Bonnet, C., M. Louha, N. Loundon, N. Michalski, E. Verpy, L. Smagghe, J.-P. Hardelin, et al. 2013. « Biallelic Nonsense Mutations in the Otogelin-like Gene (OTOGL) in a Child Affected by Mild to Moderate Hearing Impairment ». *Gene* 527 (2): 537-40. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.06.044>.
- Borg, E., B. Engström, G. Linde, et K. Marklund. 1988. « Eighth Nerve Fiber Firing Features in Normal-Hearing Rabbits ». *Hearing Research* 36 (2-3): 191-201. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(88\)90061-5](https://doi.org/10.1016/0378-5955(88)90061-5).
- Bork, J. M., L. M. Peters, S. Riazuddin, S. L. Bernstein, Z. M. Ahmed, S. L. Ness, R. Polomeno, et al. 2001. « Usher Syndrome 1D and Nonsyndromic Autosomal Recessive Deafness DFNB12 Are Caused by Allelic Mutations of the Novel Cadherin-like Gene CDH23 ». *American Journal of Human Genetics* 68 (1): 26-37. <https://doi.org/10.1086/316954>.
- Brawer, James R., D. Kent Morest, et Eileen Cohen Kane. 1974. « The Neuronal Architecture of the Cochlear Nucleus of the Cat ». *Journal of Comparative Neurology* 155 (3): 251-99. <https://doi.org/10.1002/cne.901550302>.
- Brederode, J. F. M. Van, K. A. Mulligan, et A. E. Hendrickson. 1990. « Calcium-Binding Proteins as Markers for Subpopulations of GABAergic Neurons in Monkey Striate Cortex ». *Journal of Comparative Neurology* 298 (1): 1-22. <https://doi.org/10.1002/cne.902980102>.
- Brown, M. C., M. C. Liberman, T. E. Benson, et D. K. Ryugo. 1988. « Brainstem Branches from Olivocochlear Axons in Cats and Rodents ». *The Journal of Comparative Neurology* 278 (4): 591-603. <https://doi.org/10.1002/cne.902780410>.
- Brownell, W. E., C. R. Bader, D. Bertrand, et Y. de Ribaupierre. 1985. « Evoked Mechanical Responses of Isolated Cochlear Outer Hair Cells ». *Science* 227 (4683): 194-96. <https://doi.org/10.1126/science.3966153>.
- Browner, Robert H., et Alice Baruch. 1982. « The Cytoarchitecture of the Dorsal Cochlear Nucleus in the 3-Month- and 26-Month-Old C57BL/6 Mouse: A Golgi Impregnation Study ». *Journal of Comparative Neurology* 211 (2): 115-38. <https://doi.org/10.1002/cne.902110203>.
- Browning, R. A. 1986. « VII. Neuroanatomical Localization of Structures Responsible for Seizures in the GEPR: Lesion Studies ». *Life Sciences* 39 (10): 857-67. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(86\)90367-X](https://doi.org/10.1016/0024-3205(86)90367-X).
- Brumberg, Joshua C., Farid Hamzei-Sichani, et Rafael Yuste. 2003. « Morphological and Physiological Characterization of Layer VI Corticofugal Neurons of Mouse Primary Visual Cortex ». *Journal of Neurophysiology* 89 (5): 2854-67. <https://doi.org/10.1152/jn.01051.2002>.
- Brunelli, Silvia, Anna Innocenzi, et Giulio Cossu. 2003. « Bhlhb5 Is Expressed in the CNS and Sensory Organs during Mouse Embryonic Development ». *Gene Expression Patterns: GEP* 3 (6): 755-59.
- Buckmaster, Paul S., et F. Edward Dudek. 1997. « Neuron Loss, Granule Cell Axon Reorganization, and Functional Changes in the Dentate Gyrus of Epileptic Kainate-Treated

- Rats ». *Journal of Comparative Neurology* 385 (3): 385-404. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19970901\)385:3<385::AID-CNE4>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19970901)385:3<385::AID-CNE4>3.0.CO;2-#).
- Bzdok, Danilo, Angela R. Laird, Karl Zilles, Peter T. Fox, et Simon B. Eickhoff. 2013. « An Investigation of the Structural, Connectional, and Functional Subspecialization in the Human Amygdala ». *Human Brain Mapping* 34 (12): 3247-66. <https://doi.org/10.1002/hbm.22138>.
- Caberlotto, Elisa, Vincent Michel, Isabelle Foucher, Amel Bahloul, Richard J. Goodyear, Elise Pepermans, Nicolas Michalski, et al. 2011. « Usher Type 1G Protein sans Is a Critical Component of the Tip-Link Complex, a Structure Controlling Actin Polymerization in Stereocilia ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 (14): 5825-30. <https://doi.org/10.1073/pnas.1017114108>.
- Calford, M. B., et L. M. Aitkin. 1983. « Ascending Projections to the Medial Geniculate Body of the Cat: Evidence for Multiple, Parallel Auditory Pathways through Thalamus ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 3 (11): 2365-80.
- Calvin, S.Hall. 1947. « Genetic Differences in Fatal Audiogenic Seizures: Between Two Inbred Strains of House Mice ». *Journal of Heredity* 38 (1): 3-6. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a105647>.
- Campbell, D. A., D. P. McHale, K. A. Brown, L. M. Moynihan, M. Houseman, G. Karbani, G. Parry, et al. 1997. « A New Locus for Non-Syndromal, Autosomal Recessive, Sensorineural Hearing Loss (DFNB16) Maps to Human Chromosome 15q21-Q22. ». *Journal of Medical Genetics* 34 (12): 1015-17. <https://doi.org/10.1136/jmg.34.12.1015>.
- Carter, Dawn S., Anne J. Harrison, Katherine W. Falenski, Robert E. Blair, et Robert J. DeLorenzo. 2008. « Long-Term Decrease in Calbindin-D28K Expression in the Hippocampus of Epileptic Rats Following Pilocarpine-Induced Status Epilepticus ». *Epilepsy Research* 79 (2): 213-23. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2008.02.006>.
- Caviness, V. S. 1975. « Architectonic Map of Neocortex of the Normal Mouse ». *The Journal of Comparative Neurology* 164 (2): 247-63. <https://doi.org/10.1002/cne.901640207>.
- Cetas, Justin S., Robin O. Price, Jennifer Crowe, David S. Velenovsky, et Nathaniel T. McMullen. 2003. « Dendritic Orientation and Laminar Architecture in the Rabbit Auditory Thalamus ». *The Journal of Comparative Neurology* 458 (3): 307-17. <https://doi.org/10.1002/cne.10595>.
- Chan, Dylan K., et A. J. Hudspeth. 2005. « Ca²⁺ Current-Driven Nonlinear Amplification by the Mammalian Cochlea in Vitro ». *Nature Neuroscience* 8 (2): 149-55. <https://doi.org/10.1038/nn1385>.
- Chang, Yu-Ming, et Jennifer I. Luebke. 2007. « Electrophysiological Diversity of Layer 5 Pyramidal Cells in the Prefrontal Cortex of the Rhesus Monkey: In Vitro Slice Studies ». *Journal of Neurophysiology* 98 (5): 2622-32. <https://doi.org/10.1152/jn.00585.2007>.
- Charizopoulou, Nikoletta, Andrea Lelli, Margit Schraders, Kausik Ray, Michael S. Hildebrand, Arabandi Ramesh, C. R. Srikumari Srisailapathy, et al. 2011. « Gipc3 Mutations Associated with Audiogenic Seizures and Sensorineural Hearing Loss in Mouse and Human ». *Nature Communications* 2 (février): 201. <https://doi.org/10.1038/ncomms1200>.
- Chen, Chia-Chien, Svetlana Abrams, Alex Pinhas, et Joshua C. Brumberg. 2009. « Morphological Heterogeneity of Layer VI Neurons in Mouse Barrel Cortex ». *The Journal of Comparative Neurology* 512 (6): 726-46. <https://doi.org/10.1002/cne.21926>.
- Coghlan, Suzanne, Jamie Horder, Becky Inkster, M. Andreina Mendez, Declan G. Murphy, et

- David J. Nutt. 2012. « GABA System Dysfunction in Autism and Related Disorders: From Synapse to Symptoms ». *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 36 (9): 2044-55. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.07.005>.
- Cohen-Salmon, M., A. El-Amraoui, M. Leibovici, et C. Petit. 1997. « Otogelin: A Glycoprotein Specific to the Acellular Membranes of the Inner Ear ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94 (26): 14450-55. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.26.14450>.
- Coleman, James R., Karen C. Thompson, Marlene A. Wilson, et Steven P. Wilson. 2017. « Audiogenic Seizure Activity Following HSV-1 GAD65 Sense or Antisense Injection into Inferior Colliculus of Long–Evans Rat ». *Epilepsy & Behavior* 71 (juin): 238-42. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.08.024>.
- Collet, L. 1994. « Les oto-émissions acoustiques chez l'humain ». *Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique* 102 (4): A45-53. <https://doi.org/10.3109/13813459109045392>.
- Connor, J. R., et A. Peters. 1984. « Vasoactive Intestinal Polypeptide-Immunoreactive Neurons in Rat Visual Cortex ». *Neuroscience* 12 (4): 1027-44. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(84\)90002-2](https://doi.org/10.1016/0306-4522(84)90002-2).
- Connors, B. W., et M. J. Gutnick. 1990. « Intrinsic Firing Patterns of Diverse Neocortical Neurons ». *Trends in Neurosciences* 13 (3): 99-104. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90185-d](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90185-d).
- Contractor, Anis, Vitaly A. Klyachko, et Carlos Portera-Cailliau. 2015. « Altered Neuronal and Circuit Excitability in Fragile X Syndrome ». *Neuron* 87 (4): 699-715. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.06.017>.
- Contreras, Diego. 2004. « Electrophysiological Classes of Neocortical Neurons ». *Neural Networks, Vision and Brain*, 17 (5): 633-46. <https://doi.org/10.1016/j.neunet.2004.04.003>.
- Corey, D. P., et A. J. Hudspeth. 1979. « Ionic Basis of the Receptor Potential in a Vertebrate Hair Cell ». *Nature* 281 (5733): 675-77.
- Curia, Giulia, Thomas Papouin, Philippe Séguéla, et Massimo Avoli. 2009. « Downregulation of Tonic GABAergic Inhibition in a Mouse Model of Fragile X Syndrome ». *Cerebral Cortex* 19 (7): 1515-20. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn159>.
- Dabdoub, Alain, Bernd Fritsch, Arthur N. Popper, et Richard R. Fay, éd. 2016. *The Primary Auditory Neurons of the Mammalian Cochlea*. Vol. 52. Springer Handbook of Auditory Research. New York, NY: Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3031-9>.
- Dallos, P., D. Z. He, X. Lin, I. Sziklai, S. Mehta, et B. N. Evans. 1997. « Acetylcholine, Outer Hair Cell Electromotility, and the Cochlear Amplifier ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 17 (6): 2212-26.
- Dallos, Peter, et Bernd Fakler. 2002. « Prestin, a New Type of Motor Protein ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 3 (2): 104-11. <https://doi.org/10.1038/nrm730>.
- DeFelipe, J. 1997. « Types of Neurons, Synaptic Connections and Chemical Characteristics of Cells Immunoreactive for Calbindin-D28K, Parvalbumin and Calretinin in the Neocortex ». *Journal of Chemical Neuroanatomy* 14 (1): 1-19. [https://doi.org/10.1016/s0891-0618\(97\)10013-8](https://doi.org/10.1016/s0891-0618(97)10013-8).
- DeFelipe, Javier. 2002. « Cortical Interneurons: From Cajal to 2001 ». *Progress in Brain Research* 136: 215-38. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(02\)36019-9](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(02)36019-9).

- DeFelipe, Javier, et Isabel Fariñas. 1992. « The Pyramidal Neuron of the Cerebral Cortex: Morphological and Chemical Characteristics of the Synaptic Inputs ». *Progress in Neurobiology* 39 (6): 563-607. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(92\)90015-7](https://doi.org/10.1016/0301-0082(92)90015-7).
- DeFelipe, Javier, Pedro L. López-Cruz, Ruth Benavides-Piccione, Concha Bielza, Pedro Larrañaga, Stewart Anderson, Andreas Burkhalter, et al. 2013. « New Insights into the Classification and Nomenclature of Cortical GABAergic Interneurons ». *Nature Reviews. Neuroscience* 14 (3): 202-16. <https://doi.org/10.1038/nrn3444>.
- Delprat, Benjamin, Vincent Michel, Richard Goodyear, Yasuhiro Yamasaki, Nicolas Michalski, Aziz El-Amraoui, Isabelle Perfettini, et al. 2005. « Myosin XVa and Whirlin, Two Deafness Gene Products Required for Hair Bundle Growth, Are Located at the Stereocilia Tips and Interact Directly ». *Human Molecular Genetics* 14 (3): 401-10. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi036>.
- Denk, W., J. R. Holt, G. M. Shepherd, et D. P. Corey. 1995. « Calcium Imaging of Single Stereocilia in Hair Cells: Localization of Transduction Channels at Both Ends of Tip Links ». *Neuron* 15 (6): 1311-21. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90010-1](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90010-1).
- Di Cristo, G. 2007. « Development of Cortical GABAergic Circuits and Its Implications for Neurodevelopmental Disorders ». *Clinical Genetics* 72 (1): 1-8. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00822.x>.
- Dice, Lee R. 1935. « Inheritance of Waltzing and of Epilepsy in Mice of the Genus *Peromyscus* ». *Journal of Mammalogy* 16 (1): 25-35. <https://doi.org/10.2307/1374527>.
- Donaldson, H.H. 1924. *Memoirs of the Wistar Institute of Anatomy and Biology*. Philadelphia.
- Dornn, Anja L., Kexin Yuan, Alison J. Barker, Christoph E. Schreiner, et Robert C. Froemke. 2010. « Developmental sensory experience balances cortical excitation and inhibition ». *Nature* 465 (7300): 932-36. <https://doi.org/10.1038/nature09119>.
- Doucet, J. R., et D. K. Ryugo. 1997. « Projections from the Ventral Cochlear Nucleus to the Dorsal Cochlear Nucleus in Rats ». *The Journal of Comparative Neurology* 385 (2): 245-64.
- Duron, Julie, Lénaïc Monconduit, et Paul Avan. 2020. « Auditory Brainstem Changes in Timing May Underlie Hyperacusis in a Salicylate-Induced Acute Rat Model ». *Neuroscience* 426 (février): 129-40. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.11.038>.
- Ebermann, I., M. H. J. Wiesen, E. Zrenner, I. Lopez, R. Pigeon, S. Kohl, H. Löwenheim, R. K. Koenekoop, et H. J. Bolz. 2009. « GPR98 Mutations Cause Usher Syndrome Type 2 in Males ». *Journal of Medical Genetics* 46 (4): 277-80. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.059626>.
- Echteler, S. M. 1992. « Developmental Segregation in the Afferent Projections to Mammalian Auditory Hair Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89 (14): 6324-27. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.14.6324>.
- Ehret, G. 1997. « The auditory cortex ». *J Comp Physiol [A]* 181 (6): 547-57.
- El Hachem, Nabil. 2012. « La trompe d'Eustache : physiologie, physiopathologie et rôle dans la genèse de l'otite moyenne ». *Kinésithérapie, la Revue* 12 (132): 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.kine.2012.09.006>.
- El-Amraoui, Aziz, Martine Cohen-Salmon, Christine Petit, et Marie-Christine Simmler. 2001. « Spatiotemporal Expression of Otogelin in the Developing and Adult Mouse Inner Ear ». *Hearing Research* 158 (1): 151-59. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(01\)00312-4](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(01)00312-4).
- El-Amraoui, Aziz, Gaëlle Lefèvre, Jean-Pierre Hardelin, et Christine Petit. 2005. « Syndrome

- de Usher de type 1 et développement de la touffe ciliaire des cellules sensorielles de l'oreille interne ». *médecine/sciences* 21 (8-9): 737-40. <https://doi.org/10.1051/medsci/2005218-9737>.
- Emptoz, Alice, Vincent Michel, Andrea Lelli, Omar Akil, Jacques Boutet de Monvel, Ghizlene Lahlou, Anaïs Meyer, et al. 2017. « Local Gene Therapy Durably Restores Vestibular Function in a Mouse Model of Usher Syndrome Type 1G ». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, août, 201708894. <https://doi.org/10.1073/pnas.1708894114>.
- Engel, Jerome. 2001. « A Proposed Diagnostic Scheme for People with Epileptic Seizures and with Epilepsy: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology ». *Epilepsia* 42 (6): 796-803. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2001.10401.x>.
- Faingold, C. L. 1999. « Neuronal Networks in the Genetically Epilepsy-Prone Rat ». *Advances in Neurology* 79: 311-21.
- Faingold, C. L., M. H. Millan, C. A. Boersma, et B. S. Meldrum. 1988. « Excitant Amino Acids and Audiogenic Seizures in the Genetically Epilepsy-Prone Rat. I. Afferent Seizure Initiation Pathway ». *Experimental Neurology* 99 (3): 678-86. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(88\)90184-7](https://doi.org/10.1016/0014-4886(88)90184-7).
- Faingold, Carl L. 2002. « Role of GABA abnormalities in the inferior colliculus pathophysiology – audiogenic seizures ». *Hearing Research*, A collection of papers presented at the Symposium on The Inferior Colliculus: From Past To Future, 168 (1): 223-37. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(02\)00373-8](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(02)00373-8).
- Fettiplace, Robert. 2016. « Is TMC1 the Hair Cell Mechanotransducer Channel? » *Biophysical Journal* 111 (1): 3-9. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.05.032>.
- Fettiplace, Robert. 2017. « Hair Cell Transduction, Tuning, and Synaptic Transmission in the Mammalian Cochlea ». In *Comprehensive Physiology*, 1197-1227. American Cancer Society. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160049>.
- Fex, J., et R.A. Altschuler. 1986. « Neurotransmitter-Related Immunocytochemistry of the Organ of Corti ». *Hearing Research* 22 (1-3): 249-63. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(86\)90102-4](https://doi.org/10.1016/0378-5955(86)90102-4).
- Fingers, F.W. 1947. « Convulsive Behavior in the Rat. » *Psychological Bulletin* 44(3): 201-48.
- Freund, T. F., et G. Buzsáki. 1996. « Interneurons of the Hippocampus ». *Hippocampus* 6 (4): 347-470. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1996\)6:4<347::AID-HIPO1>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:4<347::AID-HIPO1>3.0.CO;2-I).
- Frings, Hubert, et Mable Frings. 1952. « Acoustical Determinants of Audiogenic Seizures in Laboratory Mice ». *The Journal of the Acoustical Society of America* 24 (2): 163-69. <https://doi.org/10.1121/1.1906873>.
- Frings, Hubert, Mable Frings, Johan L. Fuller, Benson E. Ginsburg, Sherman Ross, et E. M. Vicari. 1952. « Standardization of Nomenclature Describing Audiogenic Seizures in Mice ». *Behaviour* 4 (2): 157-60.
- Frings, Hubert, Mable Frings, et Alan Kivert. 1951. « Behavior Patterns of the Laboratory Mouse under Auditory Stress ». *Journal of Mammalogy* 32 (1): 60-76. <https://doi.org/10.2307/1375413>.
- Furman, Adam C., Sharon G. Kujawa, et M. Charles Liberman. 2013. « Noise-Induced Cochlear Neuropathy Is Selective for Fibers with Low Spontaneous Rates ». *Journal of Neurophysiology* 110 (3): 577-86. <https://doi.org/10.1152/jn.00164.2013>.
- Furness, David N., et Carole M. Hackney. 2006. « The Structure and Composition of the

- Stereociliary Bundle of Vertebrate Hair Cells ». In *Vertebrate Hair Cells*, édité par Ruth Anne Eatock, Richard R. Fay, et Arthur N. Popper, 95-153. Springer Handbook of Auditory Research. New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/0-387-31706-6_3.
- Gale, Karen. 1989. « GABA in Epilepsy: The Pharmacologic Basis ». *Epilepsia* 30 (s3): S1-11. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1989.tb05825.x>.
- Gibson, F., J. Walsh, P. Mburu, A. Varela, K. A. Brown, M. Antonio, K. W. Beisel, K. P. Steel, et S. D. Brown. 1995. « A Type VII Myosin Encoded by the Mouse Deafness Gene Shaker-1 ». *Nature* 374 (6517): 62-64. <https://doi.org/10.1038/374062a0>.
- Gibson, Jay R., Aundrea F. Bartley, Seth A. Hays, et Kimberly M. Huber. 2008. « Imbalance of Neocortical Excitation and Inhibition and Altered UP States Reflect Network Hyperexcitability in the Mouse Model of Fragile X Syndrome ». *Journal of Neurophysiology* 100 (5): 2615-26. <https://doi.org/10.1152/jn.90752.2008>.
- Giraudet, Fabrice, Ludimila Labanca, Marion Souchal, et Paul Avan. 2021. « Decreased Reemerging Auditory Brainstem Responses Under Ipsilateral Broadband Masking as a Marker of Noise-Induced Cochlear Synaptopathy ». *Ear and Hearing*, février. <https://doi.org/10.1097/AUD.0000000000001009>.
- Glowatzki, Elisabeth, et Paul A. Fuchs. 2002. « Transmitter Release at the Hair Cell Ribbon Synapse ». *Nature Neuroscience* 5 (2): 147-54. <https://doi.org/10.1038/nn796>.
- Gonchar, Y., et A. Burkhalter. 1997. « Three Distinct Families of GABAergic Neurons in Rat Visual Cortex. » *Cerebral Cortex* 7 (4): 347-58. <https://doi.org/10.1093/cercor/7.4.347>.
- Gonzalez, Darya, Madison Tomasek, Seth Hays, Vinay Sridhar, Simon Ammanuel, Chia-wei Chang, Karen Pawlowski, Kimberly M. Huber, et Jay R. Gibson. 2019. « Audiogenic Seizures in the Fmr1 Knock-Out Mouse Are Induced by Fmr1 Deletion in Subcortical, VGlut2-Expressing Excitatory Neurons and Require Deletion in the Inferior Colliculus ». *The Journal of Neuroscience* 39 (49): 9852-63. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0886-19.2019>.
- Goodyear, R. J., P. K. Legan, M. B. Wright, W. Marcotti, A. Oganessian, S. A. Coats, C. J. Booth, et al. 2003. « A Receptor-like Inositol Lipid Phosphatase Is Required for the Maturation of Developing Cochlear Hair Bundles ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23 (27): 9208-19.
- Goodyear, R., et G. Richardson. 1992. « Distribution of the 275 KD Hair Cell Antigen and Cell Surface Specialisations on Auditory and Vestibular Hair Bundles in the Chicken Inner Ear ». *Journal of Comparative Neurology* 325 (2): 243-56. <https://doi.org/10.1002/cne.903250208>.
- Goodyear, Richard J., Andy Forge, P. Kevin Legan, et Guy P. Richardson. 2010. « Asymmetric Distribution of Cadherin 23 and Protocadherin 15 in the Kinocilial Links of Avian Sensory Hair Cells ». *The Journal of Comparative Neurology* 518 (21): 4288-97. <https://doi.org/10.1002/cne.22456>.
- Goodyear, Richard J., Walter Marcotti, Corné J. Kros, et Guy P. Richardson. 2005. « Development and Properties of Stereociliary Link Types in Hair Cells of the Mouse Cochlea ». *The Journal of Comparative Neurology* 485 (1): 75-85. <https://doi.org/10.1002/cne.20513>.
- Gorter, J. A., E. A. Van Vliet, E. Aronica, et F. H. Lopes Da Silva. 2001. « Progression of Spontaneous Seizures after Status Epilepticus Is Associated with Mossy Fibre Sprouting and Extensive Bilateral Loss of Hilar Parvalbumin and Somatostatin-Immunoreactive Neurons ». *European Journal of Neuroscience* 13 (4): 657-69. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2001.01428.x>.

- Greengard, Paul. 2001. « The Neurobiology of Slow Synaptic Transmission ». *Science* 294 (5544): 1024-30. <https://doi.org/10.1126/science.294.5544.1024>.
- Grothe, Benedikt, Michael Pecka, et David McAlpine. 2010. « Mechanisms of Sound Localization in Mammals ». *Physiological Reviews* 90 (3): 983-1012. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2009>.
- Guinan, John J. 2012. « How Are Inner Hair Cells Stimulated? Evidence for Multiple Mechanical Drives ». *Hearing Research* 292 (1-2): 35-50. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2012.08.005>.
- Hackett, Troy A., Tania Rinaldi Barkat, Barbara MJ. O'Brien, Takao K. Hensch, et Daniel B. Polley. 2011. « Linking topography to tonotopy in the mouse auditory thalamocortical circuit ». *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 31 (8): 2983-95. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5333-10.2011>.
- Hackney, Carole M., et David N. Furness. 2013. « The Composition and Role of Cross Links in Mechanoelectrical Transduction in Vertebrate Sensory Hair Cells ». *Journal of Cell Science* 126 (8): 1721-31. <https://doi.org/10.1242/jcs.106120>.
- Hafidi, A., G. Després, et R. Romand. 1993. « Ontogenesis of Type II Spiral Ganglion Neurons during Development: Peripherin Immunohistochemistry ». *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience* 11 (4): 507-12. [https://doi.org/10.1016/0736-5748\(93\)90024-8](https://doi.org/10.1016/0736-5748(93)90024-8).
- Hall, Scott S., Elizabeth Walter, Elena Sherman, Fumiko Hoefl, et Allan L. Reiss. 2009. « The Neural Basis of Auditory Temporal Discrimination in Girls with Fragile X Syndrome ». *Journal of Neurodevelopmental Disorders* 1 (1): 91-99. <https://doi.org/10.1007/s11689-009-9007-x>.
- Harrison, J. M., et R. Irving. 1966. « Ascending Connections of the Anterior Ventral Cochlear Nucleus in the Rat ». *Journal of Comparative Neurology* 126 (1): 51-63. <https://doi.org/10.1002/cne.901260105>.
- Hashikawa, T., E. Rausell, M. Molinari, et E. G. Jones. 1991. « Parvalbumin- and calbindin-containing neurons in the monkey medial geniculate complex: differential distribution and cortical layer specific projections ». *Brain Research* 544 (2): 335-41. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)90076-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)90076-8).
- Henry, Kenneth R. 1967. « Audiogenic Seizure Susceptibility Induced in C57B1/6J Mice by Prior Auditory Exposure ». *Science* 158 (3803): 938-40. <https://doi.org/10.1126/science.158.3803.938-a>.
- Higley, Michael J. 2014a. « Localized GABAergic Inhibition of Dendritic Ca(2+) Signalling ». *Nature Reviews. Neuroscience* 15 (9): 567-72. <https://doi.org/10.1038/nrn3803>.
- Hilgert, N., K. Kahrizi, N. Dieltjens, N. Bazazzadegan, H. Najmabadi, R. J. H. Smith, et G. Van Camp. 2009. « A Large Deletion in GPR98 Causes Type IIC Usher Syndrome in Male and Female Members of an Iranian Family ». *Journal of Medical Genetics* 46 (4): 272-76. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.060947>.
- Hillman, Dean E. 1969. « New Ultrastructural Findings Regarding a Vestibular Ciliary Apparatus and Its Possible Functional Significance ». *Brain Research* 13 (2): 407-12. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(69\)90301-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(69)90301-1).
- Hladnik, Ana, Domagoj Džaja, Sanja Darmopil, Nataša Jovanov-Milošević, et Zdravko Petanjek. 2014. « Spatio-Temporal Extension in Site of Origin for Cortical Calretinin Neurons

- in Primates ». *Frontiers in Neuroanatomy* 8. <https://doi.org/10.3389/fnana.2014.00050>.
- Holt, Jeffrey R., Susan K. H. Gillespie, D. William Provance, Kavita Shah, Kevan M. Shokat, David P. Corey, John A. Mercer, et Peter G. Gillespie. 2002. « A Chemical-Genetic Strategy Implicates Myosin-1c in Adaptation by Hair Cells ». *Cell* 108 (3): 371-81. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00629-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00629-3).
- Honma, Yuusuke, Hiroaki Tsukano, Masao Horie, Shinsuke Ohshima, Manavu Tohmi, Yamato Kubota, Kuniyuki Takahashi, Ryuichi Hishida, Sugata Takahashi, et Katsuei Shibuki. 2013. « Auditory Cortical Areas Activated by Slow Frequency-Modulated Sounds in Mice ». *PLoS One* 8 (7): e68113. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068113>.
- Huang, Lin-Chien, Peter R. Thorne, Gary D. Housley, et Johanna M. Montgomery. 2007. « Spatiotemporal definition of neurite outgrowth, refinement and retraction in the developing mouse cochlea ». *Development* 134 (16): 2925-33. <https://doi.org/10.1242/dev.001925>.
- Hudspeth, A. J. 1989. « How the Ear's Works Work ». *Nature* 341 (6241): 397-404. <https://doi.org/10.1038/341397a0>.
- Hudspeth, A J, et D P Corey. 1977. « Sensitivity, polarity, and conductance change in the response of vertebrate hair cells to controlled mechanical stimuli. » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74 (6): 2407-11.
- Hudspeth, A J, et R Jacobs. 1979. « Stereocilia mediate transduction in vertebrate hair cells (auditory system/cilium/vestibular system). » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76 (3): 1506-9.
- Irvine, D. R. F. 1986. *The Auditory Brainstem: A Review of the Structure and Function of Auditory Brainstem Processing Mechanisms*. Progress in Sensory Physiology. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-71057-5>.
- Irvine, Dexter R. F. 1992. « Physiology of the Auditory Brainstem ». In *The Mammalian Auditory Pathway: Neurophysiology*, édité par Arthur N. Popper et Richard R. Fay, 153-231. Springer Handbook of Auditory Research. New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2838-7_4.
- Isaacson, Jeffrey S., et Massimo Scanziani. 2011. « How Inhibition Shapes Cortical Activity ». *Neuron* 72 (2): 231-43. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.027>.
- Ivar Walaas, S., Dana W. Aswad, et Paul Greengard. 1983. « A Dopamine- and Cyclic AMP-Regulated Phosphoprotein Enriched in Dopamine-Innervated Brain Regions ». *Nature* 301 (5895): 69-71. <https://doi.org/10.1038/301069a0>.
- Jacobs, R. A., et A. J. Hudspeth. 1990. « Ultrastructural Correlates of Mechano-electrical Transduction in Hair Cells of the Bullfrog's Internal Ear ». *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 55: 547-61. <https://doi.org/10.1101/sqb.1990.055.01.053>.
- Jia, Yanyan, Yimeng Zhao, Tsukasa Kusakizako, Yao Wang, Chengfang Pan, Yuwei Zhang, Osamu Nureki, Motoyuki Hattori, et Zhiqiang Yan. 2020. « TMC1 and TMC2 Proteins Are Pore-Forming Subunits of Mechanosensitive Ion Channels ». *Neuron* 105 (2): 310-321.e3. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.10.017>.
- Jobe, P. C., A. L. Picchioni, et L. Chin. 1973. « Role of Brain Norepinephrine in Audiogenic Seizure in the Rat ». *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 184 (1): 1-10.
- Jobe, Phillip C., R. Don Brown, et John W. Dailey. 1981. « Effect of Ro 4-1284 on Audiogenic Seizure Susceptibility and Intensity in Epilepsy-Prone Rats ». *Life Sciences* 28 (18): 2031-38.

[https://doi.org/10.1016/0024-3205\(81\)90651-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(81)90651-2).

Jones, Edward G. 2003. « Chemically Defined Parallel Pathways in the Monkey Auditory System ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 999 (1): 218-33. <https://doi.org/10.1196/annals.1284.033>.

Kaas, J. H., et T. A. Hackett. 1998. « Subdivisions of Auditory Cortex and Levels of Processing in Primates ». *Audiology & Neuro-Otology* 3 (2-3): 73-85. <https://doi.org/10.1159/000013783>.

Kachar, B., W. E. Brownell, R. Altschuler, et J. Fex. 1986. « Electrokinetic Shape Changes of Cochlear Outer Hair Cells ». *Nature* 322 (6077): 365-68. <https://doi.org/10.1038/322365a0>.

Kalachikov, Sergey, Oleg Evgrafov, Barbara Ross, Melodie Winawer, Christie Barker-Cummings, Filippo Martinelli Boneschi, Chang Choi, et al. 2002. « Mutations in LGI1 Cause Autosomal-Dominant Partial Epilepsy with Auditory Features ». *Nature Genetics* 30 (3): 335-41. <https://doi.org/10.1038/ng832>.

Kalanithi, Paul S. A., Wei Zheng, Yuko Kataoka, Marian DiFiglia, Heidi Grantz, Clifford B. Saper, Michael L. Schwartz, James F. Leckman, et Flora M. Vaccarino. 2005. « Altered Parvalbumin-Positive Neuron Distribution in Basal Ganglia of Individuals with Tourette Syndrome ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (37): 13307-12. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502624102>.

Kandler, Karl, Amanda Clause, et Jihyun Noh. 2009. « Tonotopic Reorganization of Developing Auditory Brainstem Circuits ». *Nature Neuroscience* 12 (6): 711-17. <https://doi.org/10.1038/nn.2332>.

Kane, Eileen Cohen. 1974. « Synaptic Organization in the Dorsal Cochlear Nucleus of the Cat: A Light and Electron Microscopic Study ». *Journal of Comparative Neurology* 155 (3): 301-29. <https://doi.org/10.1002/cne.901550303>.

Kawaguchi, Y., et Y. Kubota. 1997. « GABAergic Cell Subtypes and Their Synaptic Connections in Rat Frontal Cortex ». *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 7 (6): 476-86. <https://doi.org/10.1093/cercor/7.6.476>.

Kawashima, Yoshiyuki, Gwenaëlle S. G. Géléoc, Kiyoto Kurima, Valentina Labay, Andrea Lelli, Yukako Asai, Tomoko Makishima, et al. 2011. « Mechanotransduction in Mouse Inner Ear Hair Cells Requires Transmembrane Channel-like Genes ». *The Journal of Clinical Investigation* 121 (12): 4796-4809. <https://doi.org/10.1172/JCI60405>.

Kazmierczak, Piotr, Hirofumi Sakaguchi, Joshua Tokita, Elizabeth M. Wilson-Kubalek, Ronald A. Milligan, Ulrich Müller, et Bechara Kachar. 2007. « Cadherin 23 and Protocadherin 15 Interact to Form Tip-Link Filaments in Sensory Hair Cells ». *Nature* 449 (7158): 87-91. <https://doi.org/10.1038/nature06091>.

Keating, Peter, et Andrew J King. 2015. « Sound localization in a changing world ». *Current Opinion in Neurobiology*, Circuit plasticity and memory, 35 (décembre): 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.06.005>.

Kemperman, Martijn H, Lies H Hoefsloot, et Cor W R J Cremers. 2002. « Hearing loss and connexin 26 ». *Journal of the Royal Society of Medicine* 95 (4): 171-77.

Kennedy, H. J., A. C. Crawford, et R. Fettiplace. 2005. « Force Generation by Mammalian Hair Bundles Supports a Role in Cochlear Amplification ». *Nature* 433 (7028): 880-83. <https://doi.org/10.1038/nature03367>.

Kennedy, Helen J., Michael G. Evans, Andrew C. Crawford, et Robert Fettiplace. 2003. « Fast Adaptation of Mechano-electrical Transducer Channels in Mammalian Cochlear Hair Cells ».

Nature Neuroscience 6 (8): 832-36. <https://doi.org/10.1038/nn1089>.

Kepecs, Adam, et Gordon Fishell. 2014. « Interneuron Cell Types Are Fit to Function ». *Nature* 505 (7483): 318-26. <https://doi.org/10.1038/nature12983>.

Khouri, Leila, et Israel Nelken. 2015. « Detecting the unexpected ». *Current Opinion in Neurobiology*, Circuit plasticity and memory, 35 (décembre): 142-47. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.08.003>.

Kiang, N., M. Liberman, J. Gage, C. Northrop, L. Dodds, et M. Oliver. 1984. « Afferent innervation of the mammalian cochlea ». *Comparative Physiology of Sensory Systems*, 143-61.

Kiang, N. Y., J. M. Rho, C. C. Northrop, M. C. Liberman, et D. K. Ryugo. 1982. « Hair-Cell Innervation by Spiral Ganglion Cells in Adult Cats ». *Science (New York, N.Y.)* 217 (4555): 175-77.

Kiang, Nelson Yuan-Sheng. 1965. « Discharge patterns of single fibers in the cat's auditory nerve. » str-13. Massachusetts inst of tech cambridge research lab of electronics. <Http://www.dtic.mil/docs/citations/AD0633419>.

Kimura, A., T. Donishi, K. Okamoto, et Y. Tamai. 2004. « Efferent Connections of "Posterodorsal" Auditory Area in the Rat Cortex: Implications for Auditory Spatial Processing ». *Neuroscience* 128 (2): 399-419. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.07.010>.

Kinnischtzke, Amanda K., Erika E. Fanselow, et Daniel J. Simons. 2016. « Target-Specific M1 Inputs to Infragranular S1 Pyramidal Neurons ». *Journal of Neurophysiology* 116 (3): 1261-74. <https://doi.org/10.1152/jn.01032.2015>.

Koepp, Matthias J, Lorenzo Caciagli, Ronit M Pressler, Klaus Lehnertz, et Sándor Beniczky. 2016. « Reflex Seizures, Traits, and Epilepsies: From Physiology to Pathology ». *The Lancet Neurology* 15 (1): 92-105. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00219-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00219-7).

Koerber, K. C., R. R. Pfeiffer, W. B. Warr, et N. Y. Kiang. 1966. « Spontaneous Spike Discharges from Single Units in the Cochlear Nucleus after Destruction of the Cochlea ». *Experimental Neurology* 16 (2): 119-30. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(66\)90091-4](https://doi.org/10.1016/0014-4886(66)90091-4).

Koundakjian, Edmund J., Jessica L. Appler, et Lisa V. Goodrich. 2007. « Auditory Neurons Make Stereotyped Wiring Decisions before Maturation of Their Targets ». *Journal of Neuroscience* 27 (51): 14078-88. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3765-07.2007>.

Kozlov, Andrei S., Thomas Risler, et A. J. Hudspeth. 2007. « Coherent Motion of Stereocilia Assures the Concerted Gating of Hair-Cell Transduction Channels ». *Nature Neuroscience* 10 (1): 87-92. <https://doi.org/10.1038/nn1818>.

Kral, Andrej, et Sarah L. Pallas. 2011. « Development of the Auditory Cortex ». In *The Auditory Cortex*, édité par Jeffery A. Winer et Christoph E. Schreiner, 443-63. Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0074-6_21.

Kros, C. J., A. Rusch, et Guy Peel Richardson. 1992. « Mechano-electrical transducer currents in hair cells of the cultured neonatal mouse cochlea ». *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 249 (1325): 185-93. <https://doi.org/10.1098/rspb.1992.0102>.

Kubota, Yoshiyuki, Ryuichi Hattori, et Yoshiki Yui. 1994. « Three Distinct Subpopulations of GABAergic Neurons in Rat Frontal Agranular Cortex ». *Brain Research* 649 (1): 159-73. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91060-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91060-X).

- Kujawa, Sharon G., et M. Charles Liberman. 2009. « Adding Insult to Injury: Cochlear Nerve Degeneration after “Temporary” Noise-Induced Hearing Loss ». *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29 (45): 14077-85. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2845-09.2009>.
- Lagziel, Ayala, Zubair M. Ahmed, Julie M. Schultz, Robert J. Morell, Inna A. Belyantseva, et Thomas B. Friedman. 2005. « Spatiotemporal Pattern and Isoforms of Cadherin 23 in Wild Type and Waltzer Mice during Inner Ear Hair Cell Development ». *Developmental Biology* 280 (2): 295-306. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.01.015>.
- Le Gal La Salle, G., et R. Naquet. 1990. « Audiogenic Seizures Evoked in DBA/2 Mice Induce c-Fos Oncogene Expression into Subcortical Auditory Nuclei ». *Brain Research* 518 (1-2): 308-12. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90988-n](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90988-n).
- LeDoux, J. E., C. R. Farb, et L. M. Romanski. 1991. « Overlapping Projections to the Amygdala and Striatum from Auditory Processing Areas of the Thalamus and Cortex ». *Neuroscience Letters* 134 (1): 139-44. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(91\)90526-y](https://doi.org/10.1016/0304-3940(91)90526-y).
- Lee, C. C, et J. A Winer. 2008. « Connections of cat auditory cortex: I. Thalamocortical system ». *J Comp Neurol* 507 (6): 1879-1900.
- Lee, Charles C., et Jeffery A. Winer. 2005. « Principles Governing Auditory Cortex Connections ». *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 15 (11): 1804-14. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhi057>.
- Lee, SooHyun, Jens Hjerling-Leffler, Edward Zagher, Gord Fishell, et Bernardo Rudy. 2010. « The Largest Group of Superficial Neocortical GABAergic Interneurons Expresses Ionotropic Serotonin Receptors ». *Journal of Neuroscience* 30 (50): 16796-808. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1869-10.2010>.
- Lefèvre, Gaëlle, Vincent Michel, Dominique Weil, Léa Lepelletier, Emilie Bizard, Uwe Wolfrum, Jean-Pierre Hardelin, et Christine Petit. 2008. « A Core Cochlear Phenotype in USH1 Mouse Mutants Implicates Fibrous Links of the Hair Bundle in Its Cohesion, Orientation and Differential Growth ». *Development (Cambridge, England)* 135 (8): 1427-37. <https://doi.org/10.1242/dev.012922>.
- Lewis, David A., Allison A. Curley, Jill R. Glausier, et David W. Volk. 2012. « Cortical Parvalbumin Interneurons and Cognitive Dysfunction in Schizophrenia ». *Trends in Neurosciences, Special Issue: Neuropsychiatric Disorders*, 35 (1): 57-67. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.10.004>.
- Li, Sihan, Andrew Mecca, Jeewoo Kim, Giusy A. Caprara, Elizabeth L. Wagner, Ting-Ting Du, Leonid Petrov, et al. 2020. « Myosin-VIIa Is Expressed in Multiple Isoforms and Essential for Tensioning the Hair Cell Mechanotransduction Complex ». *Nature Communications* 11 (1): 2066. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15936-z>.
- Libé-Philippot, Baptiste, Vincent Michel, Jacques Boutet de Monvel, Sébastien Le Gal, Typhaine Dupont, Paul Avan, Christine Métin, Nicolas Michalski, et Christine Petit. 2017. « Auditory Cortex Interneuron Development Requires Cadherins Operating Hair-Cell Mechano-electrical Transduction ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114 (30): 7765-74. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703408114>.
- Liberman, M. C. 1978. « Auditory-Nerve Response from Cats Raised in a Low-Noise Chamber ». *The Journal of the Acoustical Society of America* 63 (2): 442-55.
- Liberman, M. C 1982a. « Single-Neuron Labeling in the Cat Auditory Nerve ». *Science* 216 (4551): 1239-41. <https://doi.org/10.1126/science.7079757>.

- Liberman, M. C. 1982b. « The Cochlear Frequency Map for the Cat: Labeling Auditory-Nerve Fibers of Known Characteristic Frequency ». *The Journal of the Acoustical Society of America* 72 (5): 1441-49. <https://doi.org/10.1121/1.388677>.
- Liberman, M. Charles, JIANGANG GAO, David Z. Z. He, Xudong Wu, Shuping Jia, et Jian Zuo. 2002. « Prestin Is Required for Electromotility of the Outer Hair Cell and for the Cochlear Amplifier ». *Nature* 419 (6904): 300-304. <https://doi.org/10.1038/nature01059>.
- Liberman, M. Charles, et Sharon G. Kujawa. 2017. « Cochlear synaptopathy in acquired sensorineural hearing loss: Manifestations and mechanisms ». *Hearing Research, Noise in the Military*, 349 (juin): 138-47. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2017.01.003>.
- Liu, Chang, Elisabeth Glowatzki, et Paul Albert Fuchs. 2015. « Unmyelinated Type II Afferent Neurons Report Cochlear Damage ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (47): 14723-27. <https://doi.org/10.1073/pnas.1515228112>.
- Lübke, Joachim, et Dirk Feldmeyer. 2007. « Excitatory Signal Flow and Connectivity in a Cortical Column: Focus on Barrel Cortex ». *Brain Structure and Function* 212 (1): 3-17. <https://doi.org/10.1007/s00429-007-0144-2>.
- Lumani, Ariana, et Huiming Zhang. 2010. « Responses of neurons in the rat's dorsal cortex of the inferior colliculus to monaural tone bursts ». *Brain Research* 1351 (septembre): 115-29. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.06.066>.
- Ma, Yunyong, Hang Hu, Albert S. Berrebi, Peter H. Mathers, et Ariel Agmon. 2006. « Distinct Subtypes of Somatostatin-Containing Neocortical Interneurons Revealed in Transgenic Mice ». *Journal of Neuroscience* 26 (19): 5069-82. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0661-06.2006>.
- Maier, N.R.F. 1939. « Studies of abnormal behavior in the rat ». *New York:Harper*, 1939.
- Marchioni, Daniele, Gabriele Molteni, et Livio Presutti. 2011. « Endoscopic Anatomy of the Middle Ear ». *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery* 63 (2): 101-13. <https://doi.org/10.1007/s12070-011-0159-0>.
- Markram, Henry, Maria Toledo-Rodriguez, Yun Wang, Anirudh Gupta, Gilad Silberberg, et Caizhi Wu. 2004. « Interneurons of the Neocortical Inhibitory System ». *Nature Reviews. Neuroscience* 5 (10): 793-807. <https://doi.org/10.1038/nrn1519>.
- McGee, Joann, Richard J. Goodyear, D. Randy McMillan, Eric A. Stauffer, Jeffrey R. Holt, Kirsten G. Locke, David G. Birch, et al. 2006. « The Very Large G-Protein-Coupled Receptor VLGR1: A Component of the Ankle Link Complex Required for the Normal Development of Auditory Hair Bundles ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 26 (24): 6543-53. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0693-06.2006>.
- McMillan, D. Randy, et Perrin C. White. 2010. « Studies on the Very Large G Protein-Coupled Receptor: From Initial Discovery to Determining Its Role in Sensorineural Deafness in Higher Animals ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 706: 76-86. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7913-1_6.
- Medrihan, L., E. Tantalaki, G. Aramuni, V. Sargsyan, I. Dudanova, M. Missler, et W. Zhang. 2008. « Early Defects of GABAergic Synapses in the Brain Stem of a MeCP2 Mouse Model of Rett Syndrome ». *Journal of Neurophysiology* 99 (1): 112-21. <https://doi.org/10.1152/jn.00826.2007>.
- Meldrum, Bs. 1989. « GABAergic Mechanisms in the Pathogenesis and Treatment of Epilepsy. » *British Journal of Clinical Pharmacology* 27 (S1): 3S-11S.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1989.tb03454.x>.

Michalski, Nicolas, Vincent Michel, Amel Bahloul, Gaëlle Lefèvre, Jérémie Barral, Hideshi Yagi, Sébastien Chardenoux, et al. 2007. « Molecular Characterization of the Ankle-Link Complex in Cochlear Hair Cells and Its Role in the Hair Bundle Functioning ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 27 (24): 6478-88. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0342-07.2007>.

Michalski, Nicolas, Vincent Michel, Elisa Caberlotto, Gaëlle M. Lefèvre, Alexander F. J. van Aken, Jean-Yves Tinevez, Emilie Bizard, et al. 2009. « Harmonin-b, an Actin-Binding Scaffold Protein, Is Involved in the Adaptation of Mechanoelectrical Transduction by Sensory Hair Cells ». *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology* 459 (1): 115-30. <https://doi.org/10.1007/s00424-009-0711-x>.

Michalski, Nicolas, et Christine Petit. 2019. « Genes Involved in the Development and Physiology of Both the Peripheral and Central Auditory Systems ». *Annual Review of Neuroscience*, janvier. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-070918-050428>.

Michel, Vincent, Richard J. Goodyear, Dominique Weil, Walter Marcotti, Isabelle Perfettini, Uwe Wolfrum, Corné J. Kros, Guy P. Richardson, et Christine Petit. 2005. « Cadherin 23 Is a Component of the Transient Lateral Links in the Developing Hair Bundles of Cochlear Sensory Cells ». *Developmental Biology* 280 (2): 281-94. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.01.014>.

Millan, M. H., B. S. Meldrum, et C. L. Faingold. 1986. « Induction of Audiogenic Seizure Susceptibility by Focal Infusion of Excitant Amino Acid or Bicuculline into the Inferior Colliculus of Normal Rats ». *Experimental Neurology* 91 (3): 634-39. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(86\)90059-2](https://doi.org/10.1016/0014-4886(86)90059-2).

Misawa, Hidemi, Elliott H. Sherr, David J. Lee, Dane M. Chetkovich, Andrew Tan, Christoph E. Schreiner, et David S. Bredt. 2002. « Identification of a Monogenic Locus (Jams1) Causing Juvenile Audiogenic Seizures in Mice ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22 (23): 10088-93.

Morante-Redolat, José M., Ana Gorostidi-Pagola, Salomé Piquer-Sirerol, Amets Sáenz, Juan J. Poza, Juan Galán, Stefan Gesk, et al. 2002. « Mutations in the LGI1/Epitempin Gene on 10q24 Cause Autosomal Dominant Lateral Temporal Epilepsy ». *Human Molecular Genetics* 11 (9): 1119-28. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.9.1119>.

Morel, A., P. E. Garraghty, et J. H. Kaas. 1993. « Tonotopic Organization, Architectonic Fields, and Connections of Auditory Cortex in Macaque Monkeys ». *Journal of Comparative Neurology* 335 (3): 437-59. <https://doi.org/10.1002/cne.903350312>.

Morel, A., et T. J. Imig. 1987. « Thalamic Projections to Fields A, AI, P, and VP in the Cat Auditory Cortex ». *The Journal of Comparative Neurology* 265 (1): 119-44. <https://doi.org/10.1002/cne.902650109>.

Morgan, C.T, et J.D Morgan. 1939. « Auditory induction of an abnormal pattern of behavior in rat ». *Journal of comparative and Physiological Psychology*, 1939, 31 édition.

Mugnaini, Enrico, W. Bruce Warr, et Kirsten Kjelsberg Osen. 1980. « Distribution and Light Microscopic Features of Granule Cells in the Cochlear Nuclei of Cat, Rat, and Mouse ». *Journal of Comparative Neurology* 191 (4): 581-606. <https://doi.org/10.1002/cne.901910406>.

Musumeci, Sebastiano A., Paolo Bosco, Giuseppe Calabrese, Cathy Bakker, Giovanni B. De Sarro, Maurizio Elia, Raffaele Ferri, et Ben A. Oostra. 2000. « Audiogenic Seizures Susceptibility in Transgenic Mice with Fragile X Syndrome ». *Epilepsia*, janvier. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.2000.tb01499.x>.

- Myers, Kenneth A., Steven Nasioulas, Amber Boys, Jacinta M. McMahon, Howard Slater, Paul Lockhart, Desirée du Sart, et Ingrid E. Scheffer. 2018. « ADGRV1 Is Implicated in Myoclonic Epilepsy ». *Epilepsia* 59 (2): 381-88. <https://doi.org/10.1111/epi.13980>.
- Naritoku, D. K., L. B. Mecozzi, M. T. Aiello, et C. L. Faingold. 1992. « Repetition of Audiogenic Seizures in Genetically Epilepsy-Prone Rats Induces Cortical Epileptiform Activity and Additional Seizure Behaviors ». *Experimental Neurology* 115 (3): 317-24. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(92\)90197-x](https://doi.org/10.1016/0014-4886(92)90197-x).
- Nelken, Israel, Jennifer Bizley, Shihab A. Shamma, et Xiaoqin Wang. 2014. « Auditory Cortical Processing in Real-World Listening: The Auditory System Going Real ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 34 (46): 15135-38. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2989-14.2014>.
- Nellhaus, Gerhard. 1958. « Experimental Epilepsy in Rabbits Development of a Strain Susceptible to Audiogenic Seizures ». *American Journal of Physiology-Legacy Content* 193 (3): 567-72. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1958.193.3.567>.
- Neumann, P. E., et R. L. Collins. 1991. « Genetic Dissection of Susceptibility to Audiogenic Seizures in Inbred Mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88 (12): 5408-12. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.12.5408>.
- Ngodup, Tenzin, Gabriel E Romero, et Laurence O Trussell. 2020. « Identification of an inhibitory neuron subtype, the L-stellate cell of the cochlear nucleus ». Édité par Dwight E Bergles, Barbara G Shinn-Cunningham, et Dwight E Bergles. *eLife* 9 (novembre): e54350. <https://doi.org/10.7554/eLife.54350>.
- Nieuwenhuys, R. 1996. « The Greater Limbic System, the Emotional Motor System and the Brain ». *Progress in Brain Research* 107: 551-80. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)61887-7](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)61887-7).
- Nowotny, Manuela, et Anthony W. Gummer. 2006. « Nanomechanics of the Subtectorial Space Caused by Electromechanics of Cochlear Outer Hair Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 (7): 2120-25. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511125103>.
- Oertel, Donata, Samantha Wright, Xiao-Jie Cao, Michael Ferragamo, et Ramazan Bal. 2011. « The Multiple Functions of T Stellate/Multipolar/Chopper Cells in the Ventral Cochlear Nucleus ». *Hearing research* 276 (1-2): 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2010.10.018>.
- Oertel, Donata, et Eric D. Young. 2004. « What's a Cerebellar Circuit Doing in the Auditory System? ». *Trends in Neurosciences* 27 (2): 104-10. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2003.12.001>.
- Ohl, Frank W, et Henning Scheich. 2005. « Learning-induced plasticity in animal and human auditory cortex ». *Current Opinion in Neurobiology*, Sensory systems, 15 (4): 470-77. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2005.07.002>.
- Osen, K. K., et K. Roth. 1969. « Histochemical Localization of Cholinesterases in the Cochlear Nuclei of the Cat, with Notes on the Origin of Acetylcholinesterase-Positive Afferents and the Superior Olive ». *Brain Research* 16 (1): 165-85. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(69\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(69)90092-4).
- Oswald, Anne-Marie M, Max L Schiff, et Alex D Reyes. 2006. « Synaptic mechanisms underlying auditory processing ». *Current Opinion in Neurobiology* 16 (4): 371-76. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.06.015>.
- Oxenham, Andrew J. 2016. « Predicting the Perceptual Consequences of Hidden Hearing Loss ». *Trends in Hearing* 20 (janvier): 233121651668676.

<https://doi.org/10.1177/2331216516686768>.

Ozdamar, O., R. E. Delgado, R. E. Eilers, et R. C. Urbano. 1994. « Automated Electrophysiologic Hearing Testing Using a Threshold-Seeking Algorithm ». *Journal of the American Academy of Audiology* 5 (2): 77-88.

Pan, Bifeng, Nurunisa Akyuz, Xiao-Ping Liu, Yukako Asai, Carl Nist-Lund, Kiyoto Kurima, Bruce H. Derfler, et al. 2018. « TMC1 Forms the Pore of Mechanosensory Transduction Channels in Vertebrate Inner Ear Hair Cells ». *Neuron* 99 (4): 736-753.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.033>.

Pan, Bifeng, Gwenaëlle S. Géléoc, Yukako Asai, Geoffrey C. Horwitz, Kiyoto Kurima, Kotaro Ishikawa, Yoshiyuki Kawashima, Andrew J. Griffith, et Jeffrey R. Holt. 2013. « TMC1 and TMC2 Are Components of the Mechanotransduction Channel in Hair Cells of the Mammalian Inner Ear ». *Neuron* 79 (3): 504-15. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.019>.

Pecka, Michael, Thomas P Zahn, Bernadette Saunier-Rebori, Ida Siveke, Felix Felmy, Lutz Wiegrebe, Achim Klug, George D Pollak, et Benedikt Grothe. 2007. « Inhibiting the inhibition: a neuronal network for sound localization in reverberant environments ». *The Journal of Neuroscience* 27 (7): 1782-90. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5335-06.2007>.

Pedró, Marta, Javier Martín-Martínez, Marcos Maestro-Izquierdo, Rosana Rodríguez, et Montserrat Nafria. 2019. « Self-Organizing Neural Networks Based on OxRAM Devices under a Fully Unsupervised Training Scheme ». *Materials* 12 (21). <https://doi.org/10.3390/ma12213482>.

Pepermans, Elise, et Christine Petit. 2015. « The tip-link molecular complex of the auditory mechano-electrical transduction machinery ». *Hearing Research*, IEB Kyoto, 330 (décembre): 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2015.05.005>.

Perez-Vilar, J., et R. L. Hill. 1999. « The Structure and Assembly of Secreted Mucins ». *The Journal of Biological Chemistry* 274 (45): 31751-54. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.45.31751>.

Perkins, R. E., et D. K. Morest. 1975. « A Study of Cochlear Innervation Patterns in Cats and Rats with the Golgi Method and Nomarski Optics ». *Journal of Comparative Neurology* 163 (2): 129-58. <https://doi.org/10.1002/cne.901630202>.

Petilla Interneuron Nomenclature Group, Giorgio A. Ascoli, Lidia Alonso-Nanclares, Stewart A. Anderson, German Barrionuevo, Ruth Benavides-Piccione, Andreas Burkhalter, et al. 2008. « Petilla Terminology: Nomenclature of Features of GABAergic Interneurons of the Cerebral Cortex ». *Nature Reviews. Neuroscience* 9 (7): 557-68. <https://doi.org/10.1038/nrn2402>.

Petit, C. 2001. « Usher Syndrome: From Genetics to Pathogenesis ». *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 2: 271-97. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.2.1.271>.

Petitpré, Charles, Haohao Wu, Anil Sharma, Anna Tokarska, Paula Fontanet, Yiqiao Wang, Françoise Helmbacher, et al. 2018. « Neuronal Heterogeneity and Stereotyped Connectivity in the Auditory Afferent System ». *Nature Communications* 9 (1): 3691. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06033-3>.

Pickles, J. O., S. D. Comis, et M. P. Osborne. 1984. « Cross-Links between Stereocilia in the Guinea Pig Organ of Corti, and Their Possible Relation to Sensory Transduction ». *Hearing Research* 15 (2): 103-12.

Pierson, M., et S.L. Liebmann. 1992. « Noise Exposure-Induced Audiogenic Seizure Susceptibility in Sprague-Dawley Rats ». *Epilepsy Research* 13 (1): 35-42. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(92\)90005-E](https://doi.org/10.1016/0920-1211(92)90005-E).

- Pinal, C. S., et A. J. Tobin. 1998. « Uniqueness and Redundancy in GABA Production ». *Perspectives on Developmental Neurobiology* 5 (2-3): 109-18.
- Polley, D. B., H. L. Read, D. A. Storace, et M. M. Merzenich. 2007. « Multiparametric auditory receptive field organization across five cortical fields in the albino rat ». *J Neurophysiol* 97 (5): 3621-38. <https://doi.org/10.1152/jn.01298.2006>.
- Purves, Dale, George J. Augustine, David Fitzpatrick, William Hall, Anthony-Samuel Lamantia, James O. McNamara, Léonard White, et al. 2015. *Neurosciences*. 5^e éd. Bruxelles: DE BOECK UNIVERSITE.
- Qiu, Xufeng, et Ulrich Müller. 2018. « Mechanically Gated Ion Channels in Mammalian Hair Cells ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 12. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00100>.
- Read, H.L., L.M. Miller, C.E. Schreiner, et J.A. Winer. 2008. « Two Thalamic Pathways to Primary Auditory Cortex ». *Neuroscience* 152 (1): 151-59. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.11.026>.
- Reid, Howard M., et Robert L. Collins. 1986. « Lateralized Audiogenic Seizure: Motor Asymmetries Exhibited and the Effects of Interrupted Stimulation ». *Behavioral and Neural Biology* 46 (3): 424-31. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(86\)90443-7](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(86)90443-7).
- Reid, Howard M., et Robert L. Collins. 1989. « Monaural and Binaural Audiogenic Seizures in Mice ». *Behavioral and Neural Biology* 51 (2): 136-44. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(89\)90767-X](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(89)90767-X).
- Reigel, C. E., J. W. Dailey, et P. C. Jobe. 1986. « The Genetically Epilepsy-Prone Rat: An Overview of Seizure-Prone Characteristics and Responsiveness to Anticonvulsant Drugs ». *Life Sciences* 39 (9): 763-74. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(86\)90454-6](https://doi.org/10.1016/0024-3205(86)90454-6).
- Reiners, Jan, Erwin van Wijk, Tina Märker, Ulrike Zimmermann, Karin Jürgens, Heleen te Brinke, Nora Overlack, et al. 2005. « Scaffold protein harmonin (USH1C) provides molecular links between Usher syndrome type 1 and type 2 ». *Human Molecular Genetics* 14 (24): 3933-43. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi417>.
- Resnik, Jennifer, et Daniel B. Polley. 2017. « Fast-Spiking GABA Circuit Dynamics in the Auditory Cortex Predict Recovery of Sensory Processing Following Peripheral Nerve Damage ». *ELife* 6 (mars). <https://doi.org/10.7554/eLife.21452>.
- Ribak, Charles E., Julie C. Lauterborn, Marco S. Navetta, et Christine M. Gall. 1993. « The Inferior Colliculus of GEPRs Contains Greater Numbers of Cells That Express Glutamate Decarboxylase (GAD67) mRNA ». *Epilepsy Research* 14 (2): 105-13. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(93\)90015-Y](https://doi.org/10.1016/0920-1211(93)90015-Y).
- Richardson, Guy P., Jacques Boutet de Monvel, et Christine Petit. 2011. « How the Genetics of Deafness Illuminates Auditory Physiology ». *Annual Review of Physiology* 73: 311-34. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142228>.
- Richardson, Guy P., et Christine Petit. 2019. « Hair-Bundle Links: Genetics as the Gateway to Function ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 9 (12): a033142. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033142>.
- Roberts, Rosalinda C., Charles E. Ribak, et Wolfgang H. Oertel. 1985. « Increased Numbers of GABAergic Neurons Occur in the Inferior Colliculus of an Audiogenic Model of Genetic Epilepsy ». *Brain Research* 361 (1-2): 324-38. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91303-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91303-4).
- Robertson, Donald, et Bardia Paki. 2002. « Role of L-Type Ca²⁺ Channels in Transmitter Release from Mammalian Inner Hair Cells. II. Single-Neuron Activity ». *Journal of*

- Neurophysiology* 87 (6): 2734-40. <https://doi.org/10.1152/jn.2002.87.6.2734>.
- Rockland, K. S. 1998. « Complex Microstructures of Sensory Cortical Connections ». *Current Opinion in Neurobiology* 8 (4): 545-51. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(98\)80044-5](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(98)80044-5).
- Romanski, L. M., et J. E. LeDoux. 1993. « Organization of Rodent Auditory Cortex: Anterograde Transport of PHA-L from MGv to Temporal Neocortex ». *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 3 (6): 499-514. <https://doi.org/10.1093/cercor/3.6.499>.
- Ross, K. C, et J. R Coleman. 2000. « Developmental and Genetic Audiogenic Seizure Models: Behavior and Biological Substrates ». *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 24 (6): 639-53. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00029-4](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00029-4).
- Rouiller, E.M., C. Rodrigues-Dageaff, G. Simm, Y. De Ribaupierre, A. Villa, et F. De Ribaupierre. 1989. « Functional Organization of the Medial Division of the Medial Geniculate Body of the Cat: Tonotopic Organization, Spatial Distribution of Response Properties and Cortical Connections ». *Hearing Research* 39 (1-2): 127-42. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(89\)90086-5](https://doi.org/10.1016/0378-5955(89)90086-5).
- Rubel, Edwin W., et Bernd Fritsch. 2002. « Auditory System Development: Primary Auditory Neurons and Their Targets ». *Annual Review of Neuroscience* 25 (1): 51-101. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.25.112701.142849>.
- Rutherford, Mark A., et Tobias Moser. 2016. « The Ribbon Synapse Between Type I Spiral Ganglion Neurons and Inner Hair Cells ». In *The Primary Auditory Neurons of the Mammalian Cochlea*, 117-56. Springer Handbook of Auditory Research. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3031-9_5.
- Ryugo, David K. 1992. « The Auditory Nerve: Peripheral Innervation, Cell Body Morphology, and Central Projections ». In *The Mammalian Auditory Pathway: Neuroanatomy*, édité par Douglas B. Webster, Arthur N. Popper, et Richard R. Fay, 23-65. Springer Handbook of Auditory Research. New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4416-5_2.
- Saenz, Melissa, et Dave R. M. Langers. 2014. « Tonotopic mapping of human auditory cortex ». *Hearing Research, Human Auditory NeuroImaging*, 307 (janvier): 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2013.07.016>.
- Safieddine, Saaid, Aziz El-Amraoui, et Christine Petit. 2012. « The Auditory Hair Cell Ribbon Synapse: From Assembly to Function ». *Annual Review of Neuroscience* 35: 509-28. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113705>.
- Salazar, Patricia, Marco A. Velasco-Velázquez, et Iván Velasco. 2008. « GABA Effects during Neuronal Differentiation of Stem Cells ». *Neurochemical Research* 33 (8): 1546-57. <https://doi.org/10.1007/s11064-008-9642-8>.
- Sánchez-Benito, David, Ricardo Gómez-Nieto, Sonia Hernández-Noriega, Adriana Andrade Batista Murashima, José Antonio Cortes de Oliveira, Norberto Garcia-Cairasco, Dolores E. López, et Miguel Angelo Hyppolito. 2017. « Morphofunctional Alterations in the Olivocochlear Efferent System of the Genetic Audiogenic Seizure-Prone Hamster GASH:Sal ». *Epilepsy & Behavior: E&B* 71 (Pt B): 193-206. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.05.040>.
- Sánchez-Benito, David, Miguel A. Hyppolito, Antonio J. Alvarez-Morujó, Dolores E. López, et Ricardo Gómez-Nieto. 2020. « Morphological and Molecular Correlates of Altered Hearing Sensitivity in the Genetically Audiogenic Seizure-Prone Hamster GASH/Sal ». *Hearing Research* 392 (juillet): 107973. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2020.107973>.
- Sanes, Dan H, et Sarah M N Woolley. 2011. « A Behavioral Framework to Guide Research on

- Central Auditory Development and Plasticity ». *Neuron* 72 (6): 912-29. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.005>.
- Saunders, James C., Kim G. Dolgin, et Louis D. Lowry. 1980. « The maturation of frequency selectivity in C57BL/6J mice studied with auditory evoked response tuning curves ». *Brain Research* 187 (1): 69-79. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)90495-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)90495-3).
- Scharfman, Helen E. 2007. « The Neurobiology of Epilepsy ». *Current neurology and neuroscience reports* 7 (4): 348-54.
- Schmiedt, R. A., J. H. Mills, et F. A. Boettcher. 1996. « Age-Related Loss of Activity of Auditory-Nerve Fibers ». *Journal of Neurophysiology* 76 (4): 2799-2803.
- Schmiedt, Richard A. 1989. « Spontaneous Rates, Thresholds and Tuning of Auditory-Nerve Fibers in the Gerbil: Comparisons to Cat Data ». *Hearing Research* 42 (1): 23-35. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(89\)90115-9](https://doi.org/10.1016/0378-5955(89)90115-9).
- Schmitz, F., A. Königstorfer, et T. C. Südhof. 2000. « RIBEYE, a Component of Synaptic Ribbons: A Protein's Journey through Evolution Provides Insight into Synaptic Ribbon Function ». *Neuron* 28 (3): 857-72. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)00159-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)00159-8).
- Schneider, Eberhard, Tina Märker, Angelika Daser, Gabriele Frey-Mahn, Vera Beyer, Ruxandra Farcas, Brigitte Schneider-Rätzke, et al. 2009. « Homozygous Disruption of PDZD7 by Reciprocal Translocation in a Consanguineous Family: A New Member of the Usher Syndrome Protein Interactome Causing Congenital Hearing Impairment ». *Human Molecular Genetics* 18 (4): 655-66. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn395>.
- Schreiber, R. A., A. Lehmann, B. E. Ginsburg, et J. L. Fuller. 1980. « Development of Susceptibility to Audiogenic Seizures in DBA/2J and Rb Mice: Toward a Systematic Nomenclature of Audiogenic Seizure Levels ». *Behavior Genetics* 10 (6): 537-43. <https://doi.org/10.1007/BF01066222>.
- Senften, Mathias, Martin Schwander, Piotr Kazmierczak, Concepcion Lillo, Jung-Bum Shin, Tama Hasson, Gwenaëlle S. G. Géléoc, et al. 2006. « Physical and Functional Interaction between Protocadherin 15 and Myosin VIIa in Mechanosensory Hair Cells ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 26 (7): 2060-71. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4251-05.2006>.
- Shearer, A. Eliot, Michael S. Hildebrand, et Richard JH Smith. 1993. « Hereditary Hearing Loss and Deafness Overview ». In *GeneReviews®*, édité par Margaret P. Adam, Holly H. Ardinger, Roberta A. Pagon, Stephanie E. Wallace, Lora JH Bean, Ghayda Mirzaa, et Anne Amemiya. Seattle (WA): University of Washington, Seattle. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1434/>.
- Sherrill, Hanna E., Philippe Jean, Elizabeth C. Driver, Tessa R. Sanders, Tracy S. Fitzgerald, Tobias Moser, et Matthew W. Kelley. 2019. « Pou4f1 Defines a Subgroup of Type I Spiral Ganglion Neurons and Is Necessary for Normal Inner Hair Cell Presynaptic Ca²⁺ Signaling ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 39 (27): 5284-98. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2728-18.2019>.
- Shetty, Ashok K., et Bharathi Hattiangady. 2007. « Restoration of Calbindin after Fetal Hippocampal CA3 Cell Grafting into the Injured Hippocampus in a Rat Model of Temporal Lobe Epilepsy ». *Hippocampus* 17 (10): 943-56. <https://doi.org/10.1002/hipo.20311>.
- Shi, C. J., et M. D. Cassell. 1997. « Cortical, Thalamic, and Amygdaloid Projections of Rat Temporal Cortex ». *The Journal of Comparative Neurology* 382 (2): 153-75.

- Shnerson, A., et R. Pujol. 1981. « Age-Related Changes in the C57BL/6J Mouse Cochlea. I. Physiological Findings ». *Brain Research* 254 (1): 65-75. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(81\)90059-6](https://doi.org/10.1016/0165-3806(81)90059-6).
- Shrestha, Brikha R., Chester Chia, Lorna Wu, Sharon G. Kujawa, M. Charles Liberman, et Lisa V. Goodrich. 2018. « Sensory Neuron Diversity in the Inner Ear Is Shaped by Activity ». *Cell* 174 (5): 1229-1246.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.007>.
- Siemens, J., P. Kazmierczak, A. Reynolds, M. Sticker, A. Littlewood-Evans, et U. Müller. 2002. « The Usher Syndrome Proteins Cadherin 23 and Harmonin Form a Complex by Means of PDZ-Domain Interactions ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (23): 14946-51. <https://doi.org/10.1073/pnas.232579599>.
- Siemens, Jan, Concepcion Lillo, Rachel A. Dumont, Anna Reynolds, David S. Williams, Peter G. Gillespie, et Ulrich Müller. 2004. « Cadherin 23 Is a Component of the Tip Link in Hair-Cell Stereocilia ». *Nature* 428 (6986): 950-55. <https://doi.org/10.1038/nature02483>.
- Simler, S., E. Hirsch, L. Danober, J. Motte, M. Vergnes, et C. Marescaux. 1994. « C-Fos Expression after Single and Kindled Audiogenic Seizures in Wistar Rats ». *Neuroscience Letters* 175 (1-2): 58-62. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)91077-4](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)91077-4).
- Simmler, Marie-Christine, Martine Cohen-Salmon, Aziz El-Amraoui, Laurent Guillaud, Jean-Claude Benichou, Christine Petit, et Jean-Jacques Panthier. 2000. « Targeted Disruption of *Otog* Results in Deafness and Severe Imbalance ». *Nature Genetics* 24 (2): 139-43. <https://doi.org/10.1038/72793>.
- Simmler, Marie-Christine, Ingrid Zwaenepoel, Elisabeth Verpy, Laurent Guillaud, Colette Elbaz, Christine Petit, et Jean-Jacques Panthier. 2000. « Twister Mutant Mice Are Defective for Otogelin, a Component Specific to Inner Ear Acellular Membranes ». *Mammalian Genome* 11 (11): 961-66. <https://doi.org/10.1007/s003350010197>.
- Skradski, Shana L., Anna M. Clark, Hiamio Jiang, H. Steve White, Ying-Hui Fu, et Louis J. Ptáček. 2001. « A Novel Gene Causing a Mendelian Audiogenic Mouse Epilepsy ». *Neuron* 31 (4): 537-44. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00397-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00397-X).
- Snyder-Keller, Abigail M., et Martha G. Pierson. 1992. « Audiogenic Seizures Induce C-Fos in a Model of Developmental Epilepsy ». *Neuroscience Letters* 135 (1): 108-12. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(92\)90147-Y](https://doi.org/10.1016/0304-3940(92)90147-Y).
- Söllner, Christian, Gerd-Jörg Rauch, Jan Siemens, Robert Geisler, Stephan C. Schuster, Ulrich Müller, Teresa Nicolson, et Tübingen 2000 Screen Consortium. 2004. « Mutations in Cadherin 23 Affect Tip Links in Zebrafish Sensory Hair Cells ». *Nature* 428 (6986): 955-59. <https://doi.org/10.1038/nature02484>.
- Spitzer, M. W., et M. N. Semple. 1995. « Neurons Sensitive to Interaural Phase Disparity in Gerbil Superior Olive: Diverse Monaural and Temporal Response Properties ». *Journal of Neurophysiology* 73 (4): 1668-90. <https://doi.org/10.1152/jn.1995.73.4.1668>.
- Spoendlin, H. 1971. « Primary Structural Changes in the Organ of Corti after Acoustic Overstimulation ». *Acta Oto-Laryngologica* 71 (2): 166-76.
- Spoendlin, H. 1973. « THE INNERVATION OF THE COCHLEAR RECEPTOR ». In *Basic Mechanisms in Hearing*, édité par AAGE R. Møller, 185-234. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-504250-5.50012-6>.
- Spruston, Nelson. 2008. « Pyramidal Neurons: Dendritic Structure and Synaptic Integration ». *Nature Reviews. Neuroscience* 9 (3): 206-21. <https://doi.org/10.1038/nrn2286>.

- Stanković, Konstantina M., Dennis Brown, Seth L. Alper, et Joe C. Adams. 1997. « Localization of PH Regulating Proteins H⁺ATPase and Cl⁻HCO₃⁻ Exchanger in the Guinea Pig Inner Ear ». *Hearing Research* 114 (1): 21-34. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(97\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(97)00072-5).
- Stauffer, Eric A., John D. Scarborough, Moritoshi Hirono, Emilie D. Miller, Kavita Shah, John A. Mercer, Jeffrey R. Holt, et Peter G. Gillespie. 2005. « Fast Adaptation in Vestibular Hair Cells Requires Myosin-1c Activity ». *Neuron* 47 (4): 541-53. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.07.024>.
- Steel, K. P., et G. R. Bock. 1980. « The Nature of Inherited Deafness in Deafness Mice ». *Nature* 288 (5787): 159-61. <https://doi.org/10.1038/288159a0>.
- Sun, Jin-Peng, Rong Li, Hong-Ze Ren, An-Ting Xu, Xiao Yu, et Zhi-Gang Xu. 2013. « The Very Large G Protein Coupled Receptor (Vlgr1) in Hair Cells ». *Journal of Molecular Neuroscience: MN* 50 (1): 204-14. <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9911-5>.
- Sun, Shuohao, Travis Babola, Gabriela Pregernig, Kathy S. So, Matthew Nguyen, Shin-San M. Su, Adam T. Palermo, Dwight E. Bergles, Joseph C. Burns, et Ulrich Müller. 2018a. « Hair Cell Mechanotransduction Regulates Spontaneous Activity and Spiral Ganglion Subtype Specification in the Auditory System ». *Cell* 174 (5): 1247-1263.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.008>.
- Sun, Wei, Senthivelan Manohar, Aditi Jayaram, Anand Kumaraguru, Qiang Fu, Ji Li, et Brian Allman. 2011. « Early Age Conductive Hearing Loss Causes Audiogenic Seizure and Hyperacusis Behavior ». *Hearing Research* 282 (1-2): 178-83. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2011.08.004>.
- Taberner, Annette M., et M. Charles Liberman. 2005. « Response Properties of Single Auditory Nerve Fibers in the Mouse ». *Journal of Neurophysiology* 93 (1): 557-69. <https://doi.org/10.1152/jn.00574.2004>.
- Tabuchi, Katsuhiko, Jacqueline Blundell, Mark R. Etherton, Robert E. Hammer, Xinran Liu, Craig M. Powell, et Thomas C. Südhof. 2007. « A Neuroligin-3 Mutation Implicated in Autism Increases Inhibitory Synaptic Transmission in Mice ». *Science* 318 (5847): 71-76. <https://doi.org/10.1126/science.1146221>.
- Tacke, U., E. Björk, et J. Tuomisto. 1984. « The Effect of Changes in Sound Pressure Level and Frequency on the Seizure Response of Audiogenic Seizure Susceptible Rats ». *Journal of Pharmacological Methods* 11 (4): 279-90. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(84\)90046-9](https://doi.org/10.1016/0160-5402(84)90046-9).
- Taylor, C. 1988. « How Do Seizures Begin? Clues from Hippocampal Slices ». *Trends in Neurosciences* 11 (9): 375-78. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(88\)90070-7](https://doi.org/10.1016/0166-2236(88)90070-7).
- Terra, V.C., et N. Garcia-Cairasco. 1994. « NMDA-Dependent Audiogenic Seizures Are Differentially Regulated by Inferior Colliculus Subnuclei ». *Behavioural Brain Research* 62 (1): 29-39. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)90035-3](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)90035-3).
- Thompson, J. L., F. G. Carl, et G. L. Holmes. 1991. « Effects of Age on Seizure Susceptibility in Genetically Epilepsy-Prone Rats (GEPR-9s) ». *Epilepsia* 32 (2): 161-67. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1991.tb05239.x>.
- Tolbert, L. P., et D. K. Morest. 1982. « The Neuronal Architecture of the Anteroventral Cochlear Nucleus of the Cat in the Region of the Cochlear Nerve Root: Golgi and Nissl Methods ». *Neuroscience* 7 (12): 3013-30. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(82\)90227-5](https://doi.org/10.1016/0306-4522(82)90227-5).
- Tolbert, L. P., D. K. Morest, et D. A. Yurgelun-Todd. 1982. « The Neuronal Architecture of

the Anteroventral Cochlear Nucleus of the Cat in the Region of the Cochlear Nerve Root: Horseradish Peroxidase Labelling of Identified Cell Types ». *Neuroscience* 7 (12): 3031-52. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(82\)90228-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(82)90228-7).

Tremblay, Robin, Soohyun Lee, et Bernardo Rudy. 2016. « GABAergic Interneurons in the Neocortex: From Cellular Properties to Circuits ». *Neuron* 91 (2): 260-92. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.033>.

Upton, Neil, et Sharon Stratton. 2003. « Recent Developments from Genetic Mouse Models of Seizures ». *Current Opinion in Pharmacology* 3 (1): 19-26. [https://doi.org/10.1016/s1471-4892\(02\)00010-3](https://doi.org/10.1016/s1471-4892(02)00010-3).

Valero, Michelle D., Kenneth E. Hancock, et M. Charles Liberman. 2016. « The Middle Ear Muscle Reflex in the Diagnosis of Cochlear Neuropathy ». *Hearing Research* 332 (février): 29-38. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2015.11.005>.

Verpy, E., S. Masmoudi, I. Zwaenepoel, M. Leibovici, T. P. Hutchin, I. Del Castillo, S. Nouaille, et al. 2001. « Mutations in a New Gene Encoding a Protein of the Hair Bundle Cause Non-Syndromic Deafness at the DFNB16 Locus ». *Nature Genetics* 29 (3): 345-49. <https://doi.org/10.1038/ng726>.

Verpy, Elisabeth, Michel Leibovici, Nicolas Michalski, Richard J. Goodyear, Carine Houdon, Dominique Weil, Guy P. Richardson, et Christine Petit. 2011. « Stereocilin Connects Outer Hair Cell Stereocilia to One Another and to the Tectorial Membrane ». *The Journal of Comparative Neurology* 519 (2): 194-210. <https://doi.org/10.1002/cne.22509>.

Verpy, Elisabeth, Saber Masmoudi, Ingrid Zwaenepoel, Michel Leibovici, Tim P. Hutchin, Ignacio Del Castillo, Sylvie Nouaille, et al. 2001. « Mutations in a New Gene Encoding a Protein of the Hair Bundle Cause Non-Syndromic Deafness at the DFNB16 Locus ». *Nature Genetics* 29 (3): 345-49. <https://doi.org/10.1038/ng726>.

Verpy, Elisabeth, Dominique Weil, Michel Leibovici, Richard J. Goodyear, Ghislaine Hamard, Carine Houdon, Gaëlle M. Lefèvre, et al. 2008. « Stereocilin-Deficient Mice Reveal the Origin of Cochlear Waveform Distortions ». *Nature* 456 (7219): 255-58. <https://doi.org/10.1038/nature07380>.

Villamar, M., I. del Castillo, N. Valle, L. Romero, et F. Moreno. 1999. « Deafness Locus DFNB16 Is Located on Chromosome 15q13-Q21 within a 5-CM Interval Flanked by Markers D15S994 and D15S132 ». *American Journal of Human Genetics* 64 (4): 1238-41. <https://doi.org/10.1086/302321>.

Villers-Sidani, Etienne de de, Kimberly L. Simpson, Y.-F. Lu, Rick C. S. Lin, et Michael M. Merzenich. 2008. « Manipulating Critical Period Closure across Different Sectors of the Primary Auditory Cortex ». *Nature Neuroscience* 11 (8): 957-65. <https://doi.org/10.1038/nn.2144>.

Villers-Sidani, Etienne de, et Michael M. Merzenich. 2011. « Lifelong Plasticity in the Rat Auditory Cortex: Basic Mechanisms and Role of Sensory Experience ». *Progress in Brain Research* 191: 119-31. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53752-2.00009-6>.

Wang, Doris D., et Arnold R. Kriegstein. 2008. « GABA Regulates Excitatory Synapse Formation in the Neocortex via NMDA Receptor Activation ». *The Journal of Neuroscience* 28 (21): 5547-58. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5599-07.2008>.

Wang, Xiao-Jing, et György Buzsáki. 1996. « Gamma Oscillation by Synaptic Inhibition in a Hippocampal Interneuronal Network Model ». *Journal of Neuroscience* 16 (20): 6402-13.

- Webber, Jemma L., John C. Clancy, Yingjie Zhou, Natalia Yraola, Kazuaki Homma, et Jaime García-Añoveros. 2021. « Axodendritic versus Axosomatic Cochlear Efferent Termination Is Determined by Afferent Type in a Hierarchical Logic of Circuit Formation ». *Science Advances* 7 (4): eabd8637. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd8637>.
- Wehr, Michael, et Anthony M. Zador. 2003. « Balanced Inhibition Underlies Tuning and Sharpens Spike Timing in Auditory Cortex ». *Nature* 426 (6965): 442-46. <https://doi.org/10.1038/nature02116>.
- Weil, D., S. Blanchard, J. Kaplan, P. Guilford, F. Gibson, J. Walsh, P. Mburu, A. Varela, J. Levilliers, et M. D. Weston. 1995. « Defective Myosin VIIA Gene Responsible for Usher Syndrome Type 1B ». *Nature* 374 (6517): 60-61. <https://doi.org/10.1038/374060a0>.
- Whitlon, D. S., et H. M. Sobkowicz. 1989. « GABA-like Immunoreactivity in the Cochlea of the Developing Mouse ». *Journal of Neurocytology* 18 (4): 505-18. <https://doi.org/10.1007/BF01474546>.
- Willott, James F., et Shao Ming Lu. 1980. « Midbrain Pathways of Audiogenic Seizures in DBA2 Mice ». *Experimental Neurology* 70 (2): 288-99. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(80\)90028-X](https://doi.org/10.1016/0014-4886(80)90028-X).
- Winter, Ian M., Donald Robertson, et Graeme K. Yates. 1990. « Diversity of Characteristic Frequency Rate-Intensity Functions in Guinea Pig Auditory Nerve Fibres ». *Hearing Research* 45 (3): 191-202. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(90\)90120-E](https://doi.org/10.1016/0378-5955(90)90120-E).
- Wolf, Peter, et Matthias Koepp. 2012. « Chapter 16 - Reflex Epilepsies ». In *Handbook of Clinical Neurology*, édité par Hermann Stefan et William H. Theodore, 107:257-76. Epilepsy. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52898-8.00016-1>.
- Wu, S. H., et D. Oertel. 1984. « Intracellular Injection with Horseradish Peroxidase of Physiologically Characterized Stellate and Bushy Cells in Slices of Mouse Anteroventral Cochlear Nucleus ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 4 (6): 1577-88.
- Xiong, Wei, Nicolas Grillet, Heather M. Elledge, Thomas F. J. Wagner, Bo Zhao, Kenneth R. Johnson, Piotr Kazmierczak, et Ulrich Müller. 2012. « TMHS Is an Integral Component of the Mechanotransduction Machinery of Cochlear Hair Cells ». *Cell* 151 (6): 1283-95. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.041>.
- Xu, Xiangmin, Keith D. Roby, et Edward M. Callaway. 2010. « Immunochemical Characterization of Inhibitory Mouse Cortical Neurons: Three Chemically Distinct Classes of Inhibitory Cells ». *Journal of Comparative Neurology* 518 (3): 389-404. <https://doi.org/10.1002/cne.22229>.
- Yagi, Hideshi, Hisashi Tokano, Mitsuyo Maeda, Tetsuji Takabayashi, Takashi Nagano, Hiroshi Kiyama, Shigeharu Fujieda, Ken Kitamura, et Makoto Sato. 2007. « Vlgr1 Is Required for Proper Stereocilia Maturation of Cochlear Hair Cells ». *Genes to Cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms* 12 (2): 235-50. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2007.01046.x>.
- Yan, Y.-H., J. F. M. Van Brederode, et A. E. Hendrickson. 1995. « Developmental Changes in Calretinin Expression in GABAergic and NonGABAergic Neurons in Monkey Striate Cortex ». *Journal of Comparative Neurology* 363 (1): 78-92. <https://doi.org/10.1002/cne.903630108>.
- Yanai, J., P. Y. Sze, et B. E. Ginsburg. 1975. « Effects of Aminergic Drugs and Glutamic Acid on Audiogenic Seizures Induced by Early Exposure to Ethanol ». *Epilepsia* 16 (1): 67-71. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1975.tb04722.x>.

- Yariz, Kemal O., Duygu Duman, Celia Zazo Seco, Julia Dallman, Mingqian Huang, Theo A. Peters, Asli Sirmaci, et al. 2012. « Mutations in OTOGL, Encoding the Inner Ear Protein Otogelin-like, Cause Moderate Sensorineural Hearing Loss ». *American Journal of Human Genetics* 91 (5): 872-82. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.09.011>.
- Yokota, Yoh, Hideaki Moteki, Shin-ya Nishio, Tomomi Yamaguchi, Keiko Wakui, Yumiko Kobayashi, Kenji Ohyama, et al. 2019. « Frequency and Clinical Features of Hearing Loss Caused by STRC Deletions ». *Scientific Reports* 9 (1): 4408. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40586-7>.
- Zhao, Bo, Zizhen Wu, Nicolas Grillet, Linxuan Yan, Wei Xiong, Sarah Harkins-Perry, et Ulrich Müller. 2014. « TMIE Is an Essential Component of the Mechanotransduction Machinery of Cochlear Hair Cells ». *Neuron* 84 (5): 954-67. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.10.041>.
- Zheng, J., W. Shen, D. Z. He, K. B. Long, L. D. Madison, et P. Dallos. 2000. « Prestin Is the Motor Protein of Cochlear Outer Hair Cells ». *Nature* 405 (6783): 149-55. <https://doi.org/10.1038/35012009>.
- Zhou, Xiaoming, Philip H.-S. Jen, Kevin L. Seburn, Wayne N. Frankel, et Qing Y. Zheng. 2006. « Auditory Brainstem Responses in 10 Inbred Strains of Mice ». *Brain Research* 1091 (1): 16-26. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.01.107>.
- Zhou, Yan-Feng, et Timothy A. Springer. 2014. « Highly reinforced structure of a C-terminal dimerization domain in von Willebrand factor ». *Blood* 123 (12): 1785-93. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-11-523639>.

Les crises audiogènes réflexes : une voie d'entrée dans la compréhension des mécanismes de développement et de fonctionnement des voies rétro-cochléaires

Résumé. L'approche génétique, basée sur l'étude des formes héréditaires de surdité, a été particulièrement efficace au cours des 25 dernières années pour révéler la physiologie moléculaire de la cochlée, l'organe sensoriel de l'audition. En revanche, cette dissection génétique a fourni jusqu'à présent peu d'informations sur le système auditif central, bien que les dysfonctionnements de celui-ci touchent environ 5% des enfants et plus de 25% des personnes âgées. Les processus biologiques de la plupart de ces troubles centraux auditifs sont mal connus. L'hypothèse de mon laboratoire de thèse est qu'une partie des atteintes auditives centrales dans les formes génétiques de surdité seraient passées inaperçues en raison de l'atteinte cochléaire, qui prive le cerveau auditif de tout ou partie des informations acoustiques qu'il reçoit normalement. L'objectif de ma thèse est de caractériser ces déficits centraux et périphériques masqués dans plusieurs formes génétiques de surdité par la caractérisation du rôle cérébral d'un gène pour lequel des mutations entraînent une surdité périphérique mais aussi une susceptibilité aux crises audiogènes chez la souris. Il s'agit du gène codant pour la protéine otogéline-like (*Otogl*). Dans la cochlée, cette protéine est impliquée dans la cohésion de la touffe ciliaire, l'antenne mécanique de réception au son des cellules sensorielles et dans la membrane tectoriale. Mes résultats ont montré une expression d'*Otogl* dans les fibres auditives du noyau cochléaire et dans d'autres structures de la cochlée, révélant de nouveaux rôles joués par *Otogl* dans la cochlée et les voies rétro-cochléaires.

Des défauts fonctionnels dans le traitement du son ont été également observés chez les souris hétérozygotes *Otogl*^{+/-} qui n'ont pas de défauts d'audition. *Otogl* a donc un rôle dans les voies rétro-cochléaires en plus de son rôle cochléaire. Mes résultats montrent qu'*Otogl* est essentiel au fonctionnement d'une catégorie particulière de fibres auditives, les fibres à haut seuil. Les souris mutantes *Otogl* sont un nouveau modèle d'étude des fibres à haut seuil et de leur rôle dans la survenue des crises audiogènes chez la souris. Ces résultats appellent à tester l'existence de tels déficits, en particulier d'une synaptopathie, chez des patients porteurs de mutations *OTOGL*.

Mots clés : *Otogl* ; cochlée ; fibres auditives ; noyaux cochléaires ; crises audiogènes ;

Audiogenic seizures, a gateway into understanding the mechanisms of development and functioning of retro-cochlear pathways

Abstract. The genetic approach, based on the study of inherited forms of deafness, has been particularly effective over the past 25 years for deciphering the molecular physiology of the cochlea, the sensory organ of hearing. In contrast, this genetic dissection has so far provided little information about the central auditory system, although defects of the central auditory system affect around 5% of children and more than 25% of the elderly. The biological processes of most of these central auditory disorders are poorly understood. The hypothesis of my laboratory is that part of the central hearing defects in genetic forms of deafness would be concealed due to cochlear damages, which deprive the auditory brain of all or part of the acoustic information it receives. The objective of my thesis was to characterize these masked central and peripheric deficits in a new mutant mouse model for *Otogl*, a genetic form of deafness. Mutations in *Otogl* cause peripheral deafness but are also associated to a susceptibility to audiogenic seizures, reflex seizures induced by a loud sound. In the cochlea, *otogl* is involved in the cohesion of the hair bundle, the mechanical antenna to the sound of sensory cells and in the tectorial membrane. My results showed that *Otogl* is expressed in the fibers of the primary auditory nerve and in additional structures of the cochlea, unveiling new roles for *Otogl* in the cochlea and the central auditory pathways. I also uncovered functional deficits in sound processing in heterozygous *Otogl*^{+/-} mice that did not have peripheral hearing loss. *Otogl* therefore has a retrocochlear role in addition to its role in the cochlea. These results involve a particular category of auditory nerve fibers, the high-threshold fibers. *Otogl* mutant mice are a new model for studying high-threshold fibers and their role in the occurrence of audiogenic seizures in mice. These results suggest that patients carrying *OTOGL* mutations may have similar deficits, in particular synaptopathy.

keywords: *Otogl* ; cochlea ; auditive fibers ; cochlear nucleus ; audiogenic seizures;