

Université de Montréal

Traitement des mélanges par le système trigéminal

par Renée-Pier Filiou

Département de psychologie, Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des Arts et des Sciences en vue de
l'obtention du grade de maîtrise en psychologie option recherche

Avril 2014

© Renée-Pier Filiou, 2014

Résumé

Le système trigéminal –tout comme l’olfaction et la gustation– est un sens chimique qui permet la perception des informations chimiosensorielles de notre environnement. Contrairement à l’olfaction et à la gustation, notre connaissance du traitement des mélanges par le système trigéminal est limitée. Nous avons donc utilisé des mélanges de trois agonistes relativement spécifiques à des récepteurs (eucalyptol, agoniste TRPM8; aldéhyde cinnamique, agoniste TRPA1 ; camphre, agoniste TRPV1) et d’une odeur pure (alcool phényléthylique) dans différentes proportions afin de déterminer les dimensions de base de la perception trigéminal. Quatre dimensions principales se sont avérées pertinentes: l’intensité, la sensation de chaleur, la sensation de froid et la douleur. Nous avons utilisé ces dimensions pour étudier la perception de mélanges et de combinaisons dans différentes proportions d’un stimulus qui procure une sensation de froid (eucalyptol) et d’un stimulus qui procure une sensation de chaleur (aldéhyde cinnamique). Les résultats indiquent que les mélanges obtiennent généralement des scores plus élevés que les combinaisons sur les dimensions « intensité », « sensation de chaleur » et « douleur » alors que les combinaisons obtiennent des scores plus élevés sur la dimension « sensation de froid ». Ces résultats suggèrent des interactions spécifiques pour les différentes dimensions de la perception trigéminal. Nous en venons à la conclusion d’un effet d’additivité pour les mélanges sur les dimensions « intensité », « sensation de chaleur » et « douleur » alors que nous observons plutôt un effet de suppression de la perception de froid pour les deux stimuli dans les mélanges, ce qui semble indiquer des interactions particulières pouvant prendre place aux niveaux périphérique ou central.

Mots-clés : système trigéminal, mélanges binaires, olfaction, perception chimiosensorielle

Abstract

The trigeminal system – along with smell and taste – is a chemical sense that allows the perception of chemosensory information in our environment. However, contrary to smell and taste, we lack knowledge of the trigeminal processing of mixtures. We therefore investigated trigeminal perception using mixtures of three relatively receptor specific agonists (eucalyptol, TRPM8 agonist; cinnamaldehyde, TRPA1 agonist and camphor, TRPV1 agonist) together with one control odor (phenyl ethyl alcohol or PEA) in different proportions to determine basic dimensions of trigeminal perception. Four main dimensions were proven relevant to trigeminal perception: intensity, warmth sensation, cold sensation and pain sensation. Subsequently, we used these dimensions to investigate perception of mixtures and combinations of trigeminal stimuli using different concentrations of a cooling stimulus (eucalyptol) with a stimulus which evokes warmth perception (cinnamaldehyde). Results showed mixtures generally yielded higher ratings than combinations on the trigeminal dimensions “intensity”, “warm” and “painful” whereas combinations yielded higher ratings than mixtures on the trigeminal dimension “cold”. These results suggest dimension specific interactions in the perception of trigeminal mixtures. For the mixtures we used, we reach the conclusion of additivity for the dimensions “intensity”, “warm” and “painful”; we observed suppression of the cold perception of both stimuli in mixtures suggesting particular interactions which may take place on peripheral or central levels.

Keywords: trigeminal system, binary mixtures, smell, chemosensory perception

Table des matières

Introduction.....	1
L'olfaction à travers les siècles	1
Le système trigéminal.....	3
Anatomie périphérique et centrale	3
Récepteurs trigéminaux	6
Bref aperçu des méthodes d'évaluation du système trigéminal	7
Le traitement des mélanges	9
Traitement des mélanges par le système olfactif	9
Traitement des mélanges par le système gustatif	12
Traitement des mélanges par le système trigéminal	13
Questions & hypothèses de recherche	14
Perception of trigeminal mixtures	15
Abstract	16
Introduction	17
Study 1	20
Pilot studies	20
Methods.....	21
Results	23
Study 2	24
Methods.....	24
Results	28
Discussion	31
Conclusion	37
References.....	38
Discussion	41
Bref retour sur les études	41
Résultats	41

Première étude – quatre dimensions de perception trigéminal	41
Deuxième étude – traitement des mélanges et combinaisons	44
Les mélanges perçus comme plus intenses, chauds et douloureux que les combinaisons	45
Les combinaisons perçues comme plus froides que les mélanges	48
Études futures	51
Forces & faiblesses de l'étude	51
Bibliographie	54

Liste des tableaux

Tableau	Page
I. Manufacturers and concentrations of the eucalyptol, cinnamaldehyde, camphor and PEA base solutions used in the first study.....	21
II. Stimuli made from rose odor (ROSE), cinnamon odor (CIN), eucalyptus odor (EUC) and camphor odor (CAM) in predetermined proportions used in the first study.....	22
III. The 12 trigeminal dimensions studied along with the factor loadings for the four factors.....	24
IV. Concentrations of the eucalyptol and cinnamon solutions used for the second study.....	25
V. Combinations and mixtures using cinnamon (CIN) and eucalyptus (EUC) in the second study.....	26

Listes des figures

Figure	Page
1. Distribution du nerf crânien V : le nerf ophtalmique (V ₁), le nerf maxillaire (V ₂) et le nerf mandibulaire (V ₃).....	4
2. Réseau de connexions du nerf trijumeau.....	5
3. Ratings for 18 trigeminal stimuli for all participants.....	29
4. Direct comparison of odor mixtures and combinations on the four dimensions of trigeminal perception.....	30

Liste des abréviations

ALE: *activation likelihood estimation*

ANOVA: *analysis of variance*

CO₂: dioxyde de carbone

FLIPR: *fluorometric imaging plate reader*

IRMf : imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

KCl : chlorure de potassium

NaCl : chlorure de sodium

PEA: *phenyl ethyl alcohol*

PCA: *principal component analysis*

SPSS: *Statistical Package for the Social Sciences*

TEP: tomographie par émission de positrons

ThermoTRP channels: *temperature-activated transient receptor potential channels*

TERP: *trigeminal event related potentials*

TRP: *transient receptor potential*

TRPA1 *transient receptor potential ankyrin 1*

TRPM8 *transient receptor potential melastatin 8*

TRPV1 *transient receptor potential vanilloid 1*

TRPV3 *transient receptor potential vanilloid 3*

UPSIT: *University of Pennsylvania Smell Identification Test*

Introduction

L'olfaction à travers les siècles

Dans sa première *Méditation*, en accord avec la tradition rationaliste du XVII^e siècle, Descartes met de l'avant l'idée selon laquelle toute connaissance ne peut avoir comme source que la raison. Il rejette ainsi l'olfaction comme source de savoir –puisque'elle n'est au fait qu'un sens trompeur– et réfute par le fait même toute valeur scientifique aux informations olfactives (Le Guérer, 2002).

Au cours du Siècle des Lumières, l'Europe est marquée d'une révolution scientifique menée par l'élite intellectuelle de l'époque. Désirant se défaire de l'obscurité de l'ignorance, philosophes et hommes de science s'allient dans la quête de connaissances et la poursuite du savoir. Dans l'esprit des Lumières, le regard sagace et perspicace du scientifique devient la métaphore illustrative de cette soif de savoir et la vision, par le fait même, le sens de la raison et de la civilisation (Classens, 1997). Cette disparité des sens –soit la prépondérance de la vision comparativement aux autres sens, tout particulièrement l'olfaction– empreint la pensée philosophique et scientifique du XVIII^e siècle et se poursuit même au-delà du XIX^e siècle. À titre d'exemple, dans son *Anthropologie du point de vue pragmatique*, Kant donne le titre de sens le plus noble à la vision alors qu'il décrit l'olfaction comme le sens le plus ingrat et le plus inutile (Le Guérer, 2002), une idée d'ailleurs largement répandue et partagée dans la communauté scientifique.

On assiste ainsi à la « révolution olfactive » telle que décrite par l'historien français Alain Corbin dans *Le Miasme et la Jonquille* (1982), c'est-à-dire une dévalorisation de l'olfaction qui la mène éventuellement à sombrer dans l'oubli. Dans son œuvre, Corbin décrit l'olfaction en termes d'un construit social s'étant transformé au fil des siècles, au bon vouloir des savants et des élites. Prenant en considération le climat de l'époque –marqué par

l'insalubrité et la fétidité des villes– il n'est guère surprenant que les odeurs en vinrent à être associées aux ravages des maladies qui dévastaient alors l'Europe. Dès lors, l'olfaction est reléguée au bas de la hiérarchie des sens, un phénomène menant au XIX^e siècle à ce que Corbin nomme le « silence olfactif », soit le désir d'une absence totale d'odeur.

La valorisation des sens dits supérieurs ou de haut niveau –tout particulièrement la vision– au détriment de l'olfaction demeure présente dans les écrits scientifiques du XIX^e siècle. Dans *Origine des Espèces*, le naturaliste Charles Darwin, l'un des précurseurs de la théorie de l'évolution, dévalue grandement l'importance de l'olfaction pour les humains, au point d'en proclamer la quasi-inutilité. Ainsi, du fait qu'il s'agit du sens le plus primitif – phylogénétiquement parlant– et qu'elle se soit progressivement avérée moins cruciale à la survie de l'Homme au cours de son évolution, Darwin associe l'olfaction à la sauvagerie et aux instincts primitifs (Classen, 1997). Chez Freud également, la répression de l'olfaction –associée à l'animalité et à la sensualité anale– est nécessaire au développement de la civilisation (Classen, 1997). C'est donc dire que l'olfaction, de par sa « nature animale », était diamétralement opposée aux idéaux des Lumières et son étude dans l'approfondissement des connaissances, par le fait même, jugée parfaitement superflue jusqu'au XX^e siècle.

Ce déni de l'importance de l'olfaction au fil des siècles est reflété dans la recherche scientifique moderne par une littérature plus clairsemée en comparaison à celle traitant des autres sens, plus particulièrement de la vision et – dans une moindre mesure – de l'audition. En d'autres termes, l'intérêt en recherche pour l'olfaction est relativement récent. À titre d'exemple, alors qu'il était admis que le système olfactif pouvait percevoir approximativement 10 000 odeurs différentes, ce n'est que tout récemment que l'on mis en lumière qu'il s'agissait là d'une sous-estimation considérable : le système olfactif serait plutôt apte à percevoir près d'un milliard d'odeurs distinctes (Bushdid, Magnasco, Vosshall & Keller, 2014). C'est donc dire que, malgré les progrès fulgurants dans notre connaissance de

l'olfaction, certains aspects en demeurent à ce jour obscurs. Cela apparaît particulièrement évident dans le cas du système trigéminal, un sens chimique dont l'implication dans l'olfaction est connue mais dont l'étude approfondie n'en est encore qu'à ses tout premiers balbutiements.

Le système trigéminal

Anatomie périphérique et centrale

À l'image de la bouche qui intègre les sensations gustative, olfactive et trigéminal pour permettre la perception des saveurs, le nez intègre les sensations olfactive et trigéminal et permet ainsi la perception des odeurs. Ainsi, quoiqu'elle semble parfaitement unifiée, notre perception des odeurs combine en fait une composante olfactive ainsi qu'une composante trigéminal. Il est généralement admis que le système trigéminal influence la perception de l'intensité (Cometto-Muniz & Hernandez, 1990) ainsi que de la qualité des odeurs (Laska, Distel & Hudson, 1997). Alors que la composante olfactive de l'odorat relève du nerf crânien I –un nerf uniquement sensoriel– la composante trigéminal relève quant à elle du nerf crânien V, un nerf principalement sensoriel avec certaines fonctions motrices. Formé de trois branches ou paires de nerfs jumeaux (d'où le nom trijumeau), le nerf trijumeau –le plus grand nerf crânien– innerve la peau ainsi que les muqueuses du visage et communique ainsi des informations somatosensorielles et chimiosensorielles en provenance de la bouche et du nez. Plus précisément, le nerf trijumeau est formé du nerf ophtalmique (V_1), du nerf maxillaire (V_2) et du nerf mandibulaire (V_3) : la muqueuse nasale est innervée à la fois par le nerf ophtalmique et maxillaire alors que l'innervation de la muqueuse buccale relève du nerf maxillaire et du nerf mandibulaire.

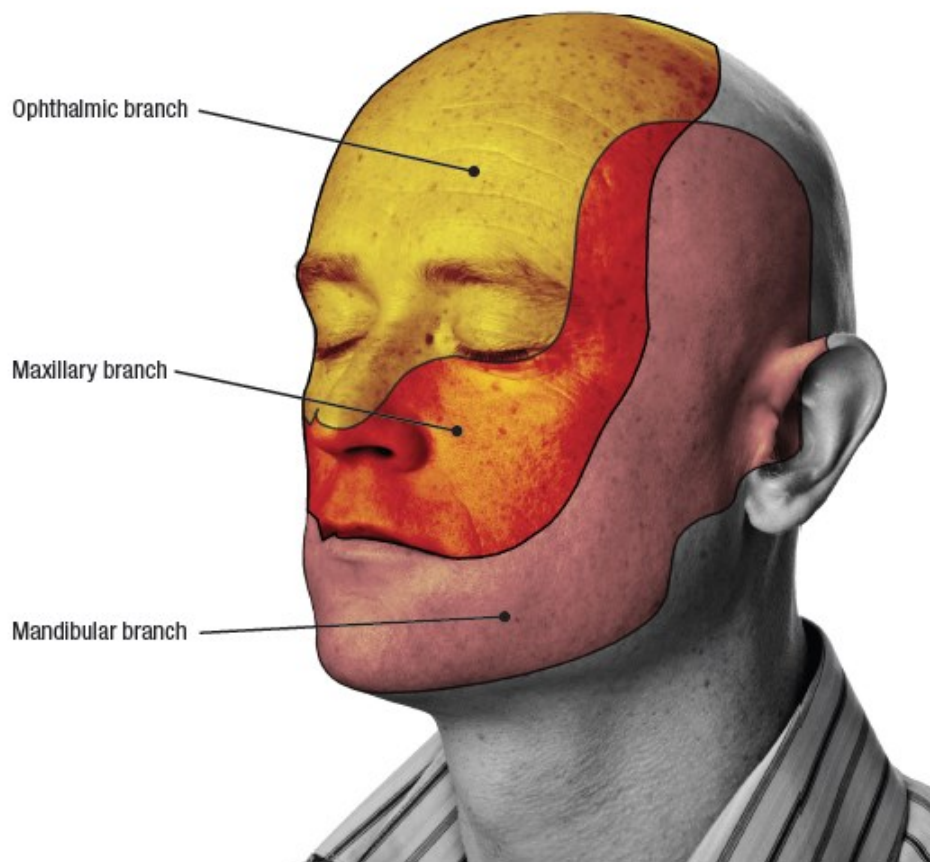


Figure 1. Distribution of the cranial nerve V: the ophthalmic nerve (V_1), the maxillary nerve (V_2), and the mandibular nerve (V_3).

Figure 1. Distribution du nerf crânien V : le nerf ophtalmique (V_1), le nerf maxillaire (V_2) et le nerf mandibulaire (V_3).

Les nerfs ophtalmique et maxillaire sont uniquement sensoriels, mais le nerf mandibulaire est à la fois sensoriel et moteur (permettant notamment la mastication). Ces trois nerfs convergent au niveau du ganglion trigéminal. Le ganglion trigéminal est analogue aux ganglions de la moelle épinière qui contiennent les corps cellulaires des fibres sensorielles ascendantes du corps. Du ganglion trigéminal, des neurones projettent ensuite vers le noyau trigéminal. Toutes les fibres sensorielles du nerf trijumeau (et de certains autres

nerfs crâniens) se terminent au niveau du noyau trigéminal : ce dernier contient ainsi une carte sensorielle du visage et de la bouche. Plus précisément, le noyau trigéminal reçoit de ces fibres des informations sensorielles de nature thermique, nociceptive, proprioceptive, mécanique et chimique.

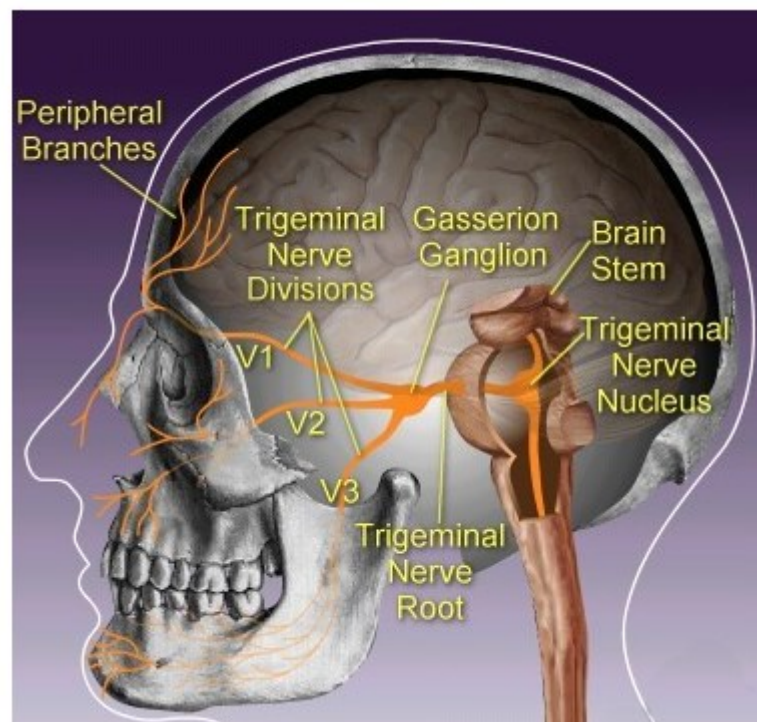


Figure 2. Réseau de connexions du nerf trijumeau.

Du noyau trigéminal, des neurones projettent vers les noyaux latéral et médian du thalamus pour ensuite atteindre le cortex somatosensoriel. Les régions du cortex somatosensoriel en lien avec V₁ sont représentées dans le gyrus postcentral alors que les régions en lien avec V₃ sont plutôt représentées dans le sillon central. De par les interactions entre l'olfaction et la gustation, il est à noter que les stimuli chimiosensoriels activent également certaines régions typiquement considérées comme olfactives et gustatives, telles

que l'insula, le cortex piriforme et le cortex orbitofrontal (Albrecht, Kopietz, Frasnelli, Wiesmann, Hummel & Lundstrom, 2010).

En effet, dans une méta-analyse des données de neuf études en imagerie fonctionnelle (tant en IRMf qu'en TEP), Albrecht et al. (2010) ont comparé l'activation cérébrale suite à une stimulation intranasale du système trigéminal à l'aide du dioxyde de carbone (CO₂) –un stimulus exclusivement trigéminal. Pour ce faire, ils ont eu recours à l'*activation likelihood estimation* (ALE), un outil de méta-analyse permettant d'identifier les activations cérébrales communes à plusieurs études. À travers les neuf études sur la stimulation trigéminal, des scores ALE significatifs ont été obtenus, signifiant ainsi des activations communes. Plus précisément, Albrecht et al. ont obtenu des scores significatifs au niveau du cortex piriforme, de l'insula et du cortex orbitofrontal – des aires cérébrales impliquées dans le traitement des stimuli chimiosensoriels. Fait intéressant, les scores ALE pour le système trigéminal ont ensuite été comparés aux scores ALE pour le système olfactif et cette comparaison a montré un chevauchement entre les deux activations. C'est donc dire que les aires cérébrales impliquées dans le traitement du CO₂ ne se limitent pas aux aires somatosensorielles.

Récepteurs trigéminaux

Jusqu'à récemment, il était admis que l'activation du système trigéminal était causée par des interactions non-spécifiques entre les composés chimiques des odeurs et les terminaisons nerveuses du nerf trijumeau (Cain & Murphy, 1980). Au fait, la plupart des odorants –à concentration suffisamment élevée– en viennent à activer le système trigéminal (Doty, Brugger, Jurs, Orndorff, Snyder & Lowry, 1978). Toutefois, suite à l'identification de certains récepteurs spécifiques aux fibres du nerf trijumeau, il est apparu évident que l'activation du système trigéminal était moins grossière qu'on ne l'eut cru et est à vrai dire

basée sur l'interaction entre un ligand et un récepteur trigéminal (Frasnelli, Hummel, Berg, Huang & Doty, 2011). Les récepteurs du système trigéminal –dits nocicepteurs polymodaux– sont localisés sur les terminaisons nerveuses libres des cavités buccale et nasale et sont non seulement sensibles aux stimuli chimiques mais également aux stimuli thermiques de l'environnement : lorsqu'activés par un stimulus, des sensations de fraîcheur, de chaleur, de picotement, de chatouillement et bien d'autres peuvent être perçues (Laska et al., 1997). En effet, les stimuli thermiques et chimiques activent des récepteurs spécifiques du nerf trijumeau, la plupart étant des canaux ioniques de la famille TRP (de l'anglais *transient receptor potential*). À titre d'exemple, le récepteur TRPA1 est fortement activé par l'aldéhyde cinnamique –l'ingrédient actif de la cannelle– et cette activation est ce qui prodigue une sensation de chaleur (Bandell, Story, Hwang, Viswanath, Eid, Petrus, Earley & Patapoutian, 2004). Cependant, ce même récepteur n'est pas activé par l'eucalyptol –l'ingrédient actif de l'eucalyptus– puisqu'il active plutôt le TRPM8, un autre récepteur qui prodigue quant à lui une sensation de fraîcheur (McKemy, Neuhauser & Julius, 2002). Outre ces deux récepteurs, le récepteur TRPV1 –activé par la capsaïcine (Caterina, Schumacher, Tominaga, Rosen, Levine & Julius, 1997) et le camphre (Xu, Blair & Clapham, 2005)– a également été identifié et procure des sensations de brûlure, de picotement et de chatouillement. Le camphre active également le récepteur TRPV3, un récepteur qui procure des sensations similaires au récepteur TRPV1 (Vogt-Eisele, Weber, Sherkheli, Vielhaber, Panten, Gisselman & Hatt, 2007).

Bref aperçu des méthodes d'évaluation du système trigéminal

De par ses interactions avec le système olfactif dans la perception des odeurs, l'évaluation du système trigéminal exclusivement s'avère une épreuve ardue. Quoiqu'il

semble évident que la manière la plus efficace d'exclure la composante olfactive lors de l'évaluation du système trigéminal serait l'emploi de stimuli exclusivement trigéminaux, cela s'avère complexe. À titre d'exemple, le dioxyde de carbone (CO₂) –potentiel stimulus trigéminal– doit être très concentré afin d'activer efficacement le système trigéminal (Shusterman & Balmes, 1997). Or, à une telle concentration, la présentation du stimulus se devrait d'être très brève. Ainsi, les stimuli employés dans l'évaluation du système trigéminal sont le plus souvent mixtes, c'est-à-dire qu'ils activent également le système olfactif.

La tâche de latéralisation est une méthode qui permet de délimiter la sensibilité du système trigéminal (Frasnelli, Schuster & Hummel, 2007). Dans cette tâche, les participants doivent tout simplement indiquer quelle narine (gauche ou droite) reçoit le stimulus. Alors qu'une narine reçoit le stimulus en question, l'autre reçoit un jet d'air inodore. Puisque les odeurs pures –stimuli qui n'activent que le système olfactif– ne peuvent être localisées (Kobal, Van Toller & Hummel, 1989), cette tâche cible ainsi l'action du système trigéminal.

La sensibilité du système trigéminal est évaluée à l'aide des potentiels évoqués trigéminaux (de l'anglais *trigeminal event related potentials* ou TERP) (Kobal, 1981; Kobal & Hummel, 1998). Les TERP consistent en la mesure d'une réponse cérébrale à une stimulation sensorielle qui active le système trigéminal, plus précisément la mesure des champs électromagnétiques produits par l'activation des neurones corticaux à l'aide d'électrodes positionnés sur le cuir chevelu. L'avantage d'une telle méthode dans l'évaluation de la sensibilité du système trigéminal est sans contredit une excellente résolution temporelle (de l'ordre des millisecondes). Cependant, la résolution spatiale est très faible. Contrairement aux TERP, les techniques d'imagerie cérébrale telles que l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) et la tomographie par émission de positrons (TEP) permettent d'observer les aires cérébrales activées spécifiquement lors d'une tâche, et ce avec une excellente résolution spatiale. Des études en IRMf et TEP ont d'ailleurs montré que des

stimuli trigéminaux activent également des régions typiquement olfactives, notamment le cortex cingulaire médian ainsi que les parties latérale et antérieure du cortex orbitofrontal (Albrecht et al., 2010 ; Boyle, Djordjevic, Olsson, Lundström & Jones-Gotman, 2009).

Le traitement des mélanges

Il est connu que le système olfactif et le système trigéminal contribuent tous deux à la perception de la très grande majorité des odeurs (Doty et al., 1978). C'est donc dire que les interactions entre ces deux systèmes ont indéniablement une influence importante sur la façon dont nous percevons (Cain and Murphy 1980; Frasnelli et al., 2011). De plus, il est admis que presque toutes les odeurs que nous rencontrons dans notre environnement sont en fait des mélanges. Ainsi, de par ses interactions avec le système olfactif dans notre expérience des odeurs, il est plus que pertinent de s'intéresser à la perception des mélanges de stimuli par le système trigéminal. Peu nombreux sont les écrits s'étant intéressés au traitement des mélanges par le système trigéminal spécifiquement. Néanmoins, considérant l'influence trigéminale dans la perception des odeurs et des saveurs, il est possible d'extraire des éléments intéressants des littératures au sujet du traitement des mélanges par les systèmes olfactif et gustatif.

Traitement des mélanges par le système olfactif

Pour le système olfactif, la littérature au sujet du traitement des mélanges d'odeurs par le cerveau humain a révélé que les stimuli olfactifs individuels sont traités différemment que les mélanges de stimuli olfactifs. En effet, non seulement les mélanges olfactifs activent

davantage d'aires cérébrales que les stimuli olfactifs individuels, ils activent aussi certaines aires qui semblent leur être spécifiques (Boyle et al., 2009). Une étude en TEP de Boyle et al. (2009) s'est penchée sur la question du traitement de mélanges binaires d'odeurs en comparaison à leurs composantes individuelles et s'est également intéressée à l'activation cérébrale découlant de ces deux stimulations. À l'aide de pyridine et de citral, des solutions de pyridine, de citral et des mélanges des deux stimuli ont été créées dans des proportions variant de 10% :90% à 90%/10% (50% :50% représentant le mélange le plus « impur »). En comparant les mélanges binaires à leurs composantes, les résultats obtenus par Boyle et al. suggèrent une activation au niveau du cortex cingulaire gauche, du cortex pariétal droit, du cortex frontal supérieur en plus d'une activation bilatérale au niveau des cortex orbitofrontaux antérieur et latéral. Plus précisément, la partie latérale du cortex orbitofrontal semble répondre spécifiquement à l'impureté d'un mélange de stimuli de façon graduée alors que sa partie antérieure contribuerait plus modestement à la simple détection de la présence d'un mélange de stimuli. Outre ces résultats, cette étude a également montré que les mélanges d'odeurs recrutent davantage de régions corticales que leurs composantes individuelles. Aussi, cette étude a montré que les régions olfactives de haut niveau (le cortex orbitofrontal notamment) répondaient préférentiellement aux mélanges d'odeurs.

En accord avec cet écrit, des effets spécifiques aux mélanges d'odeurs dans le système olfactif ont été rapportés dans de nombreuses études. Dans une revue des études sur le sujet de la perception des mélanges d'odeurs, Berglund, Berglund & Lindvall (1976) soulignent l'importance de prendre en considération trois éléments du mélange perçu soit son type (homogène ou hétérogène), sa qualité et son intensité. En ce qui a trait au type de mélange, un mélange est dit homogène lorsqu'il devient impossible d'en distinguer les composantes une fois mélangées. Un mélange est dit hétérogène lorsqu'il demeure possible de distinguer ses composantes même une fois mélangées. Pour ce qui est de la qualité du mélange, un mélange

homogène crée une toute nouvelle odeur différente de l'odeur de ses composantes (mais néanmoins similaire). Un mélange hétérogène quant à lui peut posséder l'odeur d'une ou l'autre de ses composantes ou même des deux simultanément. Il est même possible dans ce cas qu'une des deux composantes masque complètement l'autre. Le dernier élément –et le plus intéressant– à considérer est l'intensité perçue du mélange. Que le mélange soit homogène/hétérogène, il est théoriquement possible d'observer un effet d'hyper-additivité/synergisme (le mélange est perçu comme plus intense que la somme de ses composantes), d'addition complète/indépendance (le mélange est perçu comme aussi intense que la somme de ses composantes) ou d'hypo-additivité/antagonisme (le mélange est perçu comme moins intense que la somme de ses composantes). Berglund et al. rapportent que, dans la littérature, il est le plus souvent question d'hypo-additivité. Ce résultat a d'ailleurs été retrouvé dans Berglund & Olsson (1993) en étudiant la perception de l'intensité de 41 mélanges et de leurs composantes (la pyridine et le diméthylsulfure).

Une étude de Cashion, Livermore & Hummel (2006) a également obtenu des résultats supportant un effet de suppression propre aux mélanges. Afin d'évaluer l'impact de l'interaction entre l'activation olfactive et trigéminal dans la perception des mélanges d'odeurs, six odeurs ont été sélectionnées et séparées en trois catégories selon leur activation trigéminal. La première catégorie (très faible activation trigéminal) était formée de la vanilline et de l'alcool phényléthylique, la deuxième catégorie (moyenne activation trigéminal) était formée du salicylate de méthyle et du trans-anéthol et finalement, la troisième catégorie (forte activation trigéminal) était formée du linalol et du menthol. Cashion et al. avaient émis comme hypothèse que les stimuli dont l'activation trigéminal était la plus forte auraient un effet de suppression sur l'intensité des stimuli dont l'activation trigéminal serait plus faible dans des mélanges binaires. Quoique leur hypothèse de base

n'ait pas été vérifiée par leurs résultats, la suppression observée au sein des mélanges binaires dans le contexte de cette étude a du moins mis en lumière la complexité des interactions entre les systèmes olfactif et trigéminal dans la perception des mélanges et renforcé le besoin d'études supplémentaires pour en clarifier les mécanismes.

Une étude de Sinding, Thomas-Danguin, Chambault, Béno, Dosne, Chabanet, Schaal & Coureaud (2013) a comparé la perception de trois mélanges formés chacun de six odeurs chez l'humain et des lapins nouveau-nés. Les résultats obtenus dans cette étude soulignent l'importance de la proportion des composantes dans la perception d'un mélange chez l'humain. Donc, la perception des différentes composantes d'un mélange peut être plus ou moins supprimée et, par conséquent, la perception du mélange en soi peut grandement varier (Sinding et al., 2013).

Traitement des mélanges par le système gustatif

En ce qui a trait au système gustatif, la littérature au sujet de la perception des mélanges de stimuli gustatifs est non seulement limitée, mais souvent même contradictoire (Keast & Breslin, 2003). En effet, nombreuses sont les issues possibles lorsque plusieurs stimuli gustatifs distincts sont mélangés et plusieurs facteurs—notamment la qualité et l'intensité des stimuli gustatifs choisis— ont un impact considérable sur les résultats obtenus. À titre d'exemple, un mélange de chlorure de sodium (NaCl) et de chlorure de potassium (KCl) à petites concentrations a montré un effet d'addition de l'intensité (intensité globale supérieure à l'intensité individuelle des deux stimuli) alors que le même mélange à des concentrations élevées a plutôt montré un effet de suppression (intensité globale inférieure à l'intensité individuelle des deux stimuli) (Keast & Breslin, 2003).

Traitement des mélanges par le système trigéminal

Puisque la stimulation chimique des cavités nasale et buccale active le nerf trijumeau en plus des nerfs olfactif et gustatif, l'information trigéminal fait partie intégrante de notre perception des odeurs et des saveurs et est cruciale dans notre compréhension de la perception des mélanges. Néanmoins, la littérature au sujet de la perception des mélanges par le système trigéminal est quasi-inexistante.

Une étude récente a su montrer qu'un mélange d'agonistes de différents récepteurs trigéminaux est perçu comme plus intense qu'un mélange d'agonistes du même récepteur (Frasnelli, Albrecht, Bryant & Lundström, 2011). En effet, en comparant un mélange de menthol et d'eucalyptol (deux agonistes du récepteur trigéminal TRPM8) et un mélange de menthol et d'huile de moutarde (agonistes des récepteurs TRPM8 et TRPA1 respectivement), Frasnelli et al. ont montré une intensité supérieure pour un mélange d'agonistes de différents récepteurs trigéminaux. De plus, le mélange d'agonistes du même récepteur trigéminal a été latéralisé avec moins de succès que le mélange d'agonistes de récepteurs différents. L'étude de Frasnelli et al. est la seule étude à date traitant spécifiquement du système trigéminal dans le traitement des mélanges. Il est intéressant de noter que, dans cette étude, seule la dimension de l'intensité a été étudiée.

Une étude plus récente sur l'intensité perçue de mélanges et de combinaisons d'eugénoles et de L-carvone dans une proportion de 50% :50% a révélé que le mode de présentation des odeurs semble également influencer la perception (Schütze, Negoias, Olsson & Hummel, 2014). Dans cette étude, une combinaison (appelée *dichorhnic mixture*) était définie comme la présentation dans la narine gauche d'un stimulus (par exemple, l'eugénoles) alors que la narine droite recevait l'autre stimulus (donc, le L-carvone). Un mélange (appelé *physical mixture*) consistait plutôt en la présentation d'un mélange des stimuli à une narine

alors que l'autre recevait un jet d'air. Schütze et al. ont obtenu comme résultat principal que l'intensité perçue était supérieure pour les combinaisons que pour les mélanges. Fait intéressant, quoiqu'une tâche de latéralisation ait été réalisée avant l'étude principale afin d'éliminer l'influence du système trigéminal, les stimuli choisis ont tous deux une composante trigéminal bien connue (eugénol: Wise, Wysocky, Lundström, 2012; carvone: Bandell et al., 2004).

Questions & hypothèses de recherche

Dans le contexte de ce projet, deux études ont été réalisées dans le but d'en venir à une meilleure compréhension de la perception trigéminal en répondant plus spécifiquement à deux questions de recherche. Tout d'abord, est-il possible de déterminer des dimensions pertinentes à l'étude de la perception trigéminal? En lien avec cette première question de recherche, nous avons posé l'hypothèse qu'il existe bel et bien des dimensions qui permettent d'évaluer efficacement la perception trigéminal. En suivant cette première hypothèse, une deuxième question de recherche a été soulevée. En tenant compte de ces dimensions, la perception de mélanges d'odeurs se distingue-t-elle de la perception de combinaisons d'odeurs? En réponse à cette deuxième question, nous avons posé l'hypothèse que les mélanges et les combinaisons d'odeurs sont perçus de façon distincte par le système trigéminal et que ce traitement différentiel est apparent sur les différentes dimensions proposées dans la première étude.

Perception of trigeminal mixtures

Renée-Pier Filiou¹, Franco Lepore¹, Bruce Bryant², Johan Ludstrom^{2,3}, Johannes Frasnelli^{1,4}

1: CERNEC, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

2: Monell Chemical Senses Center, Philadelphia, PA, USA

3: Department of Clinical Neuroscience, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

4: Centre de Recherche de l'Hôpital du Sacre Coeur de Montréal, Montréal, QC, Canada

Correspondence to be sent to: Johannes Frasnelli, CERNEC, Department of Psychology, F-480, Pavillon Marie-Victorin, Université de Montréal, 90 Avenue Vincent d'Indy, Montréal, Quebec H2V 2S9, Canada.

Short title: Perception of trigeminal mixtures

Abstract

The trigeminal system – along with smell and taste – is a chemical sense that allows the perception of chemosensory information in our environment. However, contrary to smell and taste, we lack knowledge of the trigeminal processing of mixtures. We therefore investigated trigeminal perception using mixtures of three relatively receptor specific agonists (eucalyptol, TRPM8 agonist; cinnamaldehyde, TRPA1 agonist and camphor, TRPV1 agonist) together with one control odor (phenyl ethyl alcohol or PEA) in different proportions to determine basic dimensions of trigeminal perception. Four main dimensions were proven relevant to trigeminal perception: intensity, warmth sensation, cold sensation and pain sensation. Subsequently, we used these dimensions to investigate perception of binary mixtures of trigeminal stimuli using different concentrations of a cooling stimulus (eucalyptol) with a stimulus which evokes warmth perception (cinnamaldehyde). Results showed mixtures generally yielded higher ratings than combinations on the trigeminal dimensions “intensity”, “warm” and “painful” whereas combinations yielded higher ratings than mixtures on the trigeminal dimension “cold”. These results suggest dimension specific interactions in the perception of trigeminal mixtures. For the mixtures we used, we reach the conclusion of additivity for the dimensions “intensity”, “warm” and “painful”; we observed suppression of the cold perception of both stimuli in mixtures suggesting particular interactions which may take place on peripheral or central levels.

Keywords: trigeminal system, binary mixtures, smell, chemosensory perception

Introduction

The trigeminal system – along with smell and taste – is a chemical sense; its receptors line the nasal and oral cavities thus allowing the perception of chemosensory information from our environment. Both the olfactory and trigeminal systems contribute to the perception of odorants. The trigeminal system, similar to the sense of smell, is activated by volatile substances. In fact, most odorants activate the trigeminal system (Doty et al., 1978). All odors do not equally activate the receptors of the trigeminal system though: some odors are very active trigeminal stimuli whereas others need to be in considerably higher concentrations in order to achieve a trigeminal activation (Frasnelli et al., 2011). When the trigeminal system is activated, freshness, warmth, stinging, tickling and many more sensations may be perceived (Laska et al., 1997; Frasnelli et al., 2010). Though for a long time it was believed that the activation of the trigeminal system was caused by non-specific interactions between the chemical compounds of odors and the endings of the trigeminal nerve, recent identification of trigeminal receptors suggests the trigeminal activation is quite specific and based on the interaction of a ligand with a receptor (Caterina et al., 1997; McKemy et al., 2002; Bandell et al., 2004; Xu et al., 2005). For example, the trigeminal receptor TRPA1 is highly activated by cinnamaldehyde – the active ingredient of cinnamon – and its activation produces a sensation of warmth (Bandell et al., 2004). This particular receptor is not activated by eucalyptol – the active ingredient of eucalyptus – which however activates the TRPM8 receptor and by this produces a sensation of freshness (McKemy et al., 2002). Capsaicin (Caterina et al., 1997) and camphor-activated TRPV1 receptor (Xu et al., 2005) has also been identified and elicits burning, stinging and tickling sensations.

When it comes to the olfactory system, studies on the processing of odors by the human brain have revealed that odorant mixtures are treated differently than individual odorants. Odorant mixtures not only recruit more brain areas than individual odorants, they also activate high order olfactory regions that are specialized in mixture processing (Boyle et al., 2009). The lateral orbitofrontal cortex seems to respond specifically to the impurity of a mixture of odorants in a graduated manner whereas the anterior orbitofrontal cortex is limited to the detection of odorant mixtures (Boyle et al., 2009). In accordance with this finding, mixture-specific effects in the olfactory system have been reported in many studies. Most studies suggest that the global intensity of a binary mixture of odorants is equivalent to the sum of the single compounds' intensity, even if both compounds are perceptually different (Berglund et al., 1976; Berglund & Olsson, 1993). Some studies suggest otherwise: the intensity of a mixture of odorants would actually be less than the sum of the single compounds' intensity (Cashion et al., 2006). Similar findings are also reported in gustation. Binary taste mixtures of similar taste quality (e.g., salty) may show effects of enhancement or suppression. For example, Keast and Breslin (2003) described a mixture suppression effect in a binary mixture of NaCl and KCl at high concentrations whereas the same mixture at low concentrations lead to an enhancement effect. On the other hand, binary taste mixtures of different taste quality (e.g., sweet and sour) may show enhancement, suppression or no effect (Keast & Breslin, 2003). Suppression also has an impact on olfactory perception: perception of the different odorants in a mixture can be more or less suppressed and, therefore, affect the perception of the mixture itself (Sinding et al., 2013).

Considering mixture-specific effects in the other chemical senses as well as the interactions between the olfactory, gustatory and trigeminal systems, the processing of stimulus mixtures in the trigeminal system is of great interest and undeniably relevant to our

understanding of our experience of odors, which is the result of olfactory and trigeminal stimulation. In contrast to our knowledge of the olfactory system, our understanding of trigeminal processing of stimulus mixtures is quite limited. A study showed that a mixture of agonists of different trigeminal receptors was perceived as slightly, but significantly more intense than a mixture of agonists of the same receptor (Frasnelli et al., 2011). It is interesting to note that in this study intensity was the only dimension studied, leaving out all other sensations of trigeminal origin. Another recent study on the perceived intensity of odor combinations and mixtures using eugenol and L-carvone revealed that the characteristics of odor presentation also seem to affect perception. For combinations (or dichorhnic mixtures), one nostril would receive one odorant (e.g., eugenol) while the other nostril would receive the other (L-carvone) simultaneously. As for the physical mixtures, participants would receive a mixture of both stimuli in a 50%/50% proportion in one nostril and no odor in the other nostril. As a main result, perceived intensity for combinations was superior to that of mixtures (Schütze et al., 2014). Comparing combinations and mixtures of trigeminal stimuli makes it possible to differentiate between peripheral and central interactions (Cain & Murphy, 1980).

In order to better understand trigeminal perception, we devised two studies to examine the processing of stimulus mixtures and combinations by the trigeminal system. Our first task was to determine basic dimensions of trigeminal perception. To do so, we used mixtures of three relatively specific receptor agonists together with one control odor in different proportions and assessed perception using different trigeminal descriptors. By doing a factor analysis we determined four basic factors, which were then used in the second study to investigate perception of binary mixtures of trigeminal stimuli using different concentrations of a cooling stimulus with a stimulus which evokes warmth perception. We hypothesized that

differences between mixtures and combinations are observable and specific on all basic dimensions of trigeminal perception.

Study 1

Pilot studies

Before proceeding with the first and second studies, three pilot studies with a total of 34 participants were performed to determine isointense concentrations of four stimuli, namely (1) eucalyptol (eucalyptus odor), (2) cinnamaldehyde (cinnamon odor), (3) camphor (camphor odor), and (4) phenyl ethyl alcohol (PEA, rose odor). Three of the stimuli were chosen because they are relatively specific agonists of trigeminal chemoreceptors; eucalyptol (TRPM8 agonist; McKemy et al., 2002), cinnamaldehyde (TPRA1 agonist; Bandell et al., 2004) and camphor (TRPV1 agonist, Xu et al., 2005; Macpherson et al., 2006). PEA is a relatively pure odorant and therefore activates the olfactory sense only and not the trigeminal system (Doty et al., 1978), at least in low concentrations (Frasnelli et al., 2007). Using propylene glycol as diluent, four isointense base solutions were then prepared using the concentrations determined by the pilot studies that would then be used in the first study (Table I).

Table I: Manufacturers and concentrations of the eucalyptol, cinnamaldehyde, camphor and PEA base solutions used in the first study.

Stimuli	Manufacturers	Concentration of stock solutions
Eucalyptol (eucalyptus)	Galenova, St-Hyacinthe, QC	10%
Cinnamaldehyde (cinnamon)	SAFC, St-Louis, MO	80%
Camphor	Galenova, St-Hyacinthe, QC	8%
PEA (rose)	SAFC, St-Louis, MO	100%

Methods

Participants. Thirty-four participants (9 men) aged 18-35 years old (average of 25 ± 4 years) were recruited using posters displayed throughout the Psychology Department of the Université de Montréal. Compensation of \$10 was offered to each participant for their participation. Before taking part in the study, consent was given by each participant. At the time of testing, no participant declared suffering from any medical condition or taking any type of medication that could affect their sense of smell. We ascertained normal olfactory function by using the *Sniffin' Sticks* identification test (Kobal et al., 1996). IRB approval was obtained through the Comité d'éthique de la recherche de la Faculté des arts et des sciences (CERFAS) of the Université de Montréal.

Stimuli. We used isointense stock solutions of eucalyptol, cinnamaldehyde, phenyl ethyl alcohol and camphor (Concentration and manufacturers see Table I). Of these we prepared binary mixtures in proportions of 100%:0%, 75%:25%, 50%:50%, 25%:75% and 0%:100% yielding a total of 18 stimuli (Table II).

Table II: Stimuli made from rose odor (ROSE), cinnamon odor (CIN), eucalyptus odor (EUC) and camphor odor (CAM) in predetermined proportions used in the first study.

Pure stimuli	Mixtures		
	75%:25%	50%:50%	25%:75%
100%			
ROSE	ROSE:CIN	ROSE:CIN	ROSE:CIN
CIN	ROSE:CAM	ROSE:CAM	ROSE:CAM
CAM	ROSE:EUC	ROSE:EUC	ROSE:EUC
EUC	CIN:CAM	CIN:CAM	CIN:CAM
	CIN:EUC	CIN:EUC	CIN:EUC
	EUC:CAM	EUC:CAM	EUC:CAM

Stimulus presentation. From the literature (von Skramlik, 1926; Laska et al., 1997) we selected 12 descriptors of trigeminal perception. These were: “tickling“, “warm“, “cold“, “irritating“, “refreshing“, “stinging“, “burning“, “pungent“, “astringent“, “painful“, and “tingling“. To these, we added “intensity” as an overall dimension. Participants were asked to smell and rate the eighteen stimuli on Likert scales graded from 0 to 10 (with “0” being the smallest value and “10” being the highest value) for each 12 descriptors. To evaluate a stimulus, participants first had to remove the lid of the amber glass bottle handed to them and bring it up to approximately 2cm under their nose. The participants then had to breathe in naturally and rate the stimulus on each dimension simply by circling the corresponding number on the scale of 0 to 10. After rating a stimulus, a delay of minimum 30 seconds was given in order to avoid adaptation or fatigue. If a participant ever felt the need to smell a stimulus again, the timer was set back to zero to allow a full 30 second break after the second presentation. In order to avoid a presentation bias, we presented stimuli in a randomized order to participants.

Statistics. Using SPSS 21.0 we performed a principal component analysis (PCA) to extract factors underlying the 12 trigeminal dimensions we used. For each stimulus we obtained one evaluation per subject, containing 12 dimensions, totalling in 18 evaluations per participant. We ran the PCA on the total of 612 (18 evaluation * 34 participants) by treating evaluations as independent. By using the correlation method, we applied a varimax rotation in order to extract four factors (25 iterations).

Results

The PCA allowed us to extract factors explaining 45.8%, 14.8%, 9.5% and 6.8% of the variance, respectively. The 12 dimensions loaded differently on the four factors (Table III). In fact, several dimensions loaded strongly ($r > 0.6$) on the first factor, namely “prickly” ($r = 0.82$), “painful” ($r = 0.79$), “astringent” ($r = 0.76$), “burning” ($r = 0.69$), “sharp” ($r = 0.67$), “scratchy” ($r = 0.67$), and “stinging” ($r = 0.62$). This first factor was therefore driven mainly by nociceptive sensations and labelled accordingly. Two dimensions loaded strongly on the second factor, namely “fresh” ($r = 0.91$) and “cooling” ($r = 0.87$). Factors 3 and 4 were loaded upon by one dimension each, namely “warm” ($r = 0.87$) and “intensity” ($r = 0.87$), respectively. The only dimension not loading strongly on one of these four factors was “tickling”, which loaded moderately ($0.39 < r < 0.58$) on factors 1-3.

Table III: The 12 trigeminal dimensions studied along with the factor loadings ($r>0.6$) for the four factors

Trigeminal dimensions	Factors			
	1	2	3	4
Prickly	0.82			
Painful	0.79			
Astringent	0.76			
Burning	0.69			
Sharp	0.67			
Scratchy	0.67			
Stinging	0.62			
Fresh		0.91		
Cooling		0.87		
Warm			0.87	
Intensity				0.87
Tickling				

Thus these factors describe different aspects of trigeminal perception: factor 1 constitutes of the nociceptive aspect of trigeminal perception, whereas factors 2 and 3 refer to temperature perception (cooling and warming, respectively). Factor 4 is associated with intensity and therefore seems to be associated with the concentration of the chemical. The first study therefore suggests that 4 main factors underlie trigeminal perception; we labelled these factors “painful”, “cooling”, “warming”, and “intense” and used them in Study 2.

Study 2

Methods

Participants. Fifty participants (25 men) aged 18-35 years old (average 24 ± 4 years) were recruited using posters displayed throughout the Psychology Department of the

Université de Montréal. Compensation of \$10 was offered to each participant for their participation. Before taking part in the study, consent was given by each participant. At the time of testing, no participant declared suffering from any medical condition or taking any type of medication that could affect their sense of smell. We ascertained normal olfactory function in all participants by using the UPSIT (Doty et al., 1984): participants completed two of the four 10-question booklets and the cut-off was set at a score of 11/20. IRB approval was obtained through the Comité d'éthique de la recherche de la Faculté des arts et des sciences (CERFAS) of the Université de Montréal.

Stimuli. We used adjusted isointense stock solutions of eucalyptol and cinnamaldehyde (Table IV). From these stock solutions, we created 10 combinations and 10 mixtures in predetermined proportions. We selected these two stimuli because of their specific trigeminal receptor activation which would allow us to study their interactions when in different proportions and potentially delimitate the sensitivity of the trigeminal system.

Table IV : Concentrations of the eucalyptol and cinnamon solutions used for the second study.

Stimuli	Concentration of the solutions
Eucalyptol (eucalyptus)	5%
Cinnamaldehyde (cinnamon)	80%

Note: Following the first study, the concentration of eucalyptol was adjusted after being compared to cinnamaldehyde as the only comparison point.

We provided our participants with the following mixtures and combinations of stimuli.

A **mixture** is defined as a pair of stimuli presented in a simultaneous, birhinal manner in which each stimulus contains the proportion that is studied: this means both the left and

right nostrils receive the same stimulus. If the studied proportion is 80%cinamon /20%eucalyptus, the stimuli would be 40%cinamon/10%eucalyptus in the left nostril and 40%cinamon/10%eucalyptus in the right nostril (Table V).

A **combination**, on the other hand, is defined as a pair of stimuli presented in a simultaneous and birhinal manner in which each nostril receives a different stimulus. For the same proportion (80%cinamon/20%eucalyptus), the left nostril would receive 80% cinamon and the right one, 20% eucalyptus.

In both conditions, the sum of the stimuli would always be 100%, thus making sure that the total mass of stimulating molecules was equal between both conditions (Table V).

Table V: Combinations and mixtures using cinamon (CIN) and eucalyptus (EUC) in the second study.

Stimulation	Combinations		Mixtures	
	Left nostril	Right nostril	Left nostril	Right nostril
1	20%CIN	80%EUC	40%EUC/10%CIN	40%EUC/10%CIN
2	40%CIN	60%EUC	10%EUC/40%CIN	10%EUC/40%CIN
3	50%CIN	50%EUC	30%EUC/20%CIN	30%EUC/20%CIN
4	60%CIN	40%EUC	20%EUC/30%CIN	20%EUC/30%CIN
5	80%CIN	20%EUC	25%EUC/25%CIN	25%EUC/25%CIN

Note: Since the 5 combinations and the 5 mixtures were first presented in an order and then inverted, participants rated 10 combinations and 10 mixtures, for a total of 20 stimuli.

Stimulus presentation. For the second study, we adapted a different stimulation paradigm, in order to investigate both odor mixtures and odor combinations. Specifically, stimuli were now smelled through small plastic tubes inserted in the lid of the bottles, which allowed for stimulating both nostrils separately. Each lid was pierced to create two openings

in which tubes were placed and glued hermetically with hot glue. Of the two tubes, one was shorter to allow each participant to add their own extension. This extension, which was disposable and fit snugly into participants' nostrils, made it possible for participants to smell the stimuli hygienically and with ease. The other tube was longer in order to allow air to come in and out as the participants would breathe in the stimuli. Also, the Likert scales were replaced by visual analog scales to allow participants a more precise evaluation of the stimuli, one that would not be limited to the discrete numeric values on the scales.

Four randomized series were created and assigned randomly to the participants. For each presentation, we handed the participant two bottles and specified which would go in the left nostril and which would go in the right nostril. The participant then placed his extensions himself on both lids, took one bottle in each hand and brought them close enough to his nostrils so that the extensions would sit comfortably in them. The longer tube of each lid would therefore rest on the participant's cheeks letting air in and out easily. The participant was then instructed to take a sniff and thus smell both bottles simultaneously and in a natural manner.

After each presentation, the participants were asked to evaluate the stimulus using four separate visual analog scales; one for each "painful", "cold", "warm" and "intense". Once again, after rating a stimulus, a delay of minimum 30 seconds was given to the participant in order to avoid adaptation or fatigue. If a participant ever felt the need to smell a stimulus again, the timer was set back to zero to allow a full 30 second break after the second presentation. In order to avoid a presentation bias, we presented stimuli in a randomized order to participants.

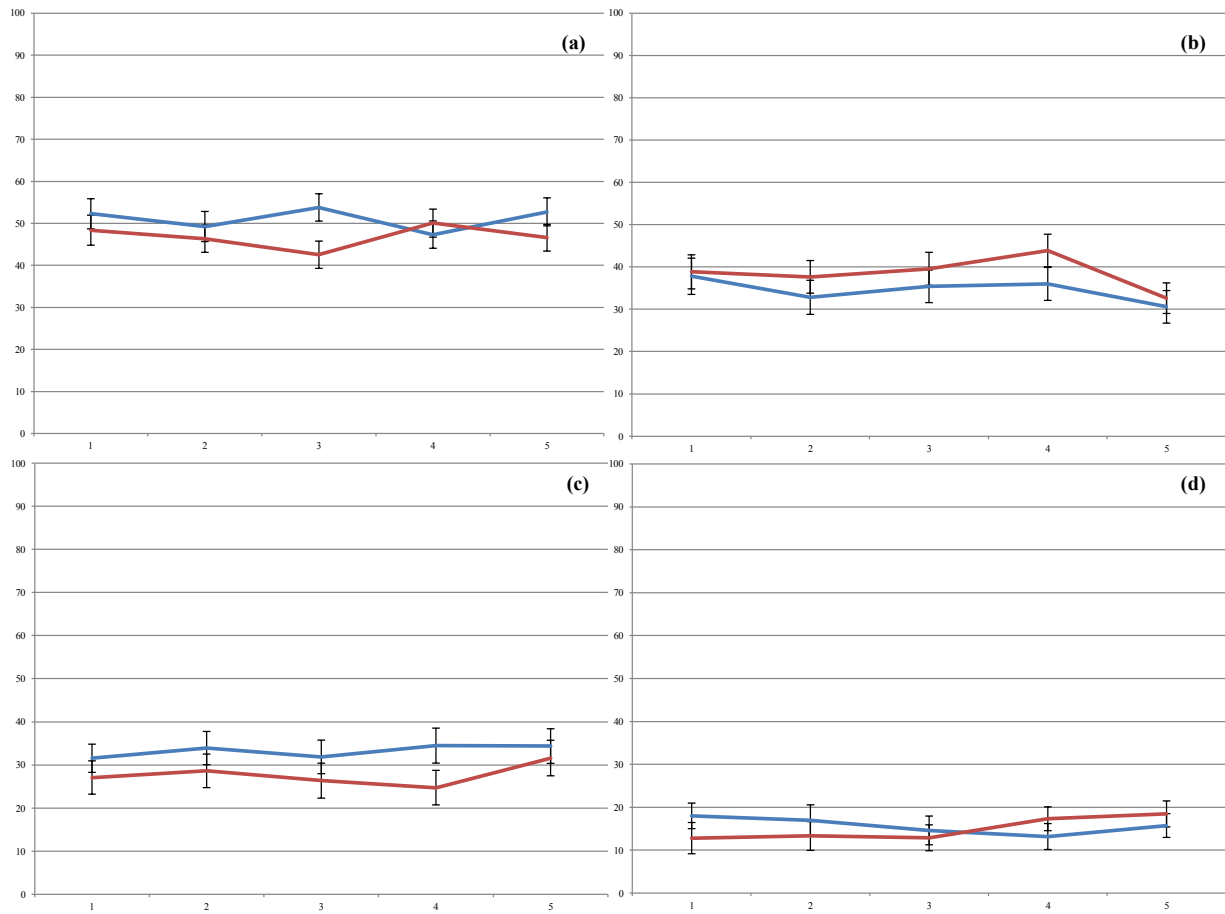
Statistics. We compared mixtures (both nostrils receive the same stimuli) and combinations (one nostril receives one odorant; the other nostril receives the other odorant), after we had averaged the ratings for both sides. Specifically, we used *dimension* (4 levels: painful; warm; cooling, intense), *stimulation* (2 levels: mixture; combination), and *ratio* (5 levels: 80E:20C; 60E:40C; 50E:50C; 40E:60C; 20E:80C) as within subject factors in a repeated measures ANOVA.

Results

The ANOVA revealed a significant effect of *stimulation* ($F[1,49]=6.0$; $p=0.018$; $\eta^2=0.11$), indicating that on average mixtures (33.6 ± 2.0) led to higher ratings than combinations (31.4 ± 1.9).

We further observed a significant effect of *dimension* ($F[3,147]=62.3$; $p<0.001$, $\eta^2=0.56$), indicating that the stimuli evoked different ratings across the four dimensions (“painful”: 14.3 ± 2.2 ; “warm”: 30.4 ± 2.8 ; “cooling”: 36.5 ± 2.6 ; “intense”: 48.7 ± 2.2 ; all significantly different from each other $p<0.05$). The next factor, *ratio*, failed to produce a significant effect after Greenhouse-Geisser correction (Figure 3).

Figure 3: Direct comparison of odor mixtures and combinations on the four dimensions of trigeminal perception

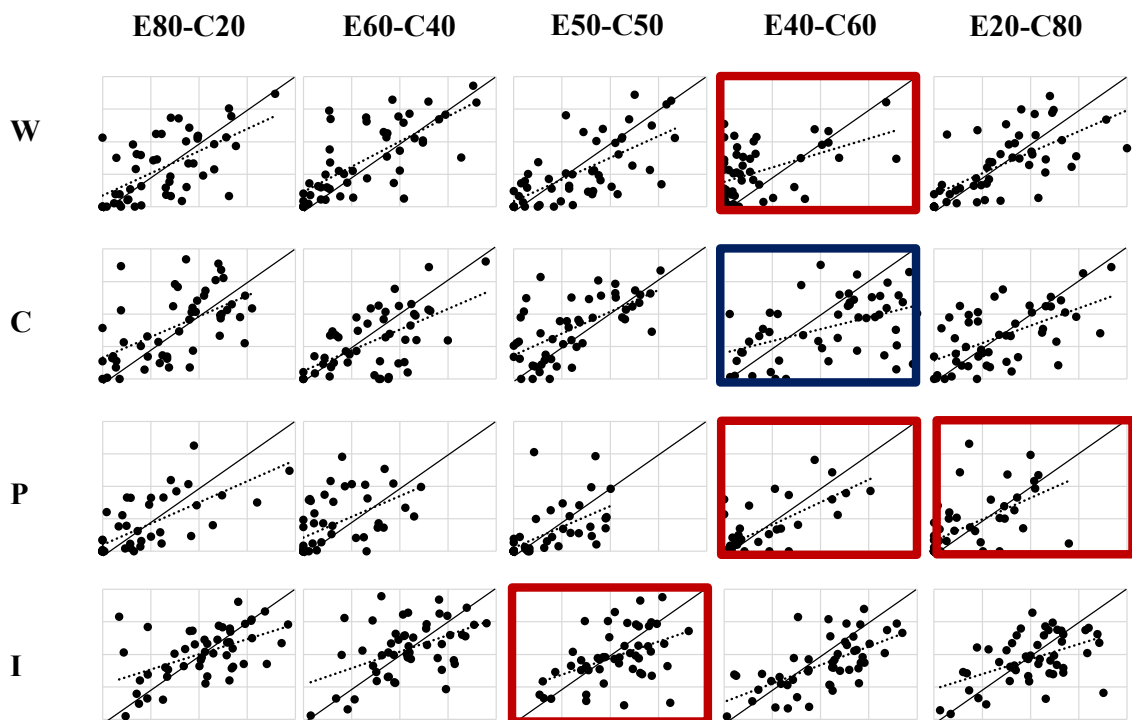


Direct comparison of odor mixtures (blue) and combinations (red) on the trigeminal dimensions of (a) intensity , (b) cold sensation, (c) warmth sensation and (d) nociception/pain sensation. X-axis represents proportions used: (1) EUC80:CIN20, (2) EUC60:CIN40, (3) EUC50:CIN50, (4) EUC40:CIN60, (5) EUC20:CIN80.

We observed a significant interaction *dimension* and *stimulation* ($F[3,147]=12.7$; $p<0.001$; $\eta^2=0.21$). To break down this interaction we calculated a separate ANOVA for each of the four dimensions. Here, we observed that *stimulation* had an effect on (1.) the “painful” dimension ($F[1,49]=5.4$; $p=0.025$; $\eta^2=0.1$): mixtures (15.7 ± 2.3) evoked higher pain ratings than combinations (13.0 ± 2.2), (2.) the “warm” dimension ($F[1,49]=13.0$; $p=0.001$; $\eta^2=0.21$); mixtures (33.25 ± 3.0) were perceived as warmer than combinations (27.6 ± 2.7), and (3.) the “intense” dimension ($F[1,49]=10.1$; $p=0.003$; $\eta^2=0.17$); mixtures

(51.1 ± 2.3) were perceived as more intense than combinations (46.3 ± 2.4). We also observed an effect for (4.) the “cooling” dimension ($F[1,49]=8.6$; $p=0.005$; $\eta^2=0.15$); however the effect was reversed: mixtures (34.5 ± 2.6) were perceived as less cool than combinations (38.5 ± 2.7) (Figure 4).

Figure 4: Ratings for 18 trigeminal stimuli for all participants.



Scores for equal mixtures (x-axis) and combinations (y-axis) were aggregated for both nostrils (e.g.: [left 80% eucalyptol; right: 20% cinnamaldehyde] and [[left; 20% cinnamaldehyde right: 80% eucalyptol] were aggregated). Solid line represents equal ratings for mixtures and combinations; dotted line indicates regression over all participants. Dots below the solid line indicate higher ratings for combinations; dots above the line indicate higher ratings for mixtures. Boxes indicate significant differences between mixtures and combinations in posthoc tests (red: higher scores for mixtures; blue: higher scores for combinations). W: warm; C: cold; P: painful; I: intensity.

Discussion

In the present study, we devised two experiments to better understand the processing of trigeminal mixtures in order to further our comprehension of trigeminal perception. We first used mixtures of three relatively receptor specific agonists together with one control odor in different proportions to determine basic dimensions of trigeminal perception. From the twelve trigeminal descriptors studied, four main dimensions proved relevant to trigeminal perception: intensity, warmth sensation, cold sensation and nociception (pain). Subsequently, we used these dimensions to investigate perception of binary mixtures of trigeminal stimuli using different concentrations of a cooling stimulus (eucalyptol) with a stimulus which evokes warmth perception (cinnamaldehyde). We reached the main conclusion that differences between mixtures and combinations are observable on all basic dimensions of trigeminal perception. Specifically our results showed that mixtures generally yielded higher ratings than combinations on the trigeminal dimensions “intensity”, “warm” and “painful” whereas combinations yielded higher ratings than mixtures on the trigeminal dimension “cold”.

In our first study, mixtures of eucalyptol (TRPM8 agonist), cinnamaldehyde (TRPA1 agonist) and camphor (TRPV1 agonist) along with PEA (pure odorant) in different proportions were rated on twelve descriptors of trigeminal perception. Our results suggest warmth sensation, cold sensation, nociception and intensity as main dimensions of trigeminal perception. When it comes to the thermal dimensions of trigeminal perception, we know temperature-activated transient receptor potential channels (or thermoTRPs; Macpherson et al., 2006) to also be activated by specific chemicals. Similar to menthol (McKemy et al., 2002), eucalyptol modulates cold sensation through the activation of TRPM8, a menthol and cold-activated TRP channel. Analogously, cinnamaldehyde modulates warmth sensation

through the activation of TRPA1, a TRP channel activated by heat as well as pungent compounds and noxious cold (McKemy et al., 2002; Story et al., 2003; Macpherson et al., 2006) and camphor activates TRPV1 (Xu et al., 2005 ; Macpherson et al., 2006). Therefore, activation of thermoTRPs seems to underlie the thermal dimensions of trigeminal perception. One could hypothesize (and our second study shows it) that activation of TRPM8 is specific for the cooling factor whereas TRPA1 (and TRPV1) is relatively specific for the warming factor. The fourth dimension regrouped trigeminal descriptors such as painful, prickly, ticklish and scratchy and thus constitutes the overall nociceptive aspect of trigeminal perception. It is difficult to pinpoint the underlying mechanisms of this factor. As for intensity, it is known that the perceived intensity of a mixture relies heavily on the perceived intensity of each of its components (Berglund & Olsson, 1993). Thus it conceivable that perceived intensity depends mainly on the concentration of the chemical substances used. Intensity is the only dimension with no clear specific characteristics restricted to trigeminal perception, therefore it is likely that the participants' olfactory percept influences the ratings on this dimension. Intensity is further associated to the concentration of the stimulus.

In our second study, we compared mixtures and combinations of cold and warmth-inducing trigeminal stimuli (eucalyptol and cinnamaldehyde respectively) on the four dimensions of trigeminal perception. In the context of our study, a mixture was defined as a pair of stimuli presented in a simultaneous, birhinal manner in which each stimulus contains the proportion that is studied: this means both the left and right nostrils receive the same stimulus. On the other hand, a combination was defined as a pair of stimuli presented in a simultaneous and birhinal manner in which each nostril receives a different stimulus. Our results show that mixtures generally yielded higher ratings than combinations on the trigeminal dimensions "intensity", "warm" and "painful" whereas combinations yielded higher ratings than mixtures on the trigeminal dimension "cold".

To date, there is no other study on the differential processing of mixtures and combinations by the trigeminal system that would allow for a direct comparison with our results. However, studies that do compare the perception of mixtures and combinations are aimed at the olfactory system and have mostly yielded results suggesting mixture suppression or hypoadditivity (Berglund & Olsson, 1993; Olsson, 1994; Cain et al., 1995; Rospars et al., 2008; Schütze et al., 2014). This principle has received strong empirical support in many studies (Olsson, 1994) and mixture enhancement is in fact seldom observed (Rospars et al., 2008). However, synergistic effects were observed in an fMRI study comparing the presentation of a pure olfactory stimulus (PEA), a pure trigeminal stimulus (CO₂) and the mixture of both stimuli. Results showed that the mixed olfactory/trigeminal stimulus lead to higher cortical activations than the sum of its parts (Boyle et al., 2007). Mixture suppression has also been described in gustation (Keast & Breslin, 2003). Further, in a recent study, 50%:50% binary mixtures of eugenol and L-carvone were presented as mixtures (a mixture of both stimuli presented to one nostril) and combinations (each stimulus presented to separate nostrils) to investigate potential differential perception (Schütze et al. 2014). Although a laterality test was performed prior to the main experiment to control for peripheral trigeminal activation, these odorants have a well-established trigeminal component (eugenol: Wise et al., 2012; carvone: Bandell et al., 2004). Results from the first experiment give us reason to believe that the intensity dimension includes both, an olfactory and a trigeminal component. Ultimately, in that study combinations were perceived to be more intense than mixtures, in contrast to our results. The broad range of proportions we used (80%:20%, 60%:40%, 50%:50%, 40%:60%, 20%:80%) also covered the 50%:50% proportion of the earlier report. One crucial difference between both studies may explain the differing results: while both studies compare mixtures to combinations, Schütze et al. (2014) presented mixtures monorhinally (one nostril receives the mixture with the full concentration

of both stimuli while the other receives air) whereas we presented mixtures birhinally (both nostrils received the mixture, but on each side only half the concentration for each stimulus). While the total mass of molecules reaching the nasal mucosa can be assumed to be equal between both studies, Schütze et al., used this mass to stimulate the nasal mucosa on one side, whereas we stimulated the mucosa on both sides. In other words, only half of the receptive organ was stimulated in the earlier study, compared to our technique.

The latter leading to stronger intensity, our results extend our comprehension of the trigeminal system. Cometto-Muniz & Cain (1984) studied temporal summation in the olfactory system and trigeminal system. To do so, participants had to rate the intensity of different concentrations of ammonia (trigeminal stimulus) and isoamyl butyrate (olfactory stimulus) presented for 1,25 to 3,75 seconds. Results show temporal summation for ammonia –but not for isoamyl butyrate– as perceived intensity for ammonia increased as inhalation time increased. In fact, the authors observed almost perfect temporal summation for ammonia and concluded the trigeminal system to be a mass detector rather than a concentration detector. A more recent paper investigated this in more detail. Here, participants received five CO₂ concentrations (ranging from 45 to 65% volume per volume) and five stimulus durations (ranging from 100 to 300 ms) while their trigeminal event-related potentials (TERP) were measured (Frasnelli, Lötsch & Hummel, 2003). As other event-related potentials, TERP are EEG-derived signals in response to a sensory stimulation. The authors could show that in fact the trigeminal system integrates sensory input over up to 300ms, as both stimulus duration and concentration were linearly associated with TERP amplitudes and intensity ratings.

Taken together, these studies support the notion of the trigeminal system to be a mass detector in which the total amount of stimulating molecules will determine electrophysiological and behavioral responses. The present study however shows that this seems not to be true for information from both nostrils. In summary, while the trigeminal

system integrates different stimulus concentrations and stimulus duration in order to determine the total amount of molecules, this integration is not perfect with regards to the information stemming from both nostrils.

A recent study on the perception of specific trigeminal chemosensory agonists (Frasnelli et al., 2011) showed that a mixture of eucalyptol and menthol (both agonists of TRPM8) was perceived as weaker than a mixture of menthol and mustard oil (agonists of TRPM8 and TRPA1 respectively). Mixture-specific additivity, when agonists of two receptors are present, might also potentially explain why the mixtures yielded higher ratings in our study. In order to shed light on the additivity effect observed in mixtures of trigeminal stimuli, further studies should compare birhinal presentation of mixtures of same-receptor agonists with mixtures of different trigeminal agonists. Again, these results together with the present ones argue against the trigeminal system being a pure mass detector, but introduce an additional variable, namely the stimulated chemoreceptors. Taken together, these studies show that the trigeminal system exhibits more computational dimensions than originally thought.

While the dimensions of intensity, warmth sensation and intensity yielded higher ratings for mixtures than combinations, interestingly the opposite was observed for the cold dimension. This result highlights the complexity of relationships between sensory compounds and thermoTRPs (Macpherson et al., 2006). ThermoTRPs are known to be the main detectors of thermal stimuli therefore enabling temperature perception as well as nociceptive signaling (McKemy, 2005; Macpherson et al., 2006). TRPM8 is known to be involved in cold sensation ranging from innocuous to noxious cold temperatures (Takashima et al., 2007). In addition to cold temperatures, it is also activated by many agonists including menthol and, to a lesser degree, eucalyptol (McKemy et al., 2002; Brauchi, et al., 2004). Interestingly,

cinnamaldehyde is not only an agonist of TRPA1 but also a known antagonist of TRPM8, which attenuates cold response (Macpherson et al., 2006). One could therefore interpret our findings on the cold dimension as the result of a peripheral interaction between cinnamaldehyde and eucalyptol which would be in accordance with the mutual cross-desensitization of cinnamaldehyde and menthol at the level of peripheral trigeminal sensory neurons observed by Klein et al. (2011). In this scenario, TRPM8 receptors blocked by cinnamaldehyde are not available for eucalyptol thus reducing the total number of activated TRPM8 receptors which results in a reduced cold perception when both stimuli are presented to the same nostril. In this context it is interesting to note that eucalyptol acts as an antagonist of the TRPA1 receptor, similarly to cinnamaldehyde's action on TRPM8 (Macpherson et al., 2006). As a consequence one would expect to find an analogous finding for the perception of warmth when both stimuli are applied to the same nostrils – which we did however not observe. Thus an additional mechanism explaining the findings for cold may be put forward. In fact, TRPA1 does also have a role in cold sensation (Knowlton, et al., 2013), specifically in transduction of strong cooling stimuli (de la Pena et al., 2005). Thus our results suggest that a strong cool stimulus (stemming from unilateral TRPM8 stimulation) on one side together with an ambiguous cold/hot stimulus (stemming from unilateral TRPA1 stimulation) contralaterally results in a stronger cold percept than when stimuli are mixed, pointing towards a central interaction (Cain & Murphy, 1980).

Considering that our mixtures were created using agonists of two different trigeminal receptors, future studies should compare our results with mixtures using agonists of the same trigeminal receptor. It would also be interesting to compare monorhinal and birhinal presentations of mixtures using two same-receptor agonists and two agonists of different receptors.

Conclusion

In conclusion, our data suggest that trigeminal mixtures and combinations are perceived differently. Mixtures were shown to yield higher ratings than combinations on the dimensions of “intensity”, “warmth” and “pain”. Birhinal presentation of mixtures – as opposed to monorhinal – as well as a mixture-specific additivity when agonists of two trigeminal receptors are mixed might potentially explain this result. On the other hand, combinations yielded higher ratings than mixtures for the “cold” dimension. Results may be explained by mutual suppression on the receptor level.

References

- Bandell, M., Story, G.M., Hwang, S.W., Viswanath, V., Eid, S.R., Petrus, M.J., Earley, T.J. & Patapoutian, A. (2004). "Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin." Neuron **41**(6): 849-857.
- Berglund, B., Berglund, U. & Lindvall, T. (1976). "Psychological Processing of Odor Mixtures." Psychological Review **83**(6): 432-441.
- Berglund, B. O., M.J. (1993). "Odor-intensity Interaction in Binary Mixtures." Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance **19**(2): 302-314.
- Boyle, J. A., Frasnelli, J., Gerber, J., Heinke, M., & Hummel, T. (2007). "Crossmodal integration of intranasal stimuli: a functional magnetic resonance imaging study." Neuroscience **149**: 223-231.
- Boyle, J. A., Djordjevic, J., Olsson, M.J., Lundström, J.N. & Jones-Gotman, M. (2009). "The Human Brain Distinguishes between Single Odorants and Binary Mixtures." Cereb Cortex **19**(1): 66-71.
- Brauchi, S., Orio, P. & Latorre, R. (2004). "Clues to understanding cold sensation: Thermodynamics and electrophysiological analysis of the cold receptor TRPM8." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(43): 15494-15499.
- Cain, W. S., Schiet, F.T., Olsson, M.J. & de Wijk, R.A. (1995). "Comparison of models of odor interaction." Chem Senses **20**: 625-637.
- Cain, W. S. M., C.L. (1980). "Interaction between chemoreceptive modalities of odour irritation." Nature **284**: 255-257.
- Cashion, L., Livermore, A. & Hummel, T. (2006). "Odour suppression in binary mixtures." Biological Psychology **73**(3): 288-297.
- Caterina, M. J., Schumacher, M.A., Tominaga, M., Rosen, T.A., Levine, J.D. & Julius, D. (1997). "The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway." Nature **389**: 816-824.
- Cometto-Muniz, E. & Cain, W.S. (1984). "Temporal integration of pungency." Chem Senses **8**: 315-327.
- De la Peña, M., A., Cabedo, H., Belmonte, C. & Viana, F. (2005). "The contribution of TRPM8 channels to cold sensing in mammalian neurons." J Physiol **567**(2): 415-426.
- Doty, R. L., Brugger, W.E., Jurs, P.C., Orndorff, M.A., Snyder, P.J. & Lowry, L.D. (1978). "Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: Psychometric responses from anosmic and normal humans." Psychology & Behaviour **20**(2): 175-185.
- Doty, R. L., Shaman, P., Kimmelman, C.P. & Dann, M.S. (1984). "University of Pennsylvania Smell Identification Test: a rapid quantitative olfactory function test for the

clinic." Laryngoscope **94**(2 Pt 1): 176-178.

Frasnelli, J., Lötsch, J. & Hummel, T.(2003). "Event-related Potentials to Intranasal Trigeminal Stimuli Change in Relation to Stimulus Concentration and Stimulus Duration." Journal of Clinical Neurophysiology.**20**(1): 80-86.

Frasnelli, J., Schuster, B. & Hummel, T.(2007). "Interactions between olfaction and the trigeminal system: what can be learned from olfactory loss." Cereb Cortex **17**(10): 2268-2275.

Frasnelli, J., La Buissonière Ariza, V., Collignon, O. & Lepore, F. (2010). "Localisation of unilateral nasal stimuli across sensory systems." Neuroscience Letters **478**(2): 102-106.

Frasnelli, J., Hummel, T., Berg, J., Huang, G. & Doty, A.L. (2011). "Intranasal Localizability of Odorants: Influence of Stimulus Volume." Chem Senses **36**(4): 405-410.

Frasnelli, J., Albrecht, J., Bryant, B. & Lundstrom, J.N. (2011). "Perception of specific trigeminal chemosensory receptor agonists." Journal of Neuroscience **189**: 377-383.

Keast, R. & Breslin, P.A.S. (2003). "An overview of binary taste-taste interactions." Food quality and preference **14**(2): 111-124.

Klein, A. H., Carstens, M.I., Zanotto, K.L., Sawyer, C.M., Ivanov, M., Cheung, S. & Carstens, E. (2011). "Self- and Cross-desensitization of Oral Irritation by Menthol and Cinnamaldehyde via Peripheral Interactions at Trigeminal Sensory Neurons." Chem Senses **36**: 199-208.

Knowlton, W. M., Palkar, R., Lippoldt, E.K., McCoy, D.D., Baluch, F., Chen, J. & McKemy, D.D. (2013). "A Sensory-Labeled Line for Cold: TRPM8-Expressing Sensory Neurons Define the Cellular Basis for Cold, Cold Pain and Cooling-Mediated Analgesia." The Journal of Neuroscience **33**(7): 2837-2848.

Kobal, G., Hummel, T., Sekinger, B., Barz, S., Roscher, S. & Wolf, S. (1996). "'Sniffin' sticks": screening of olfactory performance." Rhinology **34**(4): 222-226.

Laska, M., Distel, H. & Hudson, R. (1997). "Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects." Chem. Senses **22**(4): 447-456.

Macpherson, L. J., Hwang, S.W., Miyamoto, T., Dubin, A.E., Patapoutian, A. & Story, G.M. (2006). "More than cool: Promiscuous relationships of menthol and other sensory compounds." Mol. Cell. Neurosci. **32**: 335-343.

McKemy, D. D., Neuhauser, W.M. & Julius, D. (2002). "Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation." Nature **416**: 52-58.

McKemy, D. D. (2005). "How cold is it? TRPM8 and TRPA1 in the molecular logic of cold sensation." Molecular Pain **1**(16).

Olsson, M. J. (1994). "An interaction model for odor quality and intensity." Perception & Psychophysics **55**(4): 363-372.

Rospars, J.-P., Lansky, P., Chaput, M. & Duchamp-Viret, P. (2008). "Competitive and Noncompetitive Odorant Interactions in the Early Neural Coding of Odorant Mixtures." The Journal of Neuroscience **28**(10): 2659-2666.

Schütze, M., Negoias, S., Olsson, M.J. & Hummel, T. (2014). "Perceptual and processing differences between physical and dichorhnic odor mixtures." Neuroscience **258**: 84-89.

Sinding, C., Thomas-Danguin, T., Chambault, A., Béno, N., Dosne, T., Chabanet, C., Schaal, B. & Coureaud, G. (2013). "Rabbit neonates and human adults perceive a blending 6-component odor mixture in a comparable manner." PLoS One **8**(1): e53534.

Story, G. M., Peier, A.M., Reeve, A.J., Eid, S.R., Mosbacher, J., Hricik, T.R., Earley, T.J., Hergarden, A.C., Andersson, D.A., Hwang, S.W. et al. (2003). "ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures." Cell **112**: 819-829.

Takashima, Y., Daniels, R.L., Knowlton, W., Teng, J., Liman, E.R. & McKemy, D.D. (2007). "Diversity in the Neural Circuitry of Cold Sensing Revealed by Genetic Axonal Labeling of Transient Receptor Potential Melastatin 8 Neurons." The Journal of Neuroscience **27**(51): 14147-14157.

VonSkramlik, E. (1926). Handbuch der Physiologie der niederen Sinne. Leipzig.

Wise, P. M., Wysocky, C.J. & Lundström, J.N. (2012). "Stimulus selection for intranasal sensory isolation: eugenol is an irritant." Chem Senses **37**(6): 509-514.

Xu, H. X., Blair, N.T. & Clapham, D.E. (2005). "Camphor activates and strongly desensitizes the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel in a vanilloid-independent mechanism." Journal of Neuroscience **25**(39): 8924-2937.

Discussion

Bref retour sur les études

Dans le contexte de ce projet de recherche, deux études ont été réalisées afin de mieux comprendre le traitement de mélanges trigéminaux dans le but d'approfondir notre compréhension de la perception trigéminal. Tout d'abord, une première étude a été mise au point afin de déterminer les dimensions de base de la perception trigéminal. Pour ce faire, des mélanges de trois agonistes relativement spécifiques à des récepteurs trigéminaux et d'un odorant pur (odeur contrôle) dans diverses proportions ont été évalués selon douze descripteurs trigéminaux. De ces descripteurs, quatre dimensions principales se sont avérées pertinentes dans la perception trigéminal : il s'agit de l'intensité, la sensation de chaleur, la sensation de froid ainsi qu'une dimension nociceptive (que nous avons nommée « douleur » par souci de vulgarisation). Par la suite, ces quatre dimensions ont été utilisées dans le cadre d'une deuxième étude pour évaluer des mélanges et des combinaisons de deux stimuli trigéminaux, soit un stimulus qui procure une sensation de froid (eucalyptol) et un stimulus qui procure une sensation de chaleur (l'aldéhyde cinnamique).

Résultats

Première étude – quatre dimensions de perception trigéminal

Dans la première étude, des mélanges d'eucalyptol (agoniste du récepteur TRPM8), d'aldéhyde cinnamique (agoniste du récepteur TRPA1), de camphre (agoniste du récepteur TRPV1) et d'alcool phényléthylique (odeur pure) dans différentes proportions ont été évalués

selon douze descripteurs de la perception trigéminal. Les résultats obtenus ont révélé les dimensions de sensation de chaleur, de sensation de froid, de douleur et d'intensité comme principales dimensions de la perception trigéminal.

En ce qui concerne les dimensions thermiques de la perception trigéminal (sensations de chaleur et de froid), il est admis que les *temperature-activated transient receptor potential channels* (ou *thermoTRPs* ; Macpherson, Hwang, Miyamoto, Dubin, Patapoutian & Story, 2006) sont non seulement activés par la température mais également par des composés chimiques spécifiques. À titre d'exemple, l'eucalyptol –à l'image du menthol (McKemy et al., 2002)– procure une sensation de froid de par l'activation du récepteur TRPM8, un récepteur TRP activé tant par le menthol que le froid. De façon analogue, l'aldéhyde cinnamique module une sensation de chaleur de par l'activation du récepteur TRPA1, un récepteur TRP activé par la chaleur ainsi que par des composés chimiques âcres et des températures froides douloureuses (Story, Peier, Reeve, Eid, Mosbacher, Hricik, Earley, Hergarden, Andersson, Hwang et al., 2003 ; Bandell et al., 2004 ; Macpherson et al., 2006) et le camphre active quant à lui le récepteur TRPV1 (Xu et al., 2005). Ainsi, il semble que l'activation des *thermoTRPs* soit impliquée dans les dimensions thermiques de la perception trigéminal. Il serait ainsi possible de proposer que (et cela est d'ailleurs démontré dans la deuxième étude) l'activation du récepteur TRPM8 est spécifique à la dimension de sensation de froid alors que le récepteur TRPA1 (et TRPV1) est relativement spécifique à la dimension de sensation de chaleur. D'ailleurs, une étude de Knowlton, Palkar, Lippoldt, McCoy, Baluch, Chen & McKemy (2013) a démontré la spécificité des récepteurs TRPM8 dans la perception du froid. En procédant à l'ablation de neurones exprimant TRPM8 chez des souris mâles, ils ont montré que les souris devenaient dès lors insensibles au froid (tant indolore que douloureux). De plus, leurs résultats suggèrent que ces souris montraient des déficits au niveau de leur discrimination du froid. Plus précisément, on observe une discrimination

réduite en comparaison à des souris n'ayant pas subi l'ablation. Dans le contexte de cette étude, les souris étaient libres d'explorer deux surfaces à différentes températures dont une surface contrôle (à température confortable) et une surface dont la température variait entre un froid douloureux et une chaleur douloureuse. Les résultats montrent que les souris contrôles choisissaient préférentiellement la surface contrôle à la surface froide alors que les souris dont les neurones TRPM8 avaient été retirés ne faisaient pas cette distinction. Il est à noter toutefois que les deux groupes évitaient de façon similaire la surface lorsqu'elle était à une température chaude douloureuse au profit de la surface contrôle, ce qui prouve à nouveau la spécificité des récepteurs TRPM8 dans la perception du froid. Il en est de même pour les récepteurs TRPA1. Dans une étude de Bandell et al. (2004), il a été montré que les neurones exprimant TRPA1 répondent à la chaleur ainsi qu'à certains composés chimiques. À l'aide d'un *fluorometric imaging plate reader* (FLIPR) –un outil permettant de mesurer le calcium intracellulaire– Bandell et al. ont montré une augmentation du calcium intracellulaire au niveau de cellules exprimant TRPA1 suite à la présentation d'aldéhyde cinnamique (et d'autres composés tels le carvone). Par la suite, Bandell et al. ont testé la spécificité de l'aldéhyde cinnamique sur les récepteurs TRPA1, TRPM8 et TRPV1 et ont montré qu'il n'activait que le récepteur TRPA1. Ultiment, en écartant TRPV1 comme récepteur activé par l'aldéhyde cinnamique, ces chercheurs ont donc montré que la sensation de chaleur et de brûlure causée par ce composé est bel et bien spécifique au TRPA1.

La dimension « douleur » regroupait des descripteurs trigéminaux tels que douloureux, picotant, chatouillant et piquant et représentait ainsi l'aspect nociceptif de la perception trigéminal. Il est difficile de clairement expliquer les mécanismes sous-jacents de cette dimension. En ce qui a trait à la dimension « intensité », il est connu que l'intensité perçue d'un mélange dépend fortement de l'intensité perçue de ses composantes individuelles (Berglund & Olsson, 1993). Donc, il est concevable que l'intensité perçue dépende surtout de

la concentration des composés chimiques employés. L'intensité est la seule dimension sans caractéristique trigéminalle concrète : ainsi, il est probable que la perception olfactive des participants influence les scores sur cette dimension. La dimension « intensité » est ainsi davantage associée à la concentration du stimulus.

Bref, les résultats de cette première étude suggèrent que les dimensions thermiques de la perception trigéminalle – soit la « sensation de chaleur » et la « sensation de froid » – sont liées à l'activation spécifique de *thermoTRPs*, respectivement le TRPA1 et le TRPM8. Quoiqu'une dimension nociceptive de la perception trigéminalle ait été soulevée dans cette première étude, les mécanismes qui lui sont sous-jacents demeurent obscurs. La dimension « intensité » ne semble quant à elle pas concrètement liée à la perception trigéminalle, mais plutôt à la perception olfactive.

Deuxième étude – traitement des mélanges et combinaisons par le système trigéminal

Dans la seconde étude, des mélanges et des combinaisons de stimuli trigéminaux procurant des sensations de froid et de chaleur (l'eucalyptol et l'aldéhyde cinnamique respectivement) ont été comparés sur les quatre dimensions de perception trigéminalle issues de la première étude. La principale conclusion pouvant être tirée des résultats obtenus est que le traitement des mélanges par le système trigéminal est différent du traitement des combinaisons, et ce pour toutes les dimensions de perception trigéminalle à l'étude. Plus précisément, les résultats suggèrent que les mélanges obtiennent généralement des scores plus élevés que les combinaisons sur les dimensions trigéminales d'intensité, de sensation de chaleur et de douleur alors que les combinaisons obtiennent des scores plus élevés sur la dimension trigéminalle de sensation de froid.

Les mélanges perçus comme plus intenses, chauds et douloureux que les combinaisons

À ce jour, il n'existe aucune autre étude traitant spécifiquement du traitement différentiel des mélanges et combinaisons par le système trigéminal. C'est donc dire qu'une comparaison directe de nos résultats n'est pas possible. Néanmoins, il est possible de faire certains parallèles avec des études sur le sujet mais au sein du système olfactif. D'ailleurs, les études comparant la perception de mélanges et de combinaisons par le système olfactif ont pour la plupart obtenu des résultats suggérant un effet de suppression ou d'hypoadditivité pour les mélanges (Berglund & Olsson, 1993; Olsson, 1994; Cain, Schiet, Olsson & de Wijk, 1995; Rospars, Lansky, Chaput & Duchamp-Viret, 2008; Schütze et al., 2014). D'ailleurs, l'additivité est très rarement observée pour les mélanges (Rospars et al., 2008). Cependant, des effets synergétiques ont été observés dans une étude en IRMf qui comparait la présentation d'un stimulus olfactif pur (l'alcool phényléthylique), un stimulus trigéminal pur (CO₂) ainsi qu'un mélange des deux stimuli : les résultats obtenus montrent que le stimulus mixte olfactif/trigéminal menait à une activation corticale supérieure à celle de la somme de ses composantes individuelles (Boyle, Frasnelli, Gerber, Heinke & Hummel, 2007). Il est à noter qu'un effet de suppression pour les mélanges a également été décrit dans la gustation (Keast & Breslin, 2003).

Dans une étude récente, des mélanges d'eugénol et de L-carvone dans une proportion de 50% :50% ont été présentés sous forme de mélanges (un mélange des deux stimuli présenté à une seule narine) et de combinaisons (un stimulus présenté à une narine ; l'autre stimulus présenté à l'autre narine) afin d'en évaluer la perception (Schütze et al. 2014). Malgré le fait qu'une tâche de latéralisation ait été complétée avant l'étude principale afin d'éliminer toute activation trigéminal potentielle, les stimuli employés possèdent tous deux une composante trigéminal bien connue (eugénol: Wise et al., 2012; L-carvone: Bandell et al., 2004). En effet, dans une série de trois études, Wise et al. (2012) ont examiné l'eugénol,

un composé considéré comme uniquement olfactif dans de nombreuses études— c'est-à-dire avec très peu ou pas d'effet sur le système trigéminal. Les résultats ont été obtenus à l'aide de trois tâches de latéralisation. Puisque les participants ont été aptes à latéraliser l'eugénol, cela indique une certaine stimulation trigéminal puisque l'activation du système trigéminal a été montrée nécessaire pour localiser les odeurs (Frasnelli, Charbonneau, Collignon & Lepore, 2009). En ce qui a trait au carvone, Bandell et al. (2004) ont montré à l'aide d'un *fluorometric imaging plate reader* (FLIPR) qu'il activait spécifiquement le récepteur trigéminal TRPA1 et produisait ainsi une sensation de brûlure et de chaleur typiquement trigéminal.

Pour revenir à l'étude de Schütze et al., les résultats obtenus dans cette étude montrent que les combinaisons ont été perçues comme plus intenses que les mélanges, contrairement à nos résultats. Le large éventail de proportions que nous avons utilisé (80%:20%, 60%:40%, 50%:50%, 40%:60%, 20%:80%) couvrait ainsi la proportion 50%/50% de cette étude. Une différence cruciale entre les deux études pourrait expliquer les résultats : alors que les deux études comparent les mélanges aux combinaisons, Schütze et al. (2014) ont présenté des mélanges de façon monorhinale (une narine reçoit le mélange des deux stimuli à pleine concentration alors que l'autre narine reçoit de l'air) alors que nous avons présenté les mélanges de façon birhinale (les deux narines recevaient le mélange des deux stimuli, mais chacune ne recevait que la moitié de la concentration pour chaque stimulus). Quoique l'on puisse estimer que la masse totale de molécules atteignant la muqueuse nasale est équivalente dans les deux études, Schütze et al. ont utilisé cette masse pour stimuler la muqueuse nasale d'un seul côté alors que nous l'avons stimulée des deux côtés. Les résultats de notre première étude nous donnent raison de croire que la dimension d'intensité inclut à la fois une composante olfactive et une composante trigéminal. Notre stimulation birhinale ayant mené à une intensité plus forte, nos résultats approfondissent notre compréhension du système

trigéminal qui est considéré comme un détecteur de masse plutôt qu'un détecteur de concentration (Cometto-Muniz & Cain, 1984). Dans leur étude, Cometto-Muniz & Cain (1984) ont évalué la possibilité de sommation temporelle au sein des systèmes olfactif et trigéminal (appelé le *common chemical sense*). Pour ce faire, l'intensité de diverses concentrations d'ammoniaque (stimulus trigéminal) et d'isoamyl butyrate (stimulus olfactif) présentées pour des périodes variant de 1,25 à 3,75 secondes a été évaluée par les participants. Les résultats obtenus montrent de la sommation temporelle pour l'ammoniaque mais pas pour l'isoamyl butyrate : cela signifie que l'intensité perçue de l'ammoniaque semblait augmenter alors que le temps d'inhalation augmentait. Au fait, Cometto-Muniz & Cain parlent d'une sommation temporelle presque parfaite dans le cas de l'ammoniaque. En d'autres termes, cette étude suggère que le système trigéminal est un détecteur de masse plutôt que de concentration. Or, nos résultats semblent indiquer que le système trigéminal n'est pas un détecteur de masse parfait et que l'étendue de la structure réceptive (la muqueuse nasale) influence l'intensité perçue.

Quoiqu'elle ne comparait pas le traitement des mélanges et combinaisons par le système trigéminal, une étude récente sur la perception d'agonistes spécifiques récepteurs trigéminaux (Frasnelli et al., 2011) a néanmoins montré qu'un mélange d'eucalyptol et de menthol (tous deux agonistes du récepteur TRPM8) était perçu comme moins intense qu'un mélange de menthol et d'huile de moutarde (agonistes des récepteurs TRPM8 et TRPA1 respectivement). Ainsi, un effet d'additivité spécifique au mélange d'agonistes de deux récepteurs trigéminaux différents pourrait potentiellement expliquer pourquoi les mélanges ont mené à des scores plus élevés dans notre étude. Afin de clarifier cet effet d'additivité observé dans les mélanges de stimuli trigéminaux, des études futures devraient s'intéresser à la comparaison de mélanges d'agonistes d'un même récepteur trigéminal à des mélanges d'agonistes de différents récepteurs trigéminaux en présentation birhinale.

Les combinaisons perçues comme plus froides que les mélanges

Alors que les dimensions d'intensité, de sensation de chaleur et de douleur ont mené à des scores plus élevés pour les mélanges que les combinaisons, l'opposé a été observé pour la dimension trigéminal de la sensation de froid. Ce résultat souligne la complexité des relations entre les composés chimiques et les *thermoTRPs* (Macpherson et al., 2006). Les *thermoTRPs* sont connus comme les principaux détecteurs de stimuli thermiques, permettant ainsi la perception de la température en plus du signalement de la douleur (McKemy, 2005; Macpherson et al., 2006).

Le récepteur TRPM8 est connu pour son implication dans la sensation de froid allant d'indolore à douloureux (Takashima, Daniels, Knowlton, Teng, Liman & McKemy, 2007). Plus précisément, Takashima et al. (2007) ont montré que les neurones exprimant TRPM8 sont de nature hétérogène dans le sens où certains sont des nocicepteurs alors que d'autres ne le sont pas. De plus, l'emplacement des terminaisons axonales des TRPM8 dans les tissus périphériques supporte l'idée que ces récepteurs permettent de communiquer des sensations de froid très variées. Ainsi, Takashima et al. soulignent que les afférences impliquées dans la détection du froid indolore sont localisées dans l'épiderme superficiel alors que les détecteurs de froid douloureux sont plus en profondeur. En plus de la sensation de froid, TRPM8 est également activé par de nombreux agonistes tels le menthol et, dans une moindre mesure, l'eucalyptol (McKemy et al., 2002). Fait intéressant, l'aldéhyde cinnamique est non seulement un agoniste de TRPA1 mais également un antagoniste connu de TRPM8, ce qui par conséquent en atténue la réponse au froid (Macpherson et al., 2006).

Il serait donc possible d'interpréter nos résultats pour la dimension de sensation de froid comme le résultat d'une interaction périphérique entre l'aldéhyde cinnamique et

l'eucalyptol, ce qui serait en accord avec la désensibilisation mutuelle de l'aldéhyde cinnamique et du menthol au niveau des récepteurs trigéminaux périphériques observée par Klein, Carstens, Zanotto, Sawyer, Ivanov, Cheung & Carstens (2011). Dans leur étude, Klein et al. (2011) se sont penchés sur les interactions entre le menthol et l'aldéhyde cinnamique dans la cavité orale. Pour ce faire, Klein et al. ont préparé des papiers filtres imbibés de menthol et d'aldéhyde cinnamique jugés isointenses à deux concentrations distinctes (19mM de menthol pour 15mM d'aldéhyde cinnamique; 29 mM de menthol pour 30 mM d'aldéhyde cinnamique). Un premier papier (imbibé d'un des stimuli à une certaine concentration) était tout d'abord placé sur la portion dorsale antérieure de la langue des participants puis un deuxième papier imbibé d'une solution d'éthanol était appliqué de l'autre côté de la langue, dans une position équivalente. Après 30 secondes, les deux petits papiers étaient retirés. Suite à cela, suivant un délai de 5, 30 ou 60 minutes, Klein et al. ont procédé à une deuxième application – cette fois bilatérale– de deux petits papiers (tous deux imbibés de l'autre stimulus, à la concentration jugée équivalente à la première présentée). Les participants devaient ensuite évaluer l'intensité de l'irritation de chaque côté de leur langue. Les résultats obtenus par Klein et al. montrent une désensibilisation réciproque entre le menthol et l'aldéhyde cinnamique. C'est donc dire que l'irritation de la cavité buccale par le menthol désensibilise cette dernière à l'irritation occasionnée par l'aldéhyde cinnamique (*et vice versa*). Ces résultats indiquent ainsi que les interactions entre le menthol et l'aldéhyde cinnamique se produisent au niveau même des récepteurs trigéminaux dans la cavité buccale.

Dans la même lignée que les résultats de Klein et al., il est possible que les récepteurs TRPM8 soient ainsi bloqués par l'aldéhyde cinnamique et ne soient ainsi plus disponibles pour l'eucalyptol, ce qui réduirait le nombre total de récepteurs TRPM8 activés et, par conséquent, réduirait également la réponse au froid lorsque les deux stimuli sont présentés à la même narine. Il est intéressant de noter que l'eucalyptol agit en tant qu'antagoniste du

récepteur TRPA1, de façon similaire à l'action de l'aldéhyde cinnamique sur le récepteur TRPM8 (Macpherson et al., 2006). Ainsi, on pourrait s'attendre à observer un résultat similaire pour la sensation de chaleur lorsque les deux stimuli sont appliqués à la même narine –soit une sensation de chaleur réduite de par l'eucalyptol bloquant les récepteurs TRPA1 et réduisant le nombre total de récepteurs ainsi disponibles pour l'aldéhyde cinnamique– toutefois, cela ne fût pas le cas. C'est donc dire qu'un mécanisme additionnel dans la sensation de froid doit être mis de l'avant. Le récepteur TRPA1 étant également impliqué dans la sensation de froid –plus précisément dans la transduction de forts stimuli refroidissants (de la Peña, Cabedo, Belmonte & Viana, 2005)– il pourrait s'agir d'une piste explicative intéressante à considérer dans des études futures. Ainsi, nos résultats suggèrent qu'un fort stimulus froid d'un côté (provenant de la stimulation unilatérale du récepteur TRPM8) avec un stimulus ambigu chaud/froid de l'autre (provenant de la stimulation unilatérale du récepteur TRPA1) résultent en une perception de froid supérieure que lorsque ces stimuli sont sous forme de mélange, pointant ainsi vers une interaction centrale (Cain & Murphy, 1980).

Considérant que nos mélanges ont été créés en utilisant deux agonistes de deux différents récepteurs trigéminaux, des études futures devraient comparer nos résultats avec des mélanges d'agonistes du même récepteur trigéminal. Il serait également intéressant de comparer la présentation monorhinale et birhinale de mélanges d'agonistes d'un même récepteur trigéminal et d'agonistes de différents récepteurs trigéminaux afin de clarifier les interactions impliquées dans les deux types de présentation. Aussi, pour tenter d'éclaircir notre résultat pour la dimension de sensation de froid, il serait tout particulièrement pertinent de comparer des mélanges de deux agonistes du récepteur TRPM8 (par exemple, l'eucalyptol et le menthol) à des mélanges d'un agoniste TRPM8 et d'un agoniste d'un autre récepteur trigéminal, sans toutefois que ce dernier soit également un antagoniste de TRPM8.

Études futures

Le système trigéminal – de par ses interactions avec les systèmes olfactif et gustatif – contribue à la perception des odeurs et des saveurs de notre environnement. Ainsi, lorsque l'on boit un délicieux latté saupoudré de cannelle, notre odorat et notre gustation nous permettent de sentir l'*espresso* et de goûter la richesse de notre latté alors que le système trigéminal donne à la cannelle sa chaleur réconfortante. Outre cet exemple illustrant l'implication du système trigéminal dans les plaisirs que peuvent procurer les odeurs et les saveurs, il est indéniable qu'il occupe des fonctions cruciales à notre survie. En effet, quoique souvent considéré comme moins essentiel pour la survie de l'homme moderne, le système trigéminal contribue néanmoins à la détection d'irritants et de substances potentiellement dangereuses dans l'environnement. À titre d'exemple, nombreux sont les produits chimiques – notamment de nettoyage – très parfumés et possédant ainsi une composante olfactive agréable. Néanmoins, le système trigéminal demeure apte à détecter l'astringence ou même le picotement qu'entraînent certains composés chimiques camouflés dans ces produits et, par le fait même, à signaler un danger potentiel. De plus, en absence de tout indice visuel, le système trigéminal permet de flairer tant la nourriture trop épicée qu'avariée, contribuant de nouveau à notre protection contre les conséquences néfastes que pourrait entraîner la consommation de cette dernière. Ainsi, le système trigéminal permet la perception de la capsaïcine, le composé chimique qui donne la sensation de piquant des piments forts. C'est donc dire que le système trigéminal fait partie intégrante de nos perceptions quotidiennes. De fait, il est vrai que la très grande majorité des odeurs et des saveurs dont nous faisons l'expérience sont des mélanges.

Historiquement parlant, le mélange des odeurs a longtemps fasciné les parfumeurs – qui pouvaient parfois identifier des dizaines d'odeurs distinctes à même un seul parfum – au

point de faire de la parfumerie un art et les parfumeurs, de véritables artistes. C'est donc dire qu'il est plus que pertinent de s'intéresser à la perception des mélanges de stimuli trigéminaux si l'on désire approfondir notre compréhension de la perception trigéminal et donc, ultimement éclaircir l'implication trigéminal dans la perception des odeurs et des saveurs ensemble avec le système olfactif et le système gustatif. Ce projet de recherche s'est voulu un premier pas dans cette direction. En effet, il s'agit d'une tentative de délimitation de la sensibilité du système trigéminal aux mélanges de stimuli trigéminaux. Ainsi, ce projet a permis de suggérer certaines dimensions qui semblent pertinentes à la perception trigéminal. D'autres études demeurent néanmoins nécessaires pour explorer davantage de dimensions potentielles de perception trigéminal et également pour préciser les mécanismes sous-jacents à l'aspect nociceptif de perception trigéminal soulevé dans cette étude. De plus, il serait intéressant de poursuivre les comparaisons entre des mélanges présentés de façon monorhinale et birhinale, de sorte à délimiter plus clairement les interactions impliquées dans les deux types de stimulation. Aussi, il est indéniable qu'il serait très pertinent d'incorporer davantage de stimuli trigéminaux dans une comparaison du traitement des mélanges et des combinaisons par le système trigéminal. Éventuellement, des études devraient s'intéresser à des mélanges contenant plus de deux stimuli trigéminaux (car les mélanges de notre environnement ne sont pas que binaires). D'ailleurs, dans le cas d'un mélange à trois stimuli trigéminaux par exemple, le fait d'isoler la contribution du troisième stimulus et de comparer son évaluation au sein du mélange à son évaluation lorsque présenté individuellement pourrait contribuer à une meilleure compréhension des effets spécifiques aux mélanges. Entre temps, les résultats en lien avec la sensation de froid méritent davantage d'attention. Quoique ce projet ait permis de soulever le fait qu'il semble y avoir un mécanisme additionnel impliqué dans la sensation de froid par le système trigéminal, seules quelques explications potentielles

ont été fournies. Or, il s'agit d'une avenue de recherche intéressante : pourquoi la perception de froid diffère-t-elle de la perception de chaleur au sein du système trigéminal ?

Forces et faiblesses de l'étude

Bref, il s'avère évident que l'étude du traitement des mélanges par le système trigéminal n'en est qu'à ses tout premiers balbutiements et que cette étude consistait en une première tentative de délimitation de la sensibilité du système trigéminal aux mélanges. Néanmoins, la méthodologie employée était rigoureuse et la première à présenter à la fois des mélanges et combinaisons d'odeurs et ce, de manière birhinale. De plus, une présentation birhinale des odeurs est sans contredit plus écologique et se compare davantage à la manière naturelle dont nous sentons les odeurs de notre environnement. Toutefois, il faut admettre que les odeurs qui nous entourent sont le plus souvent composées de plusieurs odeurs : cette étude ne s'est malheureusement pas penchée sur des mélanges ou combinaisons de plus de deux odeurs. Aussi, cette étude ne s'est pas intéressée à la préférence manuelle des participants (à savoir si le participant était gaucher, droitier ou ambidextre). Il aurait été intéressant de connaître cette préférence de sorte d'en vérifier les liens potentiels avec la dominance rhinale chez les participants. Malgré le fait que cette étude n'ait pu fournir une explication définitive des résultats de la dimension trigéminal de perception du froid, elle a du moins permis de déterminer des dimensions pertinentes à la perception trigéminal en général et, par le fait même, a contribué significativement au développement des connaissances au sujet du système trigéminal tout en suggérant de nombreuses pistes de recherche pour continuer dans cette direction.

Bibliographie

- Albrecht, J., Kopietz, R., Frasnelli, J., Wiesmann, M., Hummel, T., Lundstrom, J.N. (2010). "The neuronal correlates of intranasal trigeminal function- an ALE meta-analysis of human functional brain imaging data." Brain Res Rev **62**(2): 183-196.
- Bandell, M., Story, G.M., Hwang, S.W., Viswanath, V., Eid, S.R., Petrus, M.J., Earley, T.J. & Patapoutian, A. (2004). "Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin." Neuron **41**(6): 849-857.
- Berglund, B., Berglund, U. & Lindvall, T. (1976). "Psychological Processing of Odor Mixtures." Psychological Review **83**(6): 432-441.
- Berglund, B. O., M.J. (1993). "Odor-intensity Interaction in Binary Mixtures." Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance **19**(2): 302-314.
- Boyle, J. A., Frasnelli, J., Gerber, J., Heinke, M., & Hummel, T. (2007). "Crossmodal integration of intranasal stimuli: a functional magnetic resonance imaging study." Neuroscience **149**: 223-231.
- Boyle, J. A., Djordjevic, J., Olsson, M.J., Lundström, J.N. & Jones-Gotman, M. (2009). "The Human Brain Distinguishes between Single Odorants and Binary Mixtures." Cereb Cortex **19**(1): 66-71.
- Bushdid, C., Magnasco, M.O., Vosshall, L.B. & Keller, A. (2014). "Humans Can Discriminate More than 1 Trillion Olfactory Stimuli." Science **343**(6177): 1370-1372.
- Cain, W. S., Schiet, F.T., Olsson, M.J. & de Wijk, R.A. (1995). "Comparison of models of odor interaction." Chem Senses **20**: 625-637.
- Cain, W. S. M., C.L. (1980). "Interaction between chemoreceptive modalities of odour irritation." Nature **284**: 255-257.
- Calhoun, C.(2011). Trigeminal neuralgia [Figure]. Retrieved from <http://catstcmnotes.com/pages/Clinic/Protocols/Pain/Trigeminal%20Neuralgia.html>
- Cashion, L., Livermore, A. & Hummel, T. (2006). "Odour suppression in binary mixtures." Biological Psychology **73**(3): 288-297.
- Caterina, M. J., Schumacher, M.A., Tominaga, M., Rosen, T.A., Levine, J.D. & Julius, D. (1997). "The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway." Nature **389**: 816-824.
- Classen, C. (1997). "Foundations for an Anthropology of the Senses." International Social Science Journal **153**: 401-412.
- Cometto-Muniz, E. C., W.S. (1984). "Temporal integration of pungency." Chem Senses **8**: 315-327

Cometto-Muniz, J. E. H., S.M. (1990). "Odorous and pungent attributes of mixed and unmixed odorants." Percept Psychophys **47**: 391-399.

Corbin, A. (1982). Le Miasme et la Jonquille. L'odorat et l'imaginaire social, XVIIIe-XIXe siècles. Paris, France : Aubier-Montaigne.

De la Peña, M., A., Cabedo, H., Belmonte, C. & Viana, F. (2005). "The contribution of TRPM8 channels to cold sensing in mammalian neurons." J Physiol **567**(2): 415-426.

Doty, R. L., Brugger, W.E., Jurs, P.C., Orndorff, M.A., Snyder, P.J. & Lowry, L.D. (1978). "Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: Psychometric responses from anosmic and normal humans." Psychology & Behaviour **20**(2): 175-185.

Frasnelli, J., Schuster, B. & Hummel, T. (2007). "Interactions between olfaction and the trigeminal system: what can be learned from olfactory loss." Cereb Cortex **17**(10): 2268-2275.

Frasnelli, J., Charbonneau, G., Collignon, O. & Lepore, F. (2009). "Odor localization and sniffing." Chemical Senses **34**(2): 139-144.

Frasnelli, J., Hummel, T., Berg, J., Huang, G. & Doty, A.L. (2011). "Intranasal Localizability of Odorants: Influence of Stimulus Volume." Chem Senses **36**(4): 405-410.

Frasnelli, J., Albrecht, J., Bryant, B. & Lundstrom, J.N. (2011). "Perception of specific trigeminal chemosensory receptor agonists." Journal of Neuroscience **189**: 377-383.

Goldstein, L.B. & Genese, F.(2012, September 1). Trigeminal Neuralgia: A Closer Look at this Enigmatic and Debilitating Disease. [Figure] Retrieved from <http://www.practicalpainmanagement.com/pain/neuropathic/trigeminal-neuralgia/trigeminal-neuralgia-closer-look-enigmatic-debilitating>

Keast, R. B., P.A.S. (2003). "An overview of binary taste-taste interactions." Food quality and preference **14**(2): 111-124.

Klein, A. H., Carstens, M.I., Zannotto, K.L., Sawyer, C.M., Ivanov, M., Cheung, S. & Carstens, E. (2011). "Self- and Cross-desensitization of Oral Irritation by Menthol and Cinnamaldehyde via Peripheral Interactions at Trigeminal Sensory Neurons." Chem Senses **36**: 199-208.

Knowlton, W. M., Palkar, R., Lippoldt, E.K., McCoy, D.D., Baluch, F., Chen, J. & McKemy, D.D. (2013). "A Sensory-Labeled Line for Cold: TRPM8-Expressing Sensory Neurons Define the Cellular Basis for Cold, Cold Pain and Cooling-Mediated Analgesia." The Journal of Neuroscience **33**(7): 2837-2848.

Kobal, G. (1981). Elektrophysiologische Untersuchungen des menschlichen Geruchssinns. Stuttgart, Thieme Verlag.

Kobal, G., Van Toller, S. & Hummel, T. (1989). "Is there directional smelling?" Experientia. **45**: 130-132.

Kobal, G. & Hummel, T. (1998). "Olfactory and intranasal trigeminal event-related potentials in anosmic patients" The Laryngoscope. **108**(7):1033-1035.

- Laska, M., Distel, H. & Hudson, R. (1997). "Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects." Chem. Senses **22**(4): 447-456.
- Le Guérer, A. (2002). *Olfaction and Cognition: A Philosophical and Psychoanalytic View*. In Olfaction, Taste, and Cognition. C. Rouby, B. Schall, D. Dubois, R. Gervais & A. Holley (Eds). New York, NY: Cambridge University Press.
- Macpherson, L. J., Hwang, S.W., Miyamoto, T., Dubin, A.E., Patapoutian, A. & Story, G.M. (2006). "More than cool: Promiscuous relationships of menthol and other sensory compounds." Mol. Cell. Neurosci. **32**: 335-343.
- McKemy, D. D., Neuhausser, W.M. & Julius, D. (2002). "Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation." Nature **416**: 52-58.
- McKemy, D. D. (2005). "How cold is it? TRPM8 and TRPA1 in the molecular logic of cold sensation." Molecular Pain **1**(16).
- Olsson, M. J. (1994). "An interaction model for odor quality and intensity." Perception & Psychophysics **55**(4): 363-372.
- Rospars, J.-P., Lansky, P., Chaput, M. & Duchamp-Viret, P. (2008). "Competitive and Noncompetitive Odorant Interactions in the Early Neural Coding of Odorant Mixtures." The Journal of Neuroscience **28**(10): 2659-2666.
- Schusterman, D. B., J. (1997). " Measurement of nasal irritant sensitivity to pulsed carbon dioxide : a pilot study." Arch Environ Health **52**: 334-340.
- Schütze, M., Negoias, S., Olsson, M.J. & Hummel, T. (2014). "Perceptual and processing differences between physical and dichorhnic odor mixtures." Neuroscience **258**: 84-89.
- Sinding, C., Thomas-Danguin, T., Chambault, A., Béno, N., Dosne, T., Chabanet, C., Schaal, B. & Coureaud, G. (2013). "Rabbit neonates and human adults perceive a blending 6-component odor mixture in a comparable manner." PLoS One **8**(1): e53534.
- Story, G. M., Peier, A.M., Reeve, A.J., Eid, S.R., Mosbacher, J., Hricik, T.R., Earley, T.J., Hergarden, A.C., Andersson, D.A., Hwang, S.W. et al. (2003). "ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures." Cell **112**: 819-829.
- Takashima, Y., Daniels, R.L., Knowlton, W., Teng, J., Liman, E.R. & McKemy, D.D. (2007). "Diversity in the Neural Circuitry of Cold Sensing Revealed by Genetic Axonal Labeling of Transient Receptor Potential Melastatin 8 Neurons." The Journal of Neuroscience **27**(51): 14147-14157.
- Vogt-Eisele, A. K., Weber, K., Sherkheli, M.A., Vielhaber, G., Panten, J., Gisselman, G. & Hatt, H. (2007). "Monoterpenoid agonists of TRPV3." Br J Pharmacol **151**(4): 530-540.
- Wise, P. M., Wysocky, C.J. & Lundström, J.N. (2012). "Stimulus selection for intranasal sensory isolation: eugenol is an irritant." Chem Senses **37**(6): 509-514.

Xu, H. X., Blair, N.T. & Clapham, D.E. (2005). "Camphor activates and strongly desensitizes the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel in a vanilloid-independent mechanism." Journal of Neuroscience **25**(39): 2924-2937

