



HAL
open science

Rythme lent du bulbe olfactif: étude des oscillations du potentiel de membrane des cellules mitrales/à panache et de leurs relations avec l'activité de décharge et l'activité du réseau

Virginie Briffaud

► To cite this version:

Virginie Briffaud. Rythme lent du bulbe olfactif: étude des oscillations du potentiel de membrane des cellules mitrales/à panache et de leurs relations avec l'activité de décharge et l'activité du réseau. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2011. Français. NNT : 2011LYO10305. tel-00820089

HAL Id: tel-00820089

<https://theses.hal.science/tel-00820089>

Submitted on 3 May 2013

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

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

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE NEUROSCIENCES et COGNITION

DIPLOME DE DOCTORAT

(Arrêté du 7 août 2006)

Soutenue publiquement le 2 décembre 2011

par

M^{lle} Virginie BRIFFAUD

Rythme lent du bulbe olfactif : étude des oscillations du potentiel de membrane des cellules mitrales/à panache et de leurs relations avec l'activité de décharge et l'activité du réseau

Directrice de thèse : Dr Nathalie BUONVISO

Co-directrice : Dr Corine AMAT

JURY : Dr Corine Amat (Co-directrice)
Dr Nathalie Buonviso (Directrice)
Pr Alan Carleton (Rapporteur)
Pr Serge Charpak (Rapporteur)
Pr Rémi Gervais (Président)
Dr Valérie Raymond (Examinatrice)

Mon travail de thèse a été effectué au sein du laboratoire de Neurosciences sensorielles Comportement Cognition (UMR 5020) dirigé par Rémi Gervais et qui depuis le 1^{er} janvier 2011 fait parti du Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon.

J'ai été dirigée par Corine Amat et Nathalie Buonviso, spécialistes des processus dynamiques impliqués dans l'intégration des informations olfactives.

Les résultats obtenus au cours de ma thèse font l'objet d'un article, à ce jour soumis pour publication. Les références en seront :

The relationship between respiration-related membrane potential slow oscillations and discharge patterns in mitral/tufted cells: What are the rules?

Virginie Briffaud, Nicolas Fourcaud-Trocmé, Belkacem Messaoudi, Nathalie Buonviso and Corine Amat.

Ces résultats ont également été présentés sous la forme de plusieurs communications affichées avec dans l'ordre chronologique :

Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Messaoudi B., Buonviso N. and Amat C. (2008) Relation between unitary and network activities: a study coupling intracellular and oscillatory local field potential recordings in olfactory bulb of rat in vivo. 6th FENS, Geneva, Switzerland, July 2008.

Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Messaoudi B., Buonviso N. and Amat C. (2009) Slow oscillation in the local field potential and membrane potential of mitral and tufted cells in anesthetized rat. 9th meeting of french neurosciences society, Bordeaux, France, May 2009

Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Cenier T., Garcia S., Buonviso N. and Amat C. (2009) Relationships between intracellular activities, oscillatory local field potential and respiration in olfactory bulb of freely breathing anesthetized rat. European Chemoreception Research Organisation Congress, Villasimus, Italy, September 2009

Briffaud. V., Fourcaud-Trocmé N., Thevenet M., Buonviso N. and Amat C. (2010) Intracellular study of relationships between spiking activities and membrane potential oscillations in freely breathing anesthetized rat. European Chemoreception Research Organisation Congress, Avignon, France, September 2010.

Amat C., **Briffaud V.**, Buonviso N. and Fourcaud-Trocmé N. (2011) Slow oscillation of membrane potential participates to the determination of respiratory spiking patterns of mitral/tufted cells, in freely breathing anesthetized rat, 10th meeting of french neurosciences society, Marseille, France, May 2011.

Il est possible de trouver le résumé et le poster de chacune de ces communications à la fin de ce manuscrit.

Résumé

Le rythme lent lié à la respiration est une caractéristique proéminente de l'activité du bulbe olfactif de rat. Il se définit par des oscillations de grande amplitude du potentiel de champ local, une activité de décharge des cellules mitrales/ à panache (M/P) synchronisée à la respiration et des oscillations lentes de leur potentiel de membrane (OPLM). Des relations spécifiques entre ces activités détermineraient la participation d'une cellule M/P au traitement de l'information olfactive. Jusqu'à présent, il n'existait que très peu de données sur ces relations. L'objectif de cette thèse a été de caractériser les OLPM des cellules M/P et d'étudier les relations qu'elles entretiennent avec l'activité de décharge et l'activité du réseau bulbaire. Pour répondre à cet objectif, nous avons mis au point une technique d'enregistrements simultanés de l'activité intracellulaire des cellules M/P et du potentiel de champ local du bulbe olfactif chez l'animal anesthésié et libre de respirer. Nous montrons que plusieurs types d'OLPM existent. Des relations spécifiques s'établissent entre ces OLPM et la synchronisation de l'activité de décharge à la respiration. Nous observons également l'existence de relations complexes entre les OLPM et les oscillations du réseau bulbaire. L'ensemble de ces résultats nous permet d'intégrer la dynamique lente, et plus particulièrement celle du potentiel de membrane, à un schéma général du traitement de l'information olfactive et de proposer son implication dans la formation d'assemblée de neurones.

Mots-clefs: bulbe olfactif, oscillation, potentiel de membrane, potentiel de champ local, activité de décharge, respiration

Discipline

Neurosciences

Intitulé et adresse du laboratoire

Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon
CNRS UMR5292 - INSERM U1028
Equipe Olfaction : du codage à la mémoire
50, avenue Tony Garnier
69322 Lyon cedex 07
France

Slow rhythm of the olfactory bulb : study of membrane potential oscillations of mitral/tufted cells and their relationships with discharge and network activities

Abstract

The respiration-related slow rhythm strongly shapes the activity of the olfactory bulb. This rhythm is characterized by high amplitude oscillations in the local field potential, respiration synchronization of mitral/tufted (M/T) cell discharge and slow oscillation of M/T cell membrane potential (OLPM). Specific relationships between these activities could determine the M/T cell participation to olfactory processing. However, little is known on these relationships. The aim of my thesis has been to characterize M/T cell OLPM and to study the relationships between OLPM and both discharge and bulbar network activities. In this way, we recorded simultaneously intracellular activity of M/T cell and local field potential of olfactory bulb in anesthetized freely breathing rat. We showed that several types of OLPM can be distinguished and exhibited specific relationship with the respiration-synchronization of M/T cell discharge activity. We observed also specific and complex relationships between OLPM and local field potential oscillation. Taken together, our results allowed us to integrate slow rhythm, and more particularly OLPM, in the more general scheme of olfactory processing.

Key words : olfactory bulb, oscillation, membrane potential, local field potential, discharge activity, respiration

Discipline

Neurosciences

Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon
CNRS UMR5292 - INSERM U1028
Equipe Olfaction : du codage à la mémoire
50, avenue Tony Garnier
69322 Lyon cedex 07
France

Remerciements

A présent, je suis arrivée à la fin de cette merveilleuse aventure qu'est la thèse !!! Au cours de ce parcours, un certain nombre de personnes m'ont apporté leur aide et/ou leur soutien. Je tiens, maintenant, à les en remercier.

Pour commencer, je tiens à remercier Madame Valérie Raymond et Messieurs Alan Carleton et Serge Charpak pour avoir pris le temps de lire mon manuscrit et de venir à ma soutenance pour juger mon travail.

Je remercie également Monsieur Rémi Gervais pour avoir accepté d'être le président de mon Jury de thèse et surtout pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Je tiens également à remercier tous les membres du laboratoire « Neurosciences sensorielles comportement cognition » pour l'agréable environnement de travail auquel ils participent et pour l'aide qu'ils ont pu m'apporter tout au long de passage.

Je remercie plus particulièrement les 4 garçons de l'équipe « recherche et développement » pour leur disponibilité et leur patience. Je voulais également remercier les secrétaires gestionnaires du laboratoire qui ont rendu chaque commande et chaque déplacement facile.

Je remercie très chaleureusement chaque membre de la nouvelle équipe du professeur Gervais pour leur gentillesse, leur disponibilité et leur soutien qui m'ont beaucoup aidé, surtout ces derniers mois.

Merci également aux étudiants du bureau 108 et assimilé: Agnès Savignier, Tristan Cenier, Julie Chapuis, Nicolas Torquet, Nolwen Rey, Florence Kermen, Chloé Hegoburu, Regis Parmentier, Maxime Sauvageon, Dolly Al Koborssy, Frédéric Michon, Sarah Petrysin, Frédéric Esclassan !!! Merci aussi à Germain Busto et Sébastien Sultan pour m'avoir introduit dans cet univers !!!

A présent, je pense qu'un simple remerciement ne suffirait pas à exprimer mes sentiments pour chaque membre de l'équipe « intégration des signaux olfactifs et processus dynamiques ». Merci Philippe, Nathalie, Nicolas, et surtout Corine de m'avoir accueilli dans votre « famille », de m'avoir fait découvrir et initiée à l'électrophysiologie, de m'avoir permis de m'épanouir scientifiquement.

Merci Nicolas pour l'aide, les connaissances...apporté au cours de ce travail de thèse.

Merci Nathalie pour ton écoute, ton enthousiasme, ta bonne humeur qui m'ont permis d'évoluer scientifiquement et personnellement.

Merci Corine de m'avoir permis de tant apprendre, d'avoir su me guider et de m'encourager à repousser mes limites.

D'un point de vue personnel, je souhaite remercier mes amis. Plus particulièrement, merci Catherine !! Merci Manue (Et oui !! Bien sur que tu apparais dans mes remerciements Emmanuelle Courtiol, mais après tout les moments qu'on a partagé et tout le soutien que tu m'as apportée, tu es devenue, à mes yeux, une amie !!!).

Je tiens également à remercier la famille Pelletier / Pateau pour leur soutien et les moments de détente conviviales partagées.

Un immense merci à ma famille !!! Merci Frère, Merci Mumu pour votre soutien, votre présence, votre bonne humeur !! Merci Papa, Merci Maman de m'avoir permis, encouragée et soutenue à faire ce dont j'ai envie !!!

Pour conclure, un grand merci à toi, Julien, pour m'avoir supportée tout le long, pour m'avoir encouragée, réconfortée dans mes moments de doutes et de m'avoir permis de tenir jusqu'au bout !!!!! J'ai hâte et suis rassurée de partager avec toi notre nouvelle aventure Suédoise !!!

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Secrétaire Général

M. A. Bonmartin

M. le Professeur G. Annat

M. le Professeur D. Simon

M. le Professeur J-F. Mornex

M. G. Gay

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

UFR d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur
J. Etienne

Directeur : M. le Professeur F-N. Gilly

Directeur : M. le Professeur D. Bourgeois

Directeur : M. le Professeur F. Locher

Directeur : M. le Professeur Y. Matillon

Directeur : M. le Professeur P. Farge

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

Département Sciences de la Terre

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire de Lyon

Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon 1

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Institut de Science Financière et d'Assurances

Institut Universitaire de Formation des Maîtres

Directeur : M. le Professeur F. Gieres

Directeur : M. le Professeur F. Fleury

Directeur : Mme le Professeur H. Parrot

Directeur : M. N. Siauve

Directeur : M. le Professeur S. Akkouche

Directeur : M. le Professeur A. Goldman

Directeur : M. le Professeur H. Ben Hadid

Directeur : Mme S. Fleck

Directeur : Mme le Professeur I. Daniel

Directeur : M. C. Collignon

Directeur : M. B. Guiderdoni

Directeur : M. P. Fournier

Directeur : M. G. Pignault

Directeur : M. le Professeur C. Coulet

Directeur : M. le Professeur J-C. Augros

Directeur : M. R. Bernard

« Les esprits qui s'élèvent et deviennent vraiment grands, sont ceux qui ne sont jamais satisfaits d'eux-mêmes dans les œuvres accomplies, mais qui tendent toujours à mieux dans les œuvres nouvelles ».

Claude Bernard

Sommaire

Liste des abréviations	12
1. INTRODUCTION	13
Avant propos : la représentation de l'information	14
1.1. Description du système olfactif	16
1.1.1. La muqueuse olfactive	17
1.1.2. Le bulbe olfactif	20
1.1.2.1. Organisation et composantes cellulaires	20
1.1.2.1.1. La couche des nerfs olfactifs	21
1.1.2.1.2. La couche glomérulaire	21
1.1.2.1.3. La couche plexiforme externe	26
1.1.2.1.4. La couche des cellules mitrales	27
1.1.2.1.5. La couche plexiforme interne	30
1.1.2.1.6. La couche des cellules granulaires	30
1.1.2.1.7. La zone sous-épendymaire	31
1.1.2.2. Synaptologie et neurotransmission	32
1.1.2.2.1. Au niveau de la couche glomérulaire	32
1.1.2.2.2. Au niveau de la couche plexiforme externe	36
1.1.2.2.3. Au niveau de la couche des cellules granulaires	37
1.1.3. Les projections centripètes et centrifuges du bulbe olfactif	39
1.1.3.1. Les projections centripètes	39
1.1.3.2. Les projections centrifuges	40
1.2. La représentation spatiale de l'information olfactive	43
1.2.1. Généralités : codage spatio-temporel de l'information sensorielle	43
1.2.2. La représentation spatiale de l'information olfactive	43
1.2.2.1. Les projections épithélio-bulbaires	44
1.2.2.2. Activation spatiale de la couche glomérulaire	45
1.2.2.3. Les colonnes glomérulaires	46
1.3. Les dynamiques temporelles participant à la représentation de l'information olfactive	47
1.3.1. Exemple du rythme thêta	48
1.3.2. Les dynamiques lentes liées à la respiration	50
1.3.2.1. Dynamique lente dans la couche glomérulaire	50
1.3.2.2. Dynamique lente du potentiel de champ local	53
1.3.2.3. Dynamique lente des activités unitaires	55
1.3.2.3.1. Au niveau de l'activité de décharge	55
1.3.2.3.2. Au niveau du potentiel de membrane	57
1.3.2.4. Origines du rythme lent lié à la respiration	59
1.3.2.5. Les rôles fonctionnels supposés du rythme lent du bulbe olfactif	62
1.3.3. Les dynamiques rapides	63

1.3.3.1. Les oscillations rapides du potentiel de champ local.....	63
1.3.3.2. Les oscillations rapides sous-limaires du potentiel de membrane.....	65
1.3.3.3. Relation entre l'activité de décharge des cellules M/P et les oscillations rapides du potentiel de champ local	66
2. PROBLÉMATIQUE	69
3. RÉSULTATS	73
3.1 Les oscillations lentes du potentiel de membrane des cellules M/P et leurs relations avec l'activité de décharge	74
3.1.1. Résumé de l'article	74
3.1.2. Article.....	77
3.2. Résultats complémentaires	101
3.2.1. Amplitude et niveaux « haut » et « bas » de potentiel	102
3.2.1.1. Méthodes	102
3.2.1.2. Résultats	102
3.2.1.2.1. Amplitude des OLPM	102
3.2.1.2.2. Niveaux « haut » et « bas » de potentiel de membrane	104
3.2.2. Étude complémentaire des relations entre les oscillations lentes du potentiel de membrane et la respiration	107
3.2.2.1. Méthodes	107
3.2.2.2. Résultats	108
3.2.3. Relations entre les oscillations lentes intracellulaires et les oscillations lentes du potentiel de champ local : quelques résultats préliminaires	112
3.2.3.1. Méthodes	112
3.2.3.2. Résultats	115
3.2.4. Étude préliminaire des activités fines de décharge en fonction des associations « patrons respiratoires de décharge/OLPM »	119
3.2.4.1. Méthodes	120
3.2.4.2. Résultats	120
4. DISCUSSION GÉNÉRALE	123
4.1. Synthèse des principaux résultats	124
4.2. Origine du rythme lent du bulbe olfactif	125
4.3. Implications possibles des activités fines de décharge dans le codage de l'information olfactive	127
4.4. Risques liés à la complexité des outils d'analyse utilisés	130
4.5. Perspectives	131

5. ANNEXES	133
5.1. Communications affichées	134
5.2. « Proceeding »	146
6. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	154

Liste des abréviations

Abréviations	Nom complet
AMPA	Acide α -Amino-3-hydroxy-5-Methylisozol-4-Propionate
CA	Corne D'Amont
Cellules M/P	Cellules Mitral et/ à panache
CNG	Canal Cyclic-Nucleotide-Gated
GABA	Acide Gamma-Amino-Butyrique
I_h	Courant cationique activé par hyperpolarisation
I_D	Courant potassique à rectification retardée
I_{Na}	Courant sodique transitoire
I_{Nap}	Courant sodique persistant
I_{SK}	Courant potassique calcium-dépendant à faible conductance
I_t	Courant calcique à bas seuil de type transitoire
mGluR	Récepteur métabotrope au glutamate
NMDA	Acide N-Méthyl-D-Aspartique
NoS	Patron de décharge non synchronisé à la respiration
OLPM	Oscillation lente du potentiel de membrane
PCL	Potentiel de Champ local
S+	Patron de décharge simple synchronisé excitateur
S-	Patron de décharge simple synchronisé inhibiteur
Sc	Patron de décharge complexe synchronisé
TTX	Tetrodotoxine

1. Introduction

Avant propos : la représentation de l'information

Qu'est ce qui permet à un mammifère de percevoir son environnement et de produire une réponse adaptée ? Cette question a inspiré la recherche de nombreux scientifiques depuis l'antiquité jusqu'à aujourd'hui. Les avancées technologiques progressives ont permis d'identifier le cerveau comme étant l'organe permettant l'intégration de l'information sensorielle et des processus cognitifs. Avec l'avènement des techniques d'enregistrements électrophysiologiques, nos connaissances sur les mécanismes permettant le traitement de l'information ont très rapidement évolué durant le XXème siècle. De nombreuses théories concernant le codage de l'information ont été développées suite notamment à la découverte d'oscillations électriques spécifiques de l'activité cérébrale par Caton (1875) puis Berger (1929) d'une part et celle de l'activité unitaire des neurones d'autre part (Adrian, 1950).

Les mécanismes permettant le traitement de l'information sensorielle doivent remplir plusieurs fonctions clés (Perkel & Bullock, 1968). Tout d'abord, ils doivent permettre la représentation du stimulus et dans ce cas, l'activité neuronale induite doit être caractéristique et spécifique du stimulus utilisé. Ensuite, ils doivent permettre l'interprétation du stimulus afin de l'identifier correctement et de produire la réponse adéquate. Enfin, un code neuronal efficace doit permettre la transformation ainsi que la transmission de l'information, c'est-à-dire que le code doit être capable de se propager d'une aire corticale à la suivante. Selon cette définition, plusieurs théories du codage de l'information ont été élaborées avec deux grands groupes : le codage fréquentiel et le codage temporel. **Le codage fréquentiel**, correspondant à un codage par taux de décharge, a été proposé dès les premiers travaux électrophysiologiques. Dans sa forme la plus simple, le codage fréquentiel correspond à la modification du taux de décharge d'un neurone induite par une stimulation. Il possède les désavantages de manquer de fidélité et de fiabilité.

Le deuxième concept de théorie du codage de l'information correspond au **codage temporel** qui fait intervenir l'heure d'émission des potentiels d'action. Cette famille de codage regroupe différents sous-types de théories. La forme la plus simple repose sur la latence du premier potentiel d'action émis suite à une stimulation. La deuxième théorie temporelle du codage de l'information correspond à celle dite du code barre. Selon cette théorie, un stimulus donné est codé au niveau d'un neurone par un enchaînement temporel précis et spécifique de potentiels d'action. Un des arguments soutenant cette théorie est le fait que l'application d'une stimulation entraîne un motif de décharge temporel spécifique. En revanche, la répétition du

même stimulus ne provoque pas exactement le même motif temporel de décharge illustrant un manque de fiabilité de ce code.

Actuellement, la théorie temporelle la plus importante concernant le codage de l'information est celle du **codage par assemblée de neurones** ou codage populationnel. Soupçonnée par Sherrington (1941), elle a été définie par Hebb dès 1949 et repose sur les relations temporelles s'établissant entre les potentiels d'action émis par plusieurs neurones. En effet, des neurones formeraient une assemblée dont les potentiels d'action se produiraient de manière synchrone grâce à leur excitation simultanée. Les études du codage de l'information visuelle au niveau du cortex visuel primaire a permis de glisser vers une variante de la théorie du codage par assemblée de neurones faisant intervenir des phénomènes oscillatoires présents au niveau d'un réseau (Gray & Singer, 1989). Cette variante est parfois rencontrée sous le nom de théorie par synchronisation d'assemblée de cellules oscillantes et dans ce cas, les oscillations de l'activité du réseau enregistrées au niveau du potentiel de champ local (PCL) serviraient d'horloge commune à la synchronisation des cellules (Pour revue : Singer & Gray, 1995 ; Singer, 1999 ; Uhlhaas et al., 2009). Lors de leur étude, réalisée au niveau du cortex visuel de chat, Gray & Singer (1989) mettent en évidence que les neurones de cette structure, lorsqu'ils sont stimulés de manière optimale, développent systématiquement un patron de décharge rythmique associé à des oscillations du PCL de grande amplitude et dont la fréquence est comprise entre 25 et 65 Hz en fonction du stimulus. L'activité de décharge de neurones adjacents tend à se produire de manière synchrone : leurs potentiels d'action se produisant préférentiellement pendant la phase descendante de l'oscillation de réseau. Depuis cette étude, de nombreuses données obtenues chez l'animal anesthésié ou en comportement, sont venues étayer cette hypothèse de codage par assemblée de neurones et ont permis de l'étendre à un grand nombre de structures du système nerveux central (O'Keefe & Reece, 1993 ; Canolty *et al.*, 2010). La théorie du codage par assemblée de neurones présente plusieurs avantages. Tout d'abord, cette théorie apparait robuste puisque la disparition d'un neurone donné n'empêchera pas la reconnaissance du stimulus. Ensuite, elle apporte une meilleure fiabilité du code et permet également la représentation simultanée de plusieurs attributs d'un même stimulus en utilisant une combinaison de plusieurs assemblées de neurones. Un autre avantage de cette théorie est qu'elle permet une certaine plasticité. Le renforcement spécifique de certaines synapses appartenant à une assemblée de neurones serait un des processus permettant la mise en mémoire d'un stimulus lors de sa présentation répétée. La théorie du codage par assemblée de neurones est également avantageuse d'un point de vue énergétique. En effet, les oscillations du PCL comme synchronisateur de l'activité de décharge correspond au mécanisme physique le moins coûteux énergétiquement (Winfrey, 1980 ; Mirollo & Strogatz, 1990). Par ailleurs, la théorie du codage

par assemblée de neurones n'exclut pas la possibilité que certains aspects d'un stimulus puissent être codés par une variation du taux de décharge ou par une modification de la latence du premier potentiel d'action au niveau des neurones participant à l'assemblée.

Ce codage par assemblée de neurones met en évidence l'importance de l'activité rythmique des cellules que ce soit au niveau du PCL et donc de l'activité globale du réseau, ou au niveau de l'activité unitaire de la décharge des potentiels d'action et des oscillations du potentiel de membrane. Plus particulièrement, des rythmes dont la fréquence est inférieure à 10 Hz semblent jouer un rôle central pour le traitement de l'information dans l'ensemble des aires cérébrales.

Dans ce cadre, je me suis intéressée au rythme lent présent au niveau du bulbe olfactif de rat anesthésié. La suite de mon introduction aura donc pour objectif de présenter les connaissances actuelles concernant ce rythme en particulier et la représentation de l'information olfactive en général.

La première partie de mon introduction sera consacrée à la description du système olfactif de rongeurs en s'attardant plus particulièrement sur le bulbe olfactif qui est le premier relais central de l'information olfactive et la structure d'intérêt de ma thèse. La deuxième partie de cette introduction présentera les connaissances actuelles de la représentation de l'information en abordant dans un premier temps des généralités sur le codage spatio-temporelle de l'information. Une seconde section s'intéressera à la composante spatiale du traitement de l'information olfactive. Étant donné leur importance dans ma thématique, les dynamiques temporelles seront décrites dans une troisième partie en séparant le rythme lent lié à la respiration qui m'intéresse plus particulièrement, des rythmes rapides.

1.1. Description du système olfactif

Dans cette première partie, nous présenterons les éléments neuronaux supportant l'olfaction. Le rat étant mon modèle d'étude, les données décrites par la suite concerneront principalement cet animal. Toutefois, le système olfactif est très conservé au cours de l'évolution ce qui permet de retrouver une organisation et un fonctionnement général similaire de l'insecte à l'Homme (Ache & Young, 2005).

Le système olfactif de rongeur est organisé en trois principaux étages (**Fig. 1.1**). En premier lieu, l'étage d'entrée, représenté par la muqueuse olfactive, sera brièvement décrit. Ensuite, une description fine du bulbe olfactif, premier relais central de l'information olfactive,

sera présentée. Enfin, une troisième partie détaillera les projections du bulbe olfactif vers les aires corticales primaires et les différents retours corticaux reçus par le bulbe olfactif.

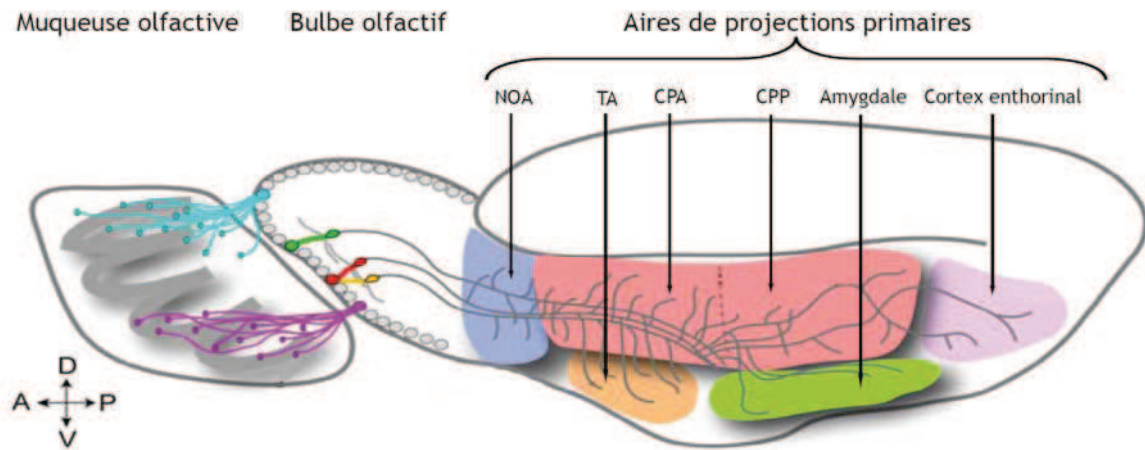


Figure 1.1 : Représentation schématique des trois premiers étages du système olfactif de rat : la muqueuse olfactive, le bulbe olfactif et les aires de projections primaires

NOA : Noyau olfactif antérieur, TA : tubercule olfactif. CPA : cortex piriforme antérieur, CPP : cortex piriforme postérieur, L'axe vertical correspond à l'orientation dorso (D) – ventral (V) tandis que l'axe antéro (A) – postérieur (P) est représenté de gauche à droite (*modifié d'après Miyamichi et al., 2011*).

1.1.1. La muqueuse olfactive

La muqueuse olfactive tapisse les parties supérieures et caudales du septum nasal et de la région de la lame criblée des cavités nasales. Elle est en continuité avec l'épithélium respiratoire et se compose de deux parties principales : l'épithélium olfactif et le chorion de tissu conjonctif. **L'épithélium olfactif** est un épithélium pseudo-stratifié composé de plusieurs types cellulaires : les cellules de soutien, les cellules basales, les cellules glandulaires et les neurorécepteurs olfactifs (**Fig. 1.2A**). Les cellules de soutien séparent et entourent les neurorécepteurs olfactifs tandis que les cellules basales sont observées en profondeur de l'épithélium et correspondent aux cellules souches à l'origine du renouvellement des neurorécepteurs olfactifs. L'épithélium olfactif est également parsemé de glandes de Bowman qui sont composées de cellules glandulaires. Celles-ci sécrètent le mucus recouvrant et protégeant l'épithélium olfactif. Les principales cellules de cet épithélium sont **les neurorécepteurs olfactifs**. Ces derniers sont des neurones sensoriels bipolaires qui permettent la transduction de l'information chimique olfactive en information électrique transmissible au système olfactif central. Ces neurorécepteurs se composent d'une dendrite apicale, d'un corps

cellulaire et d'un axone basal. Du côté de la cavité nasale, les dendrites apicales des neurorécepteurs olfactifs se terminent par des boutons olfactifs à la surface desquels se trouvent les cils olfactifs. Ces derniers, porteurs de protéines réceptrices, s'étendent à la superficie de l'épithélium et sont recouverts par le mucus. Du côté basal de l'épithélium, les axones des neurorécepteurs se rejoignent au niveau du chorion de tissu conjonctif pour former les différents faisceaux du nerf olfactif. Ceux-ci traversent la lame criblée de l'ethmoïde pour venir faire des synapses au niveau du bulbe olfactif ipsilatéral au sein de structures sphériques appelées glomérules. Les faisceaux d'axones des neurorécepteurs olfactifs sont entourés par des cellules de Schwann spécialisées appelées cellules engainantes. Par ailleurs, les neurorécepteurs olfactifs présentent la particularité d'exprimer un type de protéine spécifique appelé « olfactory marker protein ».

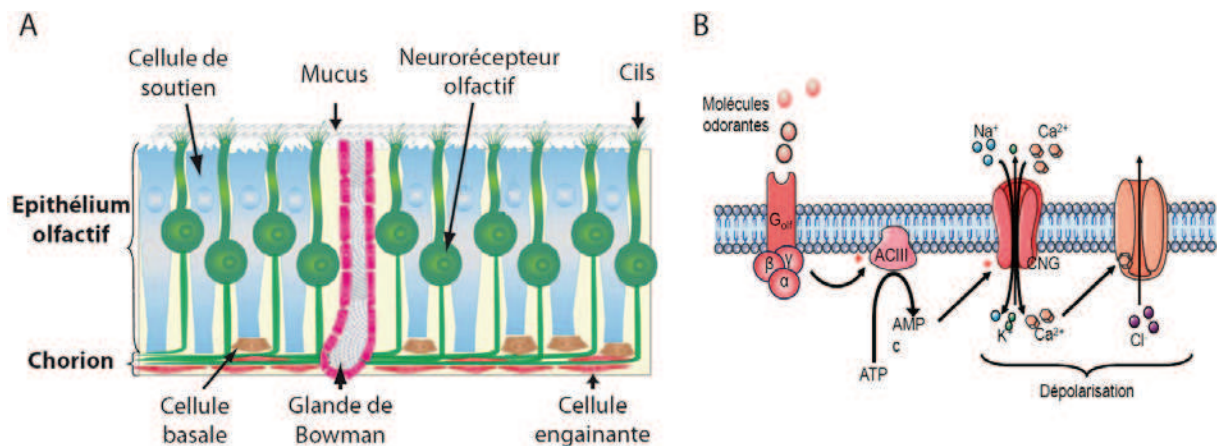


Figure 1.2 : Muqueuse olfactive et transduction du signal

- A) Représentation schématique de la muqueuse olfactive (Modifié d'après Ennis et al., 2007)
 B) Cascade de la transduction du signal olfactif induisant une dépolarisation du neurorécepteur olfactif. G_{olf} : protéine G_{olf} ; ACIII : Adénylate cyclase III ; ATP : Adénosine Tri-phosphate, AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique ; CNG : canal cyclic Nucleotide-gated.

Le rôle fonctionnel des neurorécepteurs olfactifs est de transformer le signal chimique porté par les molécules odorantes présentes dans l'air, en un signal électrique (Fig. 1.2B). Cette **transduction** du signal siège dans les cils des neurorécepteurs olfactifs et débute par la fixation de la molécule odorante sur les protéines réceptrices situées sur la membrane. Ces protéines sont formées de 7 segments transmembranaires et sont couplées à une protéine G spécifique : la protéine G_{olf} . La fixation de la molécule odorante entraîne l'activation de la protéine G ce qui aura pour conséquence d'activer l'adénylate cyclase de type III. Son activation induit une augmentation de la concentration en adénosine monophosphate cyclique (AMPc) qui entraîne, à son tour, l'ouverture d'un canal CNG (Cyclic Nucleotide-Gated) perméable au sodium, au

potassium et surtout au calcium. Ce dernier induit l'activation d'une conductance chlore dépendante du calcium. La concentration en ion chlore étant, de manière inhabituelle, plus importante dans la cellule que dans le mucus olfactif, l'ouverture de ce canal, couplé aux entrées de calcium et de sodium, induit une dépolarisation des cils du neurorécepteur olfactif. Cette dépolarisation s'étend passivement au sein du neurorécepteur jusqu'au cône axonique où, lorsqu'elle atteint un certain seuil, entraîne l'ouverture des canaux sodiques voltage-dépendants transitoires et donc l'émission de potentiels d'action. Ces potentiels d'action se propagent le long de l'axone et entraînent la libération de glutamate au niveau de leur terminaison située dans un unique glomérule (Shiple & Ennis, 1996). En parallèle de cette voie excitatrice, les molécules odorantes semblent également pouvoir induire une inhibition des neurorécepteurs olfactifs (Ache, 2010). Celle-ci serait, au moins en partie, médiée par la voie de signalisation intracellulaire impliquant l'inositol tri-phosphate (IP3) dont la cascade de signalisation mènerait à la régulation négative du canal CNG en inhibant son activation.

Les protéines réceptrices, présentes sur les membranes des cils des neurorécepteurs olfactifs, appartiennent à une famille d'environ 1000 protéines codées par 1000 gènes chez le rongeur (Buck & Axel, 1991). Il est généralement admis qu'un neurorécepteur exprime une seule protéine et qu'une protéine donnée est portée par environ 10 000 neurorécepteurs olfactifs. Le site de liaison de ces protéines réceptrices avec les molécules odorantes n'apparaît pas être très spécifique puisqu'un neurorécepteur est capable de répondre à plusieurs molécules odorantes et qu'une molécule odorante peut se fixer sur plusieurs protéines réceptrices (Malnic *et al.*, 1999 ; Duchamp-Viret *et al.*, 2000). Toutefois, les odeurs qui activent la même protéine réceptrice partagent généralement des caractéristiques moléculaires spécifiques (Zhao *et al.*, 1998 ; Krautwurst *et al.*, 1998 ; Touhara *et al.*, 1999 ; Malnic *et al.*, 1999). Par ailleurs, des études électrophysiologiques ont mis en évidence qu'un neurorécepteur, pris individuellement, réponds avec différents degrés d'excitation ou d'inhibition aux différentes odeurs (Duchamp-Viret *et al.*, 1999). Les caractéristiques de la réponse des neurorécepteurs olfactifs telles que la durée, la latence ou la fréquence de décharge vont donc être spécifiques de la nature et de la concentration de l'odeur (Duchamp-Viret *et al.*, 1999).

D'autre part, des études de biologie moléculaire par hybridation *in situ* ont mis en évidence que l'épithélium olfactif peut être divisé en quatre zones selon l'axe rostro-caudal de la cavité nasale (Astic & Saucier, 1986 ; Ressler *et al.*, 1993 ; Vassar *et al.*, 1993). Les neurorécepteurs olfactifs, en fonction de la protéine qu'ils expriment, sont confinés dans l'une de ces zones. Au sein de la zone, leur répartition est aléatoire. Les neurorécepteurs olfactifs ne possèdent donc qu'une répartition grossière en quatre zones au niveau de l'épithélium olfactif.

1.1.2. Le bulbe olfactif

Suite à l'épithélium olfactif, l'information olfactive est transmise au bulbe olfactif. Celui-ci est donc la première structure du système nerveux central à intégrer l'information olfactive. Décrit dès 1875 par Golgi, il est situé à l'avant du cerveau chez les rongeurs et correspond à un paléocortex dont l'organisation est concentrique et laminaire. Le bulbe olfactif étant le sujet d'étude de ma thèse, les paragraphes suivants en apporteront une description détaillée en débutant par son organisation et ses composantes cellulaires. Dans un deuxième temps, je décrirai les connaissances actuelles sur la synaptologie et les neurotransmetteurs impliqués.

1.1.2.1. Organisation et composantes cellulaires

Le bulbe olfactif s'organise en six couches avec de l'extérieur vers l'intérieur (**Fig. 1.3**) : la couche des nerfs olfactifs, la couche glomérulaire, la couche plexiforme externe, la couche des cellules mitrales, la couche plexiforme interne, la couche des cellules granulaires.

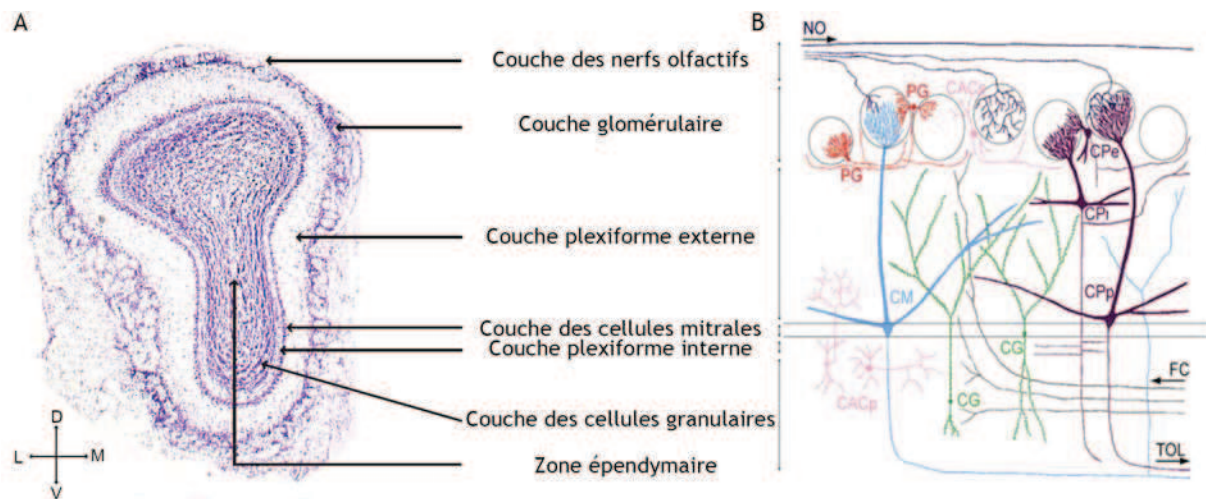


Figure 1.3 : Le bulbe olfactif

- A) Histologie de bulbe olfactif. Les somas des neurones ont été marqués au crésyl violet. D : dorsal ; V : ventral ; L : latéral ; M : médiane
- B) Représentation schématique de l'histologie du bulbe olfactif suite à une coloration de Golgi (Modifié d'après Shepherd, 1972). NO : axones des neurorécepteurs olfactifs ; PG : cellule périglomérulaire ; CACs : cellule à axone court superficielle ; CPE : cellule à panache externe, CPI : cellule à panache intermédiaire ; CPp : cellule à panache profonde ; CM : cellule mitrale ; CG : cellule granulaire ; CACp : cellule à axone court profonde ; FC : fibres centrifuges ; TOL : tractus olfactif latérale.

Chacune des couches du bulbe olfactif possède une composition cellulaire spécifique et fera l'objet d'un paragraphe individuel. Comme une zone sous-épendymaire peut également être distinguée en son centre, celle-ci sera brièvement décrite dans une septième section.

1.1.2.1.1. La couche des nerfs olfactifs

Cette première couche forme l'entrée du bulbe olfactif et est principalement composée par les axones des neurorécepteurs olfactifs. Elle contient également des cellules engainantes qui entourent les axones, et des astrocytes dans sa partie la plus profonde.

1.1.2.1.2. La couche glomérulaire

La couche glomérulaire se compose d'unités fonctionnelles sphériques appelées glomérules au sein desquelles l'information portée par les neurorécepteurs olfactifs est transmise aux cellules principales du bulbe olfactif (Shiple & Ennis, 1996). Chez le rat, environ 4200 glomérules d'un diamètre compris entre 80 et 160 μm sont présents et isolés les uns des autres par des astrocytes (Royet *et al.*, 1998). A leur périphérie, ils sont délimités par le soma de certaines cellules juxta-glomérulaires (décrites plus loin). Tandis que leur centre se compose de terminaisons axonales des neurorécepteurs olfactifs, de l'arborisation terminale d'une vingtaine de cellules principales du bulbe olfactif, de neurites de 1500 à 2000 cellules juxta-glomérulaires et de prolongements de cellules gliales (Fig. 1.3B ; Shipley & Ennis, 1996).

Le terme **cellule juxta-glomérulaire** regroupe plusieurs types d'interneurones aux morphologies et propriétés fonctionnelles différentes mais dont les somas se situent à proximité des glomérules. Généralement, on distingue les cellules périglomérulaires, les cellules à axone court et les cellules à panache externes. Les **cellules périglomérulaires**, libérant principalement du GABA (Gamma amino-butyric acid) et / ou de la dopamine, sont les interneurones inhibiteurs les plus nombreux de cette couche. Ces cellules se composent d'un soma sphérique ou ovoïde d'un diamètre compris entre 5 et 8 μm situé en périphérie d'un glomérule, et de dendrites qui s'étendent au sein d'une sous-région d'un seul glomérule (Fig. 1.4A ; Hayar *et al.*, 2004b). Les cellules périglomérulaires présentent rarement des axones. Ces derniers, lorsqu'ils sont présents, s'étendent sur une distance équivalente à 4 ou 5 glomérules réalisant des relations inter-glomérulaires. Les propriétés électrophysiologiques des cellules

pérglomérulaires sont rapportées dans le **tableau 1.1**. *In vivo*, l'activité de décharge spontanée est variable puisque, pour certains neurones, elle est relativement importante alors que pour d'autre, elle est absente (**Fig. 1.5A** ; Wellis & Scott, 1990). De plus, les potentiels d'action semblent pouvoir être émis selon deux modes. En effet, ils peuvent se produire soit de manière isolée soit en « burst » c'est-à-dire sous la forme d'une salve se greffant sur une dépolarisation caractéristique du potentiel de membrane (Wellis & Scott, 1990). Les cellules pérglomérulaires, enregistrées à partir de préparation de tranches isolées de bulbe olfactif, présentent des caractéristiques différentes : une faible activité spontanée avec peu de potentiels d'action et seule l'activité de décharge en potentiels d'action isolés semble pouvoir être exprimée, aucune activité de décharge en « burst » n'étant observée (**Fig. 1.5A** ; Hayar *et al.*, 2004a et b).

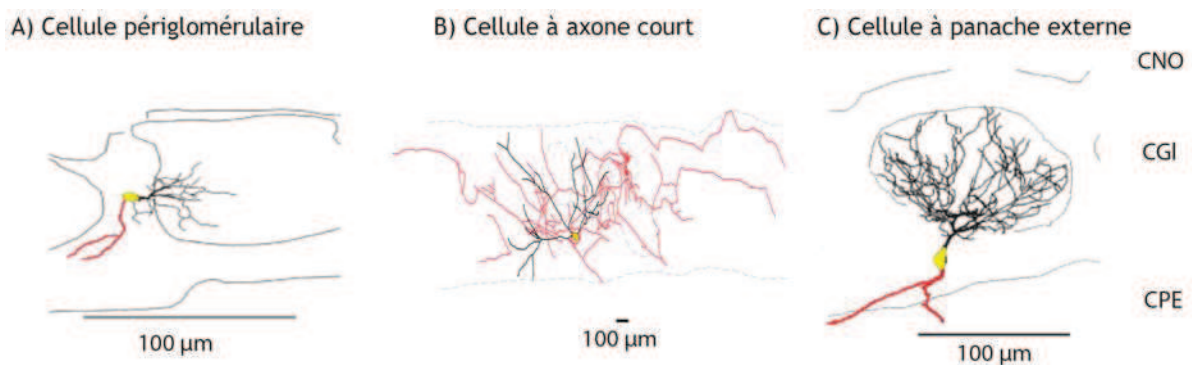


Figure 1.4 : Morphologie des différentes cellules juxta-glomérulaires : une cellule pérglomérulaire (A), une cellule à axone court (B) et une cellule à panache externe (C). En noir : les dendrites ; en jaune : les somas ; en rouge : les axones. CNO : couche des nerfs olfactifs, CGI : couche glomérulaire, CPE : couche plexiforme externe (Modifié d'après Hayar *et al.*, 2004b et Aungst *et al.*, 2003)

La deuxième catégorie de cellules juxta-glomérulaires correspond aux **cellules à axone court** (**Fig. 1.4B**). Ces cellules ont un soma de 8 à 12 µm en périphérie du glomérule. Elles possèdent 3 à 5 dendrites peu ramifiées qui contactent 2 à 4 glomérules et un axone d'environ 1 à 2 mm de long pouvant également relier plusieurs glomérules (Aungst *et al.*, 2003 ; Hayar *et al.*, 2004b). Les propriétés électrophysiologiques des cellules à axone court sont reportées dans le **tableau 1.1**. Jusqu'à présent, ces cellules n'ont pas été étudiées *in vivo*, les propriétés reportées concernent donc uniquement celles obtenues sur des tranches isolées de bulbe olfactif. Ce type cellulaire aurait comme neurotransmetteur le glutamate. Cependant, il a récemment été proposé qu'une deuxième population de cellules à axones court pouvait être différenciées. Celle-ci serait GABAergique et Dopaminergique (Kyokage *et al.*, 2010 ; Liu *et al.*, 2011). *In vitro*, les cellules à axone court présente une activité de décharge spontanée similaire à celle de cellules

périglomérulaires enregistrées *in vitro* c'est-à-dire avec peu de potentiels d'action isolés et aucune activité de décharge de type « bursting » (Fig. 1.5B; Hayar *et al.*, 2004a et b).

Type de cellules		PM (mV)	R (MΩ)	Présence d'activité de décharge spontanée	Type de décharge spontanée	Neurotransmetteurs	Source
Cellules périglomérulaires	<i>In Vitro</i>	-65	1050	Faible	Potentiels d'action isolés, pas de « burst »	GABA /Dopamine	Hayar <i>et al.</i> , 2004a
	<i>In Vivo</i>			Variable	Potentiels d'action isolés ou « bursts »		Wellis & Scott, 1990
Cellules à axone court	<i>In vitro</i>	-62	642	Faible	Potentiels d'action isolés, pas de « burst »	Glutamate	Aungst <i>et al.</i> , 2003 ; Hayar <i>et al.</i> , 2004
	<i>In vivo</i>						
Cellules à panache externes	<i>In vitro</i>	-53	194	Rythmique	« Bursts »	Glutamate	Hayar <i>et al.</i> , 2004a et b
	<i>In vivo</i>			Absente (d'après les tracés)			Luo & Katz, 2001
Cellules mitrales / à panache	<i>In vitro</i>	-65.5	32.9	Variable	Potentiels d'action isolés & / ou « bursts »	Glutamate	Chen & Shepherd, 1997a ; Palouzier-Paulignan, communication personnelle
	<i>In vivo</i>	/- 56	19/115	Variable	Potentiels d'action isolés & / ou « bursts »		Wellis et Scott, 1990 / Cang & Isaacson, 2003
Cellules granulaires	<i>In vitro</i>	-66	980	Absente ou faible		GABA	Schoppa <i>et al.</i> , 1998 ; Nai <i>et al.</i> , 2010
	<i>In vivo</i>	/- 63	65/332	Absente ou faible	Potentiels d'action isolés & « bursts »		Wellis & Scott, 1990 / Cang & Isaacson, 2003

Tableau 1.1 : Propriétés électrophysiologiques des cellules composant le bulbe olfactif

Les valeurs de potentiel de membrane (PM) et de résistance d'entrée (R) précisées avant la séparation '/' sont issues de Wellis & Scott (1990) tandis que celles mentionnées après ont pour source Cang & Isaacson (2003). La différence de valeurs obtenue peut être due à la différence de techniques puisque Wellis & Scott utilise des électrodes à pointes fines alors que Cang & Isaacson utilise une électrode de patch clamp en configuration Whole-cell.

Les **cellules à panache externes** forment la dernière catégorie de cellules juxta-glomérulaires (**Fig. 1.4C**). Elles ont un corps cellulaire de 10 à 15 μm situé dans la moitié profonde de la couche glomérulaire et à la limite avec la couche plexiforme externe. Leur dendrite apicale se caractérise par un arbre dendritique très vaste qui se ramifie au sein d'un seul glomérule et plus rarement au sein de deux glomérules adjacents (Hayar *et al.*, 2004b). Seulement 37% des cellules à panache externes possèdent des dendrites secondaires. Lorsqu'elles sont présentes, celles-ci s'étendent à la surface de la couche plexiforme externe. Les axones de ce type cellulaire peuvent avoir différentes cibles : les cellules périglomérulaires, les cellules à axone court et plus rarement le cortex olfactif. Récemment, il a été montré que ces axones pouvaient également se projeter dans la couche plexiforme interne au niveau de colonne glomérulaire située à distance mais recevant les axones de neurorécepteurs portant les mêmes protéines réceptrices (Zhou & Belluscio, 2008). Les propriétés électrophysiologiques des cellules à panache externes sont rapportées dans le **tableau 1.1**. Ces cellules sont glutamatergiques. *In vivo*, seule une oscillation du potentiel de membrane au rythme de la respiration, sans potentiel d'action, est observable en période d'activité spontanée sur des enregistrements intracellulaires (**Fig. 1.5C** ; Luo & Katz, 2001). Lors d'une stimulation odorante, une activité « bursting » avec des potentiels d'action se greffant à l'oscillation du potentiel de membrane est observée dans la majorité des cas même si des potentiels d'action isolés peuvent être présent (Luo & Katz, 2001). *In vitro*, les cellules à panache externes présentent une activité de décharge spontanée de type « bursting » se produisant à une fréquence d'environ 3 Hz (**Fig. 1.5C** ; McQuinston & Katz, 2001 ; Hayar *et al.*, 2004a ; De Saint Jan *et al.*, 2009 ; Dong *et al.*, 2009). Les mécanismes et implications de cette activité « bursting » des cellules à panache externes sont présentés lors de la description du rythme lent lié à la respiration (section 1.3.1.4).

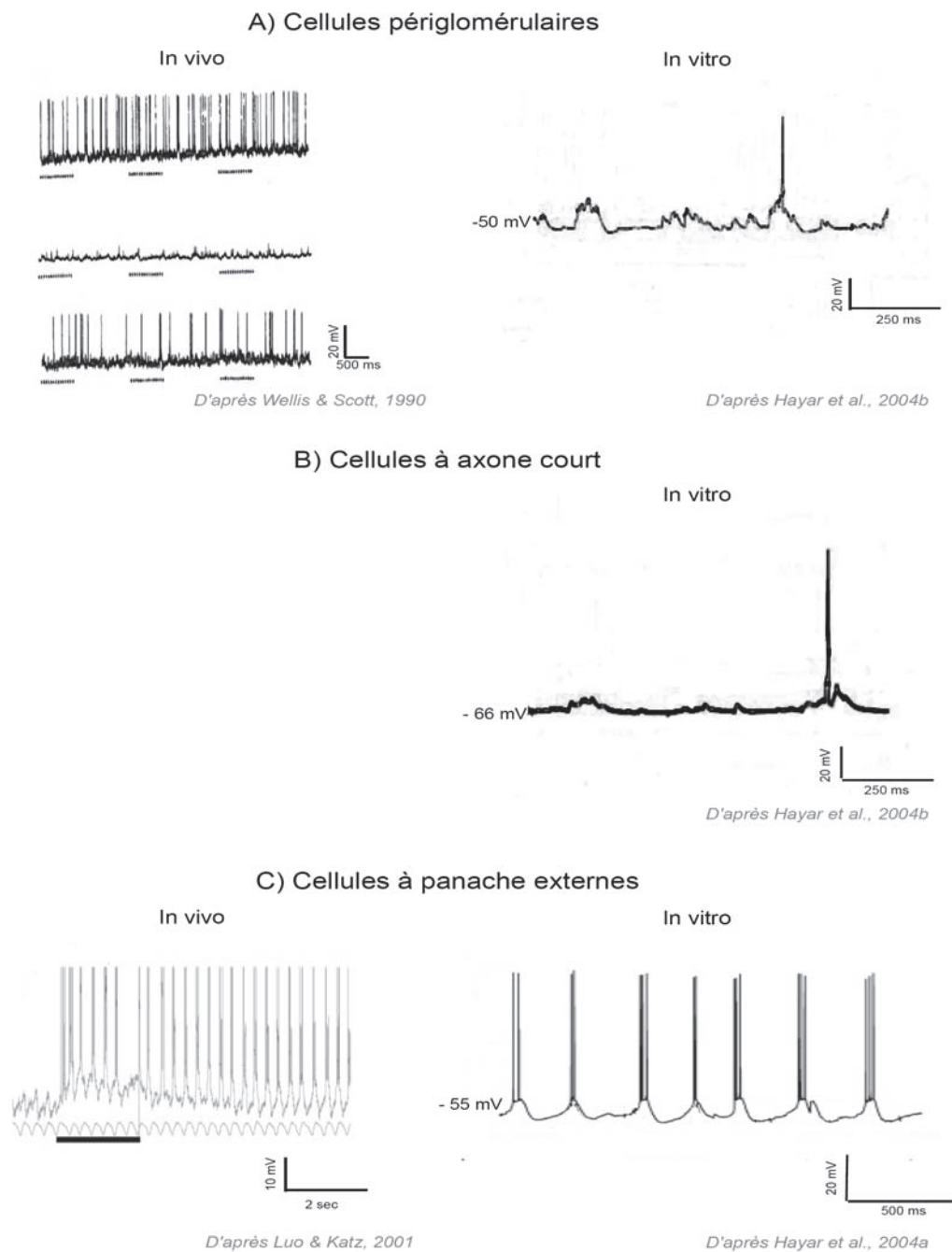


Figure 1.5 : Exemples d'enregistrement intracellulaire *in vivo* et *in vitro* des cellules juxta-glomérulaires : une cellule périglomérulaire (A), une cellule à axone court (B) et une cellule à panache externe (C).

En A, les traits noirs situés sous les enregistrements matérialisent les phases d'inspiration. En C, le tracé intracellulaire *in vivo* est accompagné par le signal respiratoire. Le tracé noir situé au dessous représente la période de stimulation odorante.

1.1.2.1.3. La couche plexiforme externe

La couche plexiforme externe est la couche la plus épaisse du bulbe olfactif (Fig. 1.3A). Elle se compose des dendrites apicales des cellules principales du bulbe olfactif ainsi que de leurs dendrites latérales, des dendrites des cellules granulaires et des corps cellulaires de **cellules à panache** (Fig. 1.3B). En fonction de la localisation de leur soma, les cellules à panache peuvent être divisées en cellules à panache intermédiaires et cellules à panache profondes (Fig. 1.6). Les cellules à panache intermédiaires ont leur soma dans les deux tiers supérieurs de la couche plexiforme externe tandis que ceux des cellules à panache profondes se situent dans le tiers le plus profond (Macrides & Schneider, 1982 ; Orona *et al.*, 1984). Les dendrites secondaires de ces dernières s'étendent latéralement et de manière symétrique par rapport à leur soma dans la couche plexiforme externe. En revanche, les dendrites secondaires des cellules à panache intermédiaires possèdent des caractéristiques intermédiaires entre les cellules à panache externes et profondes. Quelles soient profondes ou intermédiaires, les cellules à panache possèdent une dendrite apicale avec une large arborisation dans un seul glomérule et un axone se projetant vers le cortex olfactif primaire faisant de ces cellules l'un des deux types de cellules principales du bulbe olfactif. De plus, ces cellules à panache (intermédiaires et profondes) sont glutamatergiques et possèdent des propriétés similaires. Elles seront retrouvées dans la suite de mon travail sous le nom de cellule à panache. Leurs caractéristiques électrophysiologiques étant proche de celles des cellules mitrales (deuxième type de cellules principales du bulbe olfactif), elles seront retrouvées dans la section suivante.

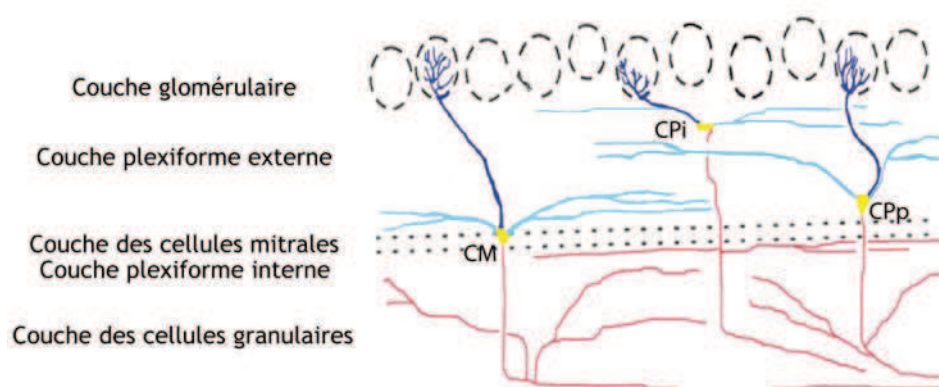


Figure 1.6 : Morphologie des cellules principales du bulbe olfactif

En bleu foncé : les dendrites apicales ; en bleu clair : les dendrites latérales ; en jaune : les somas ; en rouge : les axones. CM : cellule mitrale, CPI : cellule à panache intermédiaire, CPp : cellule à panache profonde. (Modifié d'après Shepherd *et al.*, 2004).

Au sein de la couche plexiforme externe, il est également possible d'observer un certain nombre d'interneurones, tels que les cellules de van Gehuchten, dont les caractéristiques et le rôle sont encore mal connus (Shepherd *et al.*, 2004).

1.1.2.1.4. *La couche des cellules mitrales*

La couche des cellules mitrales est une couche très riche en corps cellulaires puisqu'elle est composée d'environ 40 000 somas de cellules mitrales. Ces dernières forment, avec les cellules à panache, les cellules principales du bulbe olfactif et permettent, via la libération de glutamate, la transmission de l'information olfactive aux aires de projections primaires. Comme les cellules à panache, les cellules mitrales se composent de quatre compartiments principaux (**Fig. 1.6**) : une dendrite apicale, des dendrites secondaires, un soma de 15 à 30 µm de diamètre et un axone. **La dendrite apicale** se projette dans un seul glomérule situé à la verticale de son soma (Price & Powell, 1970 ; Buonviso *et al.*, 1991) où elle se termine par une très large arborisation. **Les dendrites secondaires ou latérales** s'étendent sur environ 2 mm dans la couche plexiforme externe de manière tangentielle (Price & Powell, 1970). **Les axones** des cellules mitrales se projettent, via le tractus olfactif latéral, sur les aires corticales primaires de projections et plus particulièrement sur le cortex piriforme antérieur (Haberly & Price, 1977). Lors de leur passage au niveau de la couche plexiforme interne et de la couche des cellules granulaires puis dans le tractus olfactif latéral, les axones des cellules mitrales produisent des collatérales. Celles-ci permettent un contrôle de l'activité du bulbe olfactif lorsqu'elles se terminent dans la couche plexiforme interne ou dans la couche des cellules granulaires. Lorsqu'elles se forment dans le tractus olfactif latéral, elles permettent le transfert de l'information au cortex olfactif primaire tout comme les terminaisons axonales.

A partir de critères morphologiques, les classes I et II de cellules mitrales ont été décrites chez le rat (Orona *et al.*, 1984 ; Ezeh *et al.*, 1993). Les cellules mitrales appartenant au groupe I présentent des dendrites secondaires plus longues se situant dans la partie profonde de la couche plexiforme externe, et leur axone ne possède pas de collatérales au niveau des couches plexiforme interne et des cellules granulaires (Orona *et al.*, 1984). Par opposition, les cellules mitrales du groupe II ont des dendrites secondaires qui s'étendent dans la partie intermédiaire de la couche plexiforme externe et leur axone forme de nombreuses collatérales au sein des couches plexiforme interne et des cellules granulaires (Orona *et al.*, 1984). Ces distinctions morphologiques semblent être corrélées avec des différences de propriétés électrophysiologiques notamment au niveau de l'activité spontanée chez le rat anesthésié et

libre de respirer (Nica *et al.*, 2010). En effet, les cellules mitrales du groupe I auraient tendance à présenter un taux de décharge plus élevé que celui des cellules du groupe II (Nica *et al.*, 2010). La séparation de ces deux groupes de cellules mitrales reste toutefois complexe à la vue d'enregistrements intracellulaires réalisés *in vivo* et également *in vitro*. Ce type d'enregistrement met en évidence que l'activité spontanée des cellules mitrales est variable et peut être portée par des potentiels d'action isolés et / ou en « burst » (Fig. 1.7A).

En plus des propriétés électrophysiologiques reportées dans le **tableau 1.1**, les cellules mitrales présentent une composition spécifique en courants ioniques dont les plus connus sont répertoriés dans le **tableau 1.2**.

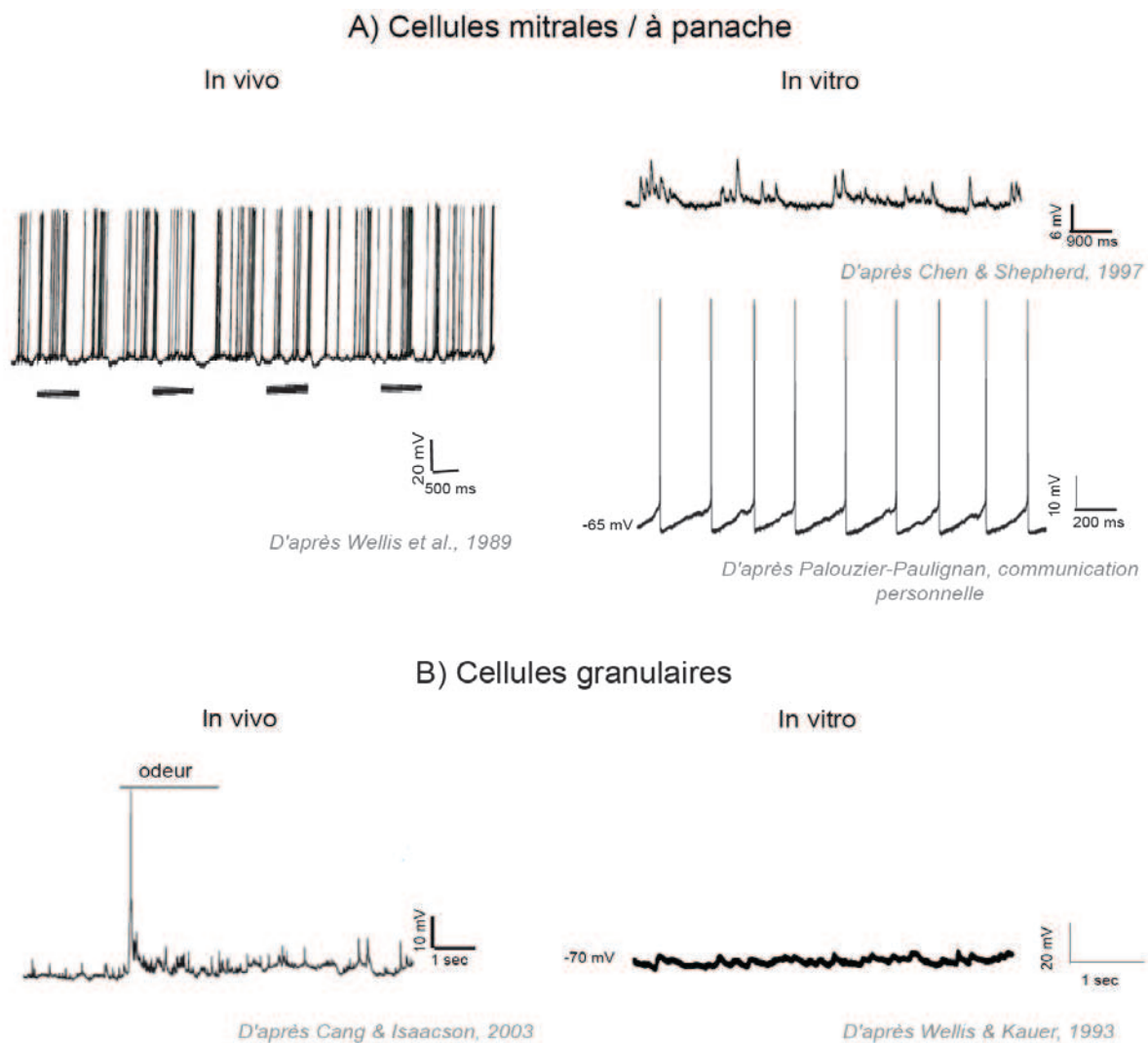


Figure 1.7 : Exemples d'enregistrement intracellulaire de cellules mitrales / à panache (A) et de cellules granulaires (B) obtenues *in vivo* et *in vitro*
En A, les traits noirs sous le tracé *in vivo* représentent les phases d'inspiration

Nom des courants	Espèce ionique concernée	Propriétés	Localisation			Action reconnues	Source
			Dendrite apicale	Soma	Dendrites latérales		
I_{Na}	Na^+	Activation transitoire par dépolarisation	++	++	++	Phase de dépolarisation des PA	Mori <i>et al.</i> , 1981
I_{Nap}	Na^+	Activation par dépolarisation & Inactivation lente	Présence supposée			Oscillation du PM	Desmaisons <i>et al.</i> , 1999
I_A	K^+	Activation transitoire par dépolarisation	+	++	+++	Atténuation de l'amplitude des PA & Régulation de la fréquence des PA	Kollo <i>et al.</i> , 2006 ; Kollo <i>et al.</i> , 2008, Christie & Westbrook, 2003
I_{KDR}	K^+	Activation retardée par dépolarisation & sans inactivation	++	++	++	Phase de repolarisation des PA & Oscillations du PM	Wang <i>et al.</i> , 1996
I_D	K^+	Activation retardée par dépolarisation & Allie une composante transitoire et une maintenue	++	+	++	Régulation de la fréquence de décharge	Balu <i>et al.</i> , 2004
I_{SK}	K^+	Activation par augmentation de la concentration intracellulaire en calcium & Inactivation lente	++		++	Régulation de la fréquence de décharge	Maher & Westbrook, 2005
I_T	Ca^{2+}	Activation transitoire à bas seuil par dépolarisation & nécessite une dé-inactivation	+++	-	+	Oscillation du PM	Johnston & Delaney, 2010
I_N, I_L	Ca^{2+}	Activation à haut seuil par une dépolarisation, peu d'inactivation	++	++	++	Genèse des PA	Wang <i>et al.</i> , 1996
I_h	Na^+, K^+, Ca^{2+}	Activation par hyperpolarisation et Dé-activation avec la repolarisation	+	-	--	Oscillation du PM	Holderith <i>et al.</i> , 2003 ; Angulo & Margrie, 2011

Tableau 1.2 : Récapitulatif des courants ioniques présents sur la membrane des cellules mitrales

Abréviations : PA : potentiel d'action ; PM : potentiel de membrane

De plus, les cellules mitrales possèdent la possibilité d'avoir des potentiels d'action qui se propagent à partir du soma le long de ses dendrites apicale et latérales. Cette rétro-propagation est permise par le fait que les dendrites des cellules mitrales possèdent des propriétés membranaires similaires aux axones avec notamment une forte densité de canaux sodiques I_{Na} (Charpak *et al.*, 2001 ; O'Connor & Jacob, 2008). *In vivo*, la retro-propagation le long des dendrites apicales se produit sans atténuation de leur amplitude (Debarbieux *et al.*, 2001). Au niveau des dendrites latérales, les données apparaissent plus contradictoires. En effet, des études montrent une propagation à grande distance du soma sans changement significatif d'amplitude des potentiels d'action (Isaacson & Strowbridge, 1998 ; Debarbieux *et al.*, 2003) alors que d'autres observent une atténuation de l'amplitude pour des distances similaires entre soma et dendrite (Margrie *et al.*, 2001 ; Christie & Westbrook, 2003). Une autre particularité des cellules mitrales est de posséder différents sites d'initiation des potentiels d'action : un classique au niveau de la zone gâchette de l'axone mais également un au niveau de la dendrite apicale. En fonction de l'importance de l'entrée excitatrice au niveau de la dendrite apicale et de l'entrée inhibitrice sur les dendrites latérales, les potentiels d'action pourront être émis dans l'un ou l'autre de ces sites : une forte excitation de la dendrite apicale combinée à une inhibition du soma menant à l'initiation dendritique des potentiels d'action. L'existence de ces deux sites d'initiations forme un mécanisme de contrôle et d'adaptation de l'activité des cellules mitrales aux informations qu'elles reçoivent (Chen *et al.*, 1997 ; Chen *et al.*, 2002).

1.1.2.1.5. La couche plexiforme interne

La couche plexiforme interne présente une faible densité de cellules. Elle se compose principalement de dendrites de cellules granulaires, d'axones des cellules mitrales ainsi que de fibres centrifuges (Ennis *et al.*, 2007).

1.1.2.1.6. La couche des cellules granulaires

Comme le laisse supposer son nom, la couche des cellules granulaires est principalement composée de cellules granulaires même s'il est également possible d'observer un petit nombre de cellules à axone court. **Les cellules granulaires** forment la classe la plus importante d'interneurones inhibiteurs au sein du bulbe olfactif (**Fig. 1.3**). Ces cellules ont de petits somas (6 à 8 μm de diamètre) organisés en grappes de 3 à 8 cellules et ne présentent pas d'axone. Leurs dendrites ont une organisation bipolaire avec une dendrite apicale qui s'étend

perpendiculairement à la couche des cellules granulaires pour venir s'arboriser dans la couche plexiforme externe. Plus le soma de la cellule granulaire a une position superficielle et plus son arborisation dendritique présente une position superficielle au sein de la couche plexiforme externe (Orona *et al.*, 1983). La dendrite basale des cellules granulaires est courte et se ramifie au sein de la couche des cellules granulaires. En plus des propriétés électrophysiologiques reportées dans le **tableau 1.1**, des exemples d'enregistrement intracellulaire réalisé *in vivo* et *in vitro* sont présentés dans la **figure 1.7B**. Les cellules granulaires possèdent la caractéristique de pouvoir libérer du GABA, son neurotransmetteur, sans émettre de potentiel d'action (Jahr & Nicoll, 1982 ; Schoppa *et al.*, 1998 ; Chen *et al.*, 2000). Ceci serait permis par l'action combinée des récepteurs au glutamate principalement de type NMDA et des canaux ioniques voltages-dépendants présents au niveau de leurs dendrites avec notamment la présence d'un courant calcique voltage-dépendant à haut seuil (Isaacson & Strowbridge, 1998 ; Isaacson, 2001).

Les **cellules à axone court** présentent dans la couche des cellules granulaires sont qualifiées de profondes. Elles se différencient morphologiquement des cellules à axone court de la couche glomérulaire par une arborisation importante de l'axone, et électrophysiologiquement par une activité de décharge spontanée généralement plus importante (Eyre *et al.*, 2008). Elles se distinguent également des cellules à axone court superficielles par la nature de leur neurotransmetteur avec une libération de GABA, à la place du glutamate, leur permettant une action inhibitrice.

1.1.2.1.7. La zone sous-épendymaire

Au centre du bulbe olfactif, il est possible de distinguer la zone sous-épendymaire. Celle-ci correspond à la terminaison du **flux rostral migratoire** dont le point de départ se situe au niveau de la zone sous-ventriculaire qui borde les ventricules cérébraux latéraux. Cette région bulbaire forme le point d'entrée de neurones néoformés aussi bien lors du développement que chez l'adulte. Ceci confère au bulbe olfactif la capacité de renouveler, tout au long de sa vie, les neurones qui le compose et plus particulièrement ses interneurons inhibiteurs GABAergiques et dopaminergiques situés dans la couche glomérulaire et dans la couche des cellules granulaires (Lledo *et al.*, 2005).

1.1.2.2. Synaptologie et neurotransmission

Au niveau du bulbe olfactif, les connexions synaptiques ont trois localisations principales : la couche glomérulaire, la couche plexiforme externe et la couche des cellules granulaires. Ces connexions font principalement intervenir deux types de neurotransmetteurs : le glutamate qui induit une excitation et le GABA qui a un rôle inhibiteur.

1.1.2.2.1. Au niveau de la couche glomérulaire

Au niveau de la couche glomérulaire, les connexions peuvent être séparées en connexions intra- et inter-glomérulaires.

Au sein d'un glomérule, les contacts synaptiques qui ont comme élément pré-synaptique les axones des neurorécepteurs olfactifs permettent l'entrée de l'information dans le bulbe olfactif (**Fig. 1.8A**). L'élément post-synaptique de ces contacts peut être de différents types : les dendrites apicales des cellules mitrales et à panache (cellules M/P), les dendrites apicales des cellules à panache externes et les dendrites apicales de certaines cellules périglomérulaires (Shepherd *et al.*, 2004). L'arrivée d'un nombre suffisant de potentiels d'action dans la terminaison axonale des neurorécepteurs olfactifs entraîne la libération de glutamate dans la fente synaptique. Celui-ci pourra alors agir sur des récepteurs ionotropiques de type AMPA (α -Amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-propionate acid), kainate, NMDA (N-méthyl-D-aspartate) et métabotropiques (mGluR) présents sur les différents éléments post-synaptiques (Chen & Shepherd, 1997, Ennis *et al.*, 2007). Au niveau des cellules M/P, l'activation de ces récepteurs est à l'origine de potentiels post-synaptiques excitateurs qui sont formés d'une composante à la cinétique rapide, médiée par l'activation des récepteurs de type AMPA, et d'une composante lente, portée par l'activation des récepteurs de type NMDA. Lorsque la sommation des potentiels post-synaptiques excitateurs permet d'atteindre le seuil de potentiel permettant l'activation du courant sodique I_{Na} , des potentiels d'action sont générés et envahissent la cellule. L'activation de ces deux types de récepteurs entraînant une perméabilité calcique, la réponse post-synaptique s'accompagne d'une variation de la concentration intracellulaire en calcium (Isaacson & Strowbridge, 1998).

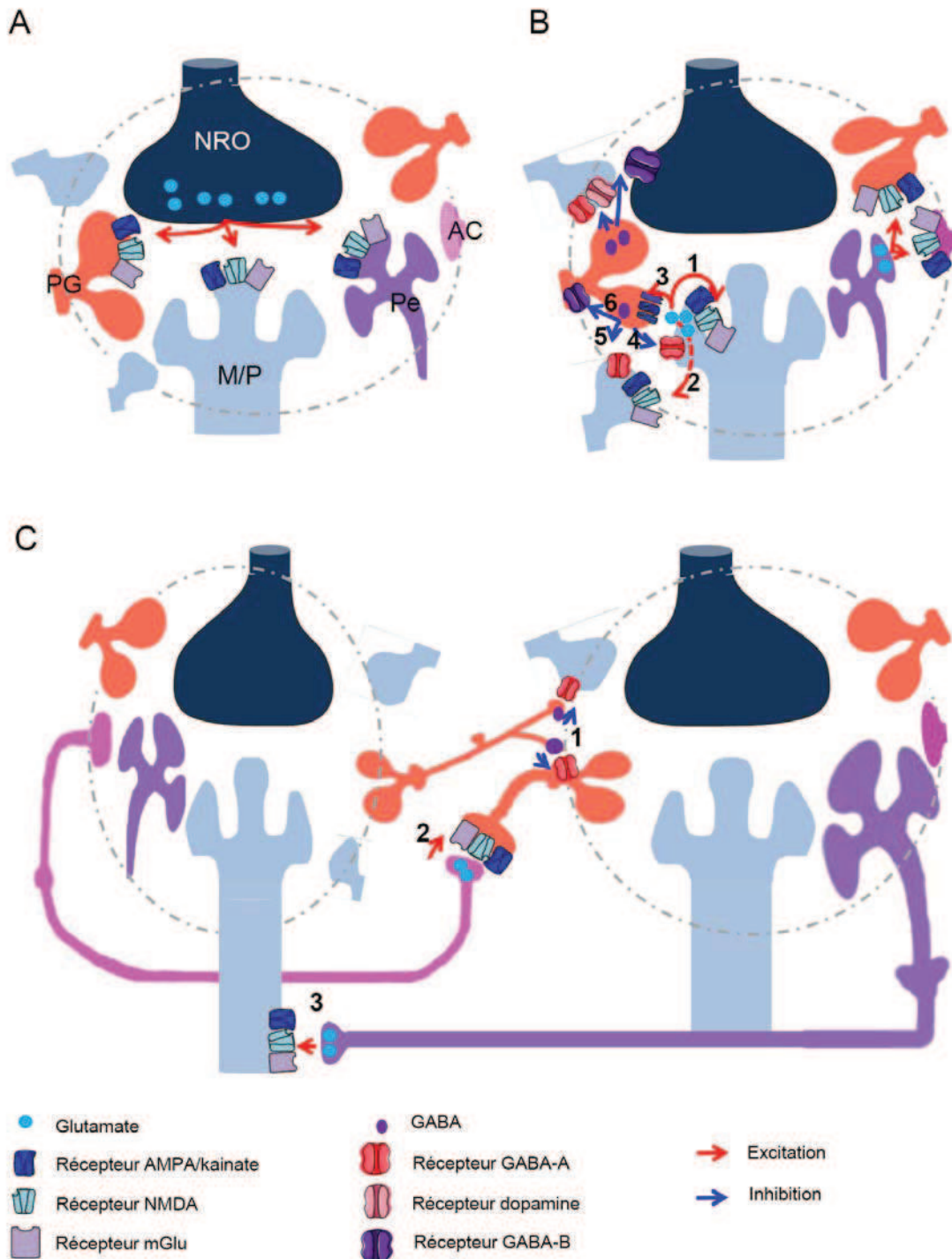


Figure 1.8 : Les synapses de la couche glomérulaire

- A) Synapses intra-glomérulaires permettant l'entrée de l'information olfactive dans le bulbe olfactif. NRO : neurorécepteur olfactif ; M/P : cellule Mitrale/Panache ; Pe : cellule à panache externe ; PG : cellule péri-glomérulaire ; AC : cellule à axone court
- B) Synapses intra-glomérulaires faisant intervenir des interactions latérales. 1 : auto-excitation ; 2 : excitation latérale ; 3+4 : synapse réciproque ; 5 : inhibition latérale, 6 : auto-inhibitions
- C) Synapses inter-glomérulaires. 1 : synapses dont l'élément pré-synaptique est une cellule péri-glomérulaire, 2 : synapse entre cellule à axone court et cellule péri-glomérulaire et 3 : synapse entre cellule à panache externe et cellule M/P

En plus des synapses permettant l'entrée de l'information dans le bulbe olfactif, il est possible de distinguer des synapses intra-glomérulaires reposant sur des interactions latérales entre les différentes composantes glomérulaires (**Fig. 1.8B**). Parmi ces interactions synaptiques, il est possible d'observer des synapses entre les cellules à panache externes en pré-synaptique et les cellules périglomérulaires ou les cellules à axone court en post-synaptiques. Ces synapses sont glutamatergiques et forme la voie d'entrée majoritaire pour les cellules périglomérulaires et à axone court (Hayar *et al.*, 2004 a, b). Par ailleurs, les cellules M/P activées peuvent libérer du glutamate au sein du glomérule. Ce glutamate peut se fixer sur des autorécepteurs membranaires AMPA/kainate (Isaacson, 1999 ; Salin *et al.*, 2001) et NMDA (Salin *et al.*, 2001) présents soit sur la cellule M/P l'ayant libéré (**autoexcitation, Fig. 1.8B 1**), soit sur une cellule M/P se trouvant à proximité (**excitation latérale, Fig. 1.8B 2** ; Friedman & Strowbridge, 2000 ; Salin *et al.*, 2001 ; Christie & Westbrook, 2006). La diffusion du glutamate en dehors de l'espace synaptique et sa fixation sur les composantes cellulaires voisines ou sur les autorécepteurs est évoquée sous le nom de **spillover** du glutamate (Isaacson, 1999 ; Urban & Sakman, 2002).

Au sein d'un glomérule, il existe également des interactions synaptiques de type inhibiteur. Ces interactions inhibitrices se trouvent principalement au niveau de **synapses réciproques**. Dans ce cas, le glutamate libéré par les cellules M/P se fixe sur les récepteurs AMPA/kainate, NMDA et mGluR présent sur la membrane post-synaptique des cellules périglomérulaires (**Fig. 1.8B 3**). La fixation du glutamate sur ces récepteurs entraîne leur activation induisant une dépolarisation des cellules périglomérulaires. Réciproquement, les cellules périglomérulaires ainsi activées libèrent du GABA et / ou de la dopamine dans la fente synaptique. Ces neurotransmetteurs viennent se fixer, respectivement, sur les récepteurs GABA-A et dopaminergiques présents au niveau de la membrane des cellules M/P les ayant activés entraînant une **inhibition réciproque** (**Fig. 1.8B 4**). Lorsque le GABA agit sur une cellule M/P voisine (autre que celle ayant activé la cellule périglomérulaire), il induit une **inhibition latérale** (**Fig. 1.8B 5**). Le GABA libéré par les cellules périglomérulaires possède d'autres sites d'action au sein du glomérule. En effet, il peut également agir sur les récepteurs de type GABA-B, présents sur les terminaisons axonales des neurorécepteurs olfactifs d'une part, et sur le soma des cellules périglomérulaires d'autre part. Dans les deux cas, l'activation des récepteurs GABA-B entraîne une inhibition avec diminution de la libération de glutamate pour les neurorécepteurs olfactifs. Dans le cas des cellules périglomérulaires, les récepteurs GABA-B sont qualifiés d'autorécepteurs et leur activation entraîne une **auto-inhibition** (**Fig. 1.8B 6**).

En plus de ces synapses chimiques, les communications intra-glomérulaires peuvent également être supportées par des **synapses électriques**. Celles-ci correspondent à des jonctions GAP qui sont perméables aux ions et aux seconds messagers. Ces synapses électriques ont été mise en évidence i) entre deux cellules mitrales, ii) entre deux cellules à panache externes ; iii) entre cellules mitrales et cellules à panache externes et iv) entre cellules mitrales et cellules périglomérulaires (Kosaka & Kosaka, 2005).

Les synapses électriques présentes au sein d'un glomérule sont surtout formées de connexines 36 et certaines de connexines 43 ou 46. Le rôle de ces synapses dans le fonctionnement du bulbe olfactif a été étudié électrophysiologiquement sur des tranches isolées de bulbe olfactif issues d'animaux dont le gène codant pour la connexine 36 avait été inactivé. Il apparaît alors que leur absence entraîne une perte de la synchronisation entre cellules mitrales appartenant au même glomérule ainsi que la perte de l'inhibition latérale (Christie *et al.*, 2005 ; Christie & Westbrook, 2006). De plus, les jonctions GAP unissant les cellules à panache externes permettraient la synchronisation de leur activité « bursting » rythmique tandis que celles liant les cellules à panache externes aux cellules M/P contribueraient au transfert de cette activité rythmique d'un type de cellule à l'autre.

Comme précisé précédemment, il existe également des connexions synaptiques **entre glomérules** (Fig. 1.8C ; Pinching & Powell, 1971a et b). Ces connexions vont notamment permettre aux cellules d'un glomérule fortement activé d'inhiber les cellules des glomérules voisins. Ces connexions inter-glomérulaires peuvent concerner différents éléments :

- 1) les axones des cellules périglomérulaires qui forment des contacts synaptiques au niveau des dendrites primaires des cellules M/P ou avec d'autres cellules périglomérulaires (Fig. 1.8C 1),
- 2) les axones des cellules à axone court qui forment des contacts glutamatergiques au niveau des axones des cellules périglomérulaires appartenant à des glomérules distants (Fig. 1.8C 2),
- 3) entre des collatérales d'axones de cellules à panache externes et les dendrites de cellules M/P (Fig. 1.8C 3).

Parmi ces différents contacts synaptiques, ceux impliquant les cellules à axone court semblent former les interactions inter-glomérulaires majeures. L'activation des cellules périglomérulaires qu'elle entraîne par activation des récepteurs AMPA / kainate, NMDA et mGluR induirait l'inhibition des cellules mitrales de glomérules distants de la cellule à axone court (Aungst *et al.*, 2003).

1.1.2.2. *Au niveau de la couche plexiforme externe*

La couche plexiforme externe est une couche extrêmement riche en synapses. La grande majorité de ces contacts (environ 80 %) correspond à des synapses réciproques entre les dendrites secondaires des cellules M/P et les dendrites des cellules granulaires. Toutefois, il est également possible d'observer des synapses axo-dendritiques entre les cellules à axone court, ou des fibres centrifuges, et les cellules granulaires.

Les **synapses réciproques** entre les dendrites latérales des cellules M/P et les dendrites apicales des cellules granulaires jouent un rôle extrêmement important dans le traitement de l'information olfactive (**Fig. 1.9** ; Rall & Shepherd, 1968). Dans le sens cellule M/P – cellule granulaire, la synapse est excitatrice par libération de glutamate par la cellule M/P lorsqu'il y a propagation de potentiels d'action le long de la dendrite latérale. Le glutamate ainsi libéré induit une excitation de la cellule granulaire en permettant l'activation des récepteurs AMPA/Kainate, NMDA et mGluR présents au niveau de sa membrane (Isaacson & Strowbridge, 1998). L'activation de ces récepteurs entraîne de nombreuses implications fonctionnelles, notamment grâce à la perméabilité calcique induite. Plus particulièrement, l'entrée de calcium par les récepteurs NMDA participe, entre autre, à la dépolarisation des épines dendritiques des cellules granulaires (Halabisky *et al.*, 2000), à l'activation de voies de signalisation intracellulaire et à l'activation de courants calciques voltages-dépendants à haut seuil (Isaacson & Strowbridge, 1998 ; Schoppa *et al.*, 1998; Halabisky *et al.*, 2000). Cette dernière activation a été montrée pour participer à l'exocytose de vésicules de GABA même en absence de potentiel d'action sodique. Le GABA libéré pourra induire une **inhibition réciproque ou récurrente** des cellules M/P les ayant activées en agissant sur les récepteurs GABA-A présents sur la membrane des dendrites latérales des cellules M/P (**Fig. 1.9 2** ; Jahr & Nicoll, 1982). Cette inhibition fait intervenir une entrée de chlore dans la cellule mitrale via le récepteur GABA-A. Cette entrée est à l'origine de la formation de potentiels post-synaptiques inhibiteurs au niveau de la cellule M/P (Isaacson & Strowbridge, 1998). Cette inhibition apparaît être progressive avec une latence assez longue mais semble spécifique d'une colonne glomérulaire (Kapoor & Urban, 2006). Lorsque le GABA libéré par une cellule granulaire se fixe sur les récepteurs GABA-A d'une cellule M/P voisine et non sur ceux de la cellule M/P l'ayant activée, on parle d'**inhibition latérale** (**Fig. 1.9 3**). Par ailleurs, le GABA libéré par une cellule granulaire peut également se fixer sur des autorécepteurs de type GABA-B présents au niveau de la membrane des cellules granulaires (Isaacson & Vitten, 2003). Cette fixation entraîne une diminution de la libération de GABA par la cellule et correspond à une **auto-inhibition** (**Fig. 1.9 4**). Ces synapses réciproques présentent la particularité de posséder des capacités de plasticité à court et long terme assez importantes. Ces

plasticités passeraient par des phénomènes de facilitation et dépression spécifique (Dietz & Murthy, 2005 ; Balu *et al.*, 2007).

Des **synapses électriques** impliquant des jonctions GAP ont également été mises en évidence au niveau de la couche plexiforme externe. Ces jonctions établissent un lien entre les cellules M/P et les cellules granulaires (Landis *et al.*, 1974). D'un point de vue fonctionnel, ces synapses électriques participeraient notamment à la mise en place d'oscillations rapides sous-liminaires et de réseau (Friedman & Strowbridge, 2003).

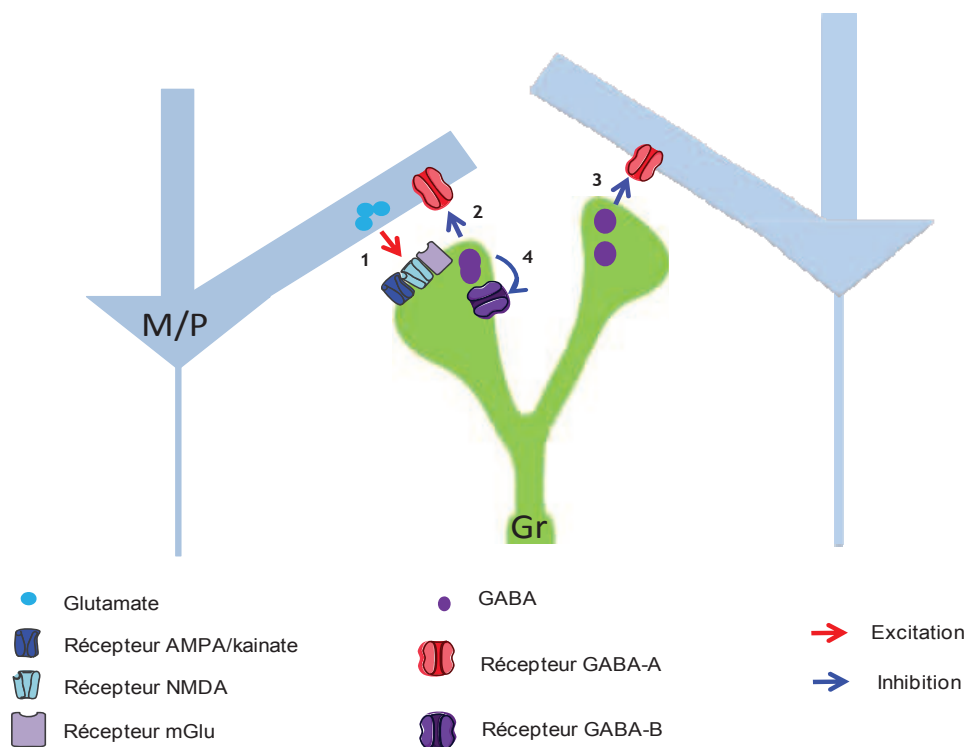


Figure 1.9 : Représentation schématique des synapses chimiques de la couche plexiforme externe impliquant les cellules granulaires
1+2 : synapse réciproque ; 3 : inhibition latérale ; 4 : auto-inhibition.

1.1.2.2.3. Au niveau de la couche des cellules granulaires

Au niveau de la couche des cellules granulaires, la quasi-totalité des synapses fait intervenir, soit de manière pré-synaptique soit de manière post-synaptique, les cellules granulaires (Fig. 1.10 ; Ennis *et al.*, 2007). Des contacts synaptiques peuvent être distingués entre les collatérales d'axones des cellules M/P et les somas ou l'arbre dendritique des cellules granulaires. Comme précisé précédemment, les cellules granulaires peuvent également être la

cible des axones des retours corticaux ou des systèmes neuromodulateurs. Ces synapses axo-somatique ou axo-dendritique seront décrites dans la partie portant sur les projections centrifuges.

En plus des contacts synaptiques présent au niveau de la couche plexiforme externe, les cellules à axone court profondes établissent également des contacts synaptiques GABAergiques avec les dendrites latérales des cellules granulaires.

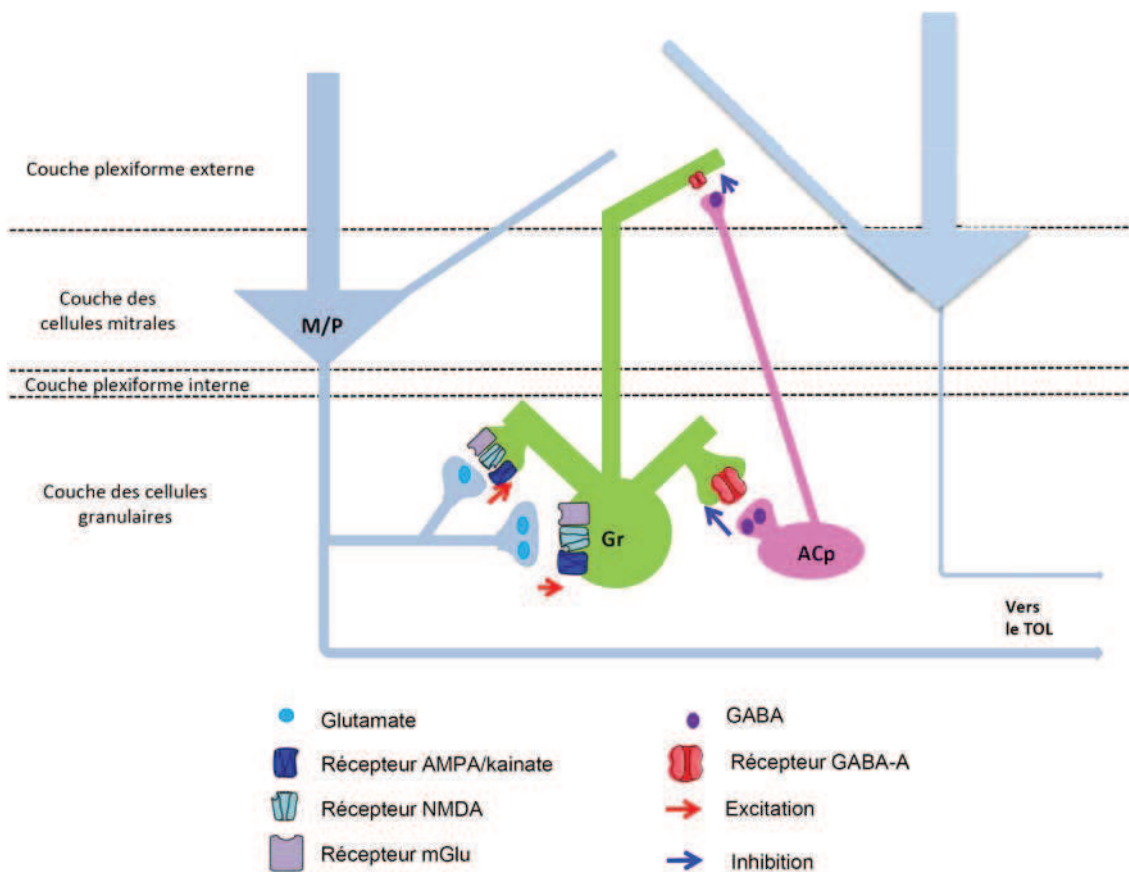


Figure 1.10 : Représentation schématique de la synaptologie présente au niveau de la couche des cellules granulaires

M/P : cellule M/P ; Gr : cellule granulaire ; ACp : cellule à axone court profondes ; TOL : tractus olfactif latérale

1.1.3. Les projections centripètes et centrifuges du bulbe olfactif

1.1.3.1. Les projections centripètes

En quittant le bulbe olfactif, les axones des cellules M/P se regroupent au sein du tractus olfactif latéral pour se projeter au niveau de plusieurs aires corticales (Fig. 1.1 et 1.11). Celles-ci correspondent aux aires de projections primaires et regroupent, de la partie la plus antérieure à la plus postérieure : le cortex olfactif primaire formé du noyau olfactif antérieur, du tubercule olfactif, des cortex piriformes antérieur et postérieur, puis certains noyaux de l'amygdale, l'insula agrulaire, le cortex entorhinal rostral. La plupart des ces aires établissent des connexions réciproques avec le bulbe olfactif (voir section suivante) et se projettent sur différentes structures telles que le cortex orbito-frontal, l'hypothalamus, l'amygdale basolatérale et latérale et l'hippocampe. Les contacts entre les aires de projections olfactives primaires et ces structures peuvent se faire soit directement soit indirectement via le noyau dorso-médian du thalamus (Ennis *et al*, 2007).

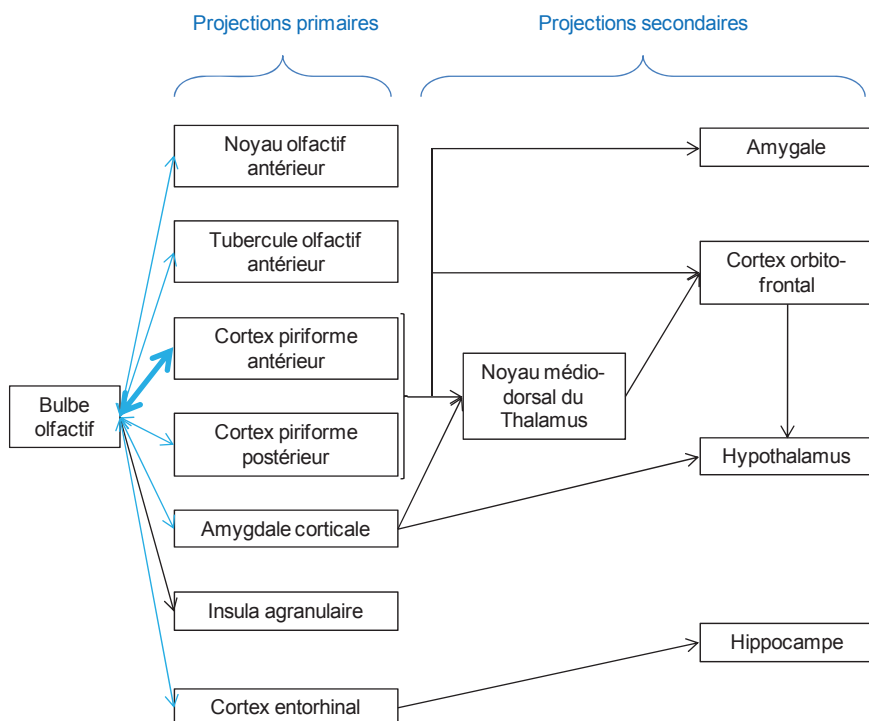


Figure 1.11 : Projections entre le bulbe olfactif et les principales aires corticales primaires et secondaires

Les flèches bleues indiquent les projections qui sont à la fois centripètes et centrifuges

Lors de son passage à la surface ventro-latérale des aires olfactives primaires, les collatérales d'axones des cellules M/P quittent le tractus olfactif latéral et se terminent dans la couche superficielle des aires de projections primaires (Price, 1973). Les axones des cellules à panache se projettent dans la partie la plus antérieure du cortex olfactif primaire tandis que ceux des cellules mitrales se projettent sur toutes les aires corticales primaires avec une préférence pour les parties les plus postérieures dont le cortex piriforme (Haberly & Price, 1977).

1.1.3.2. Les projections centrifuges

Les projections du cortex au bulbe olfactif peuvent être de deux groupes : un comprenant des fibres glutamatergiques et un deuxième correspondant à des fibres neuromodulatrices.

Les projections centrifuges glutamatergiques sont en grande partie des **retours corticaux** de la part des aires corticales primaires et principalement du cortex piriforme (**Fig. 1.11**). Ces contacts s'établissent surtout au niveau de la couche des cellules granulaires. Particulièrement, les cellules pyramidales du cortex piriforme antérieur possèdent des contacts synaptiques avec les dendrites basales des cellules granulaires (Shiple & Adamek, 1984 ; Balu *et al.*, 2007). Ces retours corticaux, sur les cellules granulaires, étant glutamatergiques, ils permettent une excitation de ces cellules entraînant une facilitation de l'auto-inhibition des cellules mitrales (Halász & Shepherd, 1983 ; Balu *et al.*, 2007 ; Strowbridge, 2009). Cette facilitation est supposée avoir un impact fonctionnel important notamment en contribuant à l'expression d'oscillations rapides (Neville & Haberly, 2003 ; Poo & Isaacson, 2009). Par ailleurs, d'autres aires corticales projettent également des fibres inhibitrices au niveau du bulbe olfactif. Par exemple, certains neurones GABAergiques de la bande diagonal de Broca établissent des contacts synaptiques dans le bulbe olfactif dont la localisation précise est difficile à caractériser de part la présence de l'innervation GABAergique intrinsèque (Ennis *et al.*, 2007).

Le deuxième grand groupe de projections centrifuges correspond aux **fibres neuromodulatrices** (**Fig. 1.12**). Celles-ci proviennent de systèmes neuromodulateurs qui agissent non seulement au niveau du bulbe olfactif mais également largement dans le système nerveux central. Ces projections neuromodulatrices diffuses, dans le cerveau, participent aux états de vigilance et aux niveaux d'attention de l'animal. Le bulbe olfactif présente la caractéristique de ne recevoir, parmi les quatre habituellement rencontrées, que trois types de

fibres neuromodulatrices : des fibres cholinergiques, des fibres noradrénergiques et des fibres sérotoninergiques. Aucune fibre dopaminergique ne se projette dans le bulbe olfactif.

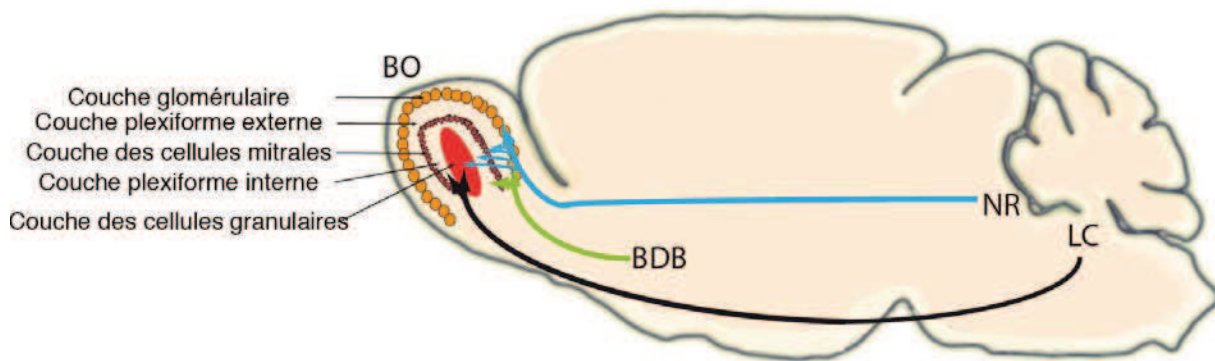


Figure 1.12 : Les projections neuromodulatrices reçues par le bulbe olfactif

Les fibres cholinergiques (vert), noradrénergiques (noir) et sérotoninergiques (bleu) modulent l'activité du bulbe olfactif (BO). BDB : bande diagonale de Broca ; NR : noyau du Raphé ; LC : Locus coeruleus

Le **système cholinergique**, connu pour participer aux processus d'apprentissage et de mémoire (Fletcher & Chen, 2010), a pour origine la bande diagonale de Broca. Au sein du bulbe olfactif, les fibres cholinergiques se terminent principalement au niveau de la couche glomérulaire et de la couche plexiforme interne (Fonseca *et al.*, 1991 ; Shipley & Ennis, 1996). Elles établissent la plupart de leurs synapses avec les cellules périglomérulaires et les cellules granulaires. Au sein du bulbe olfactif, l'acétylcholine peut avoir des effets différents en fonction de sa concentration. En effet, certaines études montrent une potentialisation de l'excitabilité des cellules granulaires par l'acétylcholine, qui entrainerait une augmentation de l'inhibition exercée sur les cellules mitrales (Pressler *et al.*, 2007). Au contraire, d'autres études évoquent une augmentation de l'activité des cellules mitrales lorsqu'une stimulation électrique de la bande diagonale de Broca est réalisée (Kunze *et al.*, 1991). L'effet de l'acétylcholine, en fonction de sa concentration, sur l'activité des cellules mitrales pourrait fournir un mécanisme permettant d'adapter les réponses du bulbe olfactif au niveau d'attention et de vigilance de l'animal (Chaudhury *et al.*, 2009).

Le deuxième système neuromodulateur influençant l'activité du bulbe olfactif correspond au **système noradrénergique**. Celui-ci semble jouer un rôle dans différents types d'apprentissages tels que l'attachement infantile, le conditionnement ou l'habituation ainsi que dans la perception même des odeurs et notamment sur leur détection. La principale source de

noradrénaline dans le système nerveux central se situe au niveau du locus coeruleus (Shipley, 1985). Au sein du bulbe olfactif, les fibres noradrénergiques se terminent surtout au niveau de la couche plexiforme interne et de la couche des cellules granulaires (McLean *et al.*, 1989). La noradrénaline, en agissant sur ces récepteurs de type α et β , module principalement le fonctionnement des synapses cellules granulaires – cellules M/P. De manière similaire à l'acétylcholine, des effets divers ont été mis en évidence sur les cellules mitrales en fonction de la concentration en noradrénaline et du type de récepteurs impliqués (Ennis *et al.*, 2007). Dans certaines conditions, la noradrénaline peut entraîner une augmentation de l'inhibition des cellules M/P par les cellules granulaires alors que dans d'autres conditions elle induit une augmentation indirecte de l'activité des cellules M/P.

Le dernier système agissant sur le niveau d'activité globale du bulbe olfactif est le **système sérotoninergique**. Celui-ci intervient dans le conditionnement associatif ainsi que dans la mémoire à court terme. Les fibres sérotoninergiques ont pour origine le noyau du raphé dorsal et médian et se terminent dans toutes les couches du bulbe olfactif avec une préférence pour la couche glomérulaire (McLean & Shipley, 1987). A ce niveau, elles établissent préférentiellement des synapses avec les cellules périglomérulaires. De plus, ces fibres sérotoninergiques semblent posséder une organisation spatiale portée par un plus grand nombre de fibres dans la partie dorsale du bulbe olfactif par rapport à la région latérale. De manière globale, la sérotonine induit une diminution de l'activité du bulbe olfactif en agissant à deux niveaux. Premièrement, la sérotonine, en permettant la libération de GABA par les cellules périglomérulaires, entraîne une inhibition des axones des neurorécepteurs olfactifs et donc une diminution de l'entrée excitatrice dans le bulbe olfactif (Petzold *et al.*, 2009). Le deuxième niveau d'action de la sérotonine se situe au niveau des cellules mitrales puisque l'application de sérotonine entraîne une diminution de leur activité spontanée (Bloom *et al.*, 1964). Toutefois, l'action inhibitrice de la sérotonine ne semble pas aussi simple car une étude a mis en évidence une dépolarisation des cellules M/P sous l'action de la sérotonine (Hardy *et al.*, 2005). L'effet de la sérotonine serait dépendant de la cellule M/P sur laquelle elle agit.

Globalement, les trois systèmes neuromodulateurs présents au sein du bulbe olfactif agissent principalement en modulant la balance entre l'excitation et l'inhibition. Cette modulation participerait à sculpter la réponse aux odeurs en fonction de l'état et du niveau d'attention de l'animal.

1.2. La représentation spatiale de l'information olfactive

1.2.1. Généralités : codage spatio-temporel de l'information sensorielle

De manière générale, la représentation de l'information sensorielle au niveau des premiers relais centraux fait intervenir à la fois une organisation spatiale des entrées et une dynamique temporelle de l'activité neuronale. En considérant l'exemple du système visuel, il apparaît qu'un stimulus donné entraîne une activation spatiale spécifique en colonne du cortex visuel primaire via l'activation spécifique des neurorécepteurs de la rétine puis des neurones du corps genouillé latéral. Cette organisation topographique spécifique entre les neurones de la rétine et les colonnes corticales activées porte le nom de rétinotopie. Les neurones activés par la stimulation appartiendraient à une assemblée de neurones dont les potentiels d'action seraient synchronisés sur les oscillations du PCL, cette synchronisation correspondant à la composante temporelle du codage. Un codage spatio-temporel similaire est également proposé pour d'autres systèmes sensoriels tels que le système auditif qui possède une organisation tonotopique ou le système somato-sensoriel avec son organisation somatotopique. Qu'en est-il au niveau du système olfactif ? Les différentes études menées jusqu'à présent ont permis de montrer que la représentation de l'information olfactive repose également à la fois sur une organisation spatiale de l'information qui parvient au niveau du bulbe olfactif et sur l'activité dynamique des neurones qui le composent. Ces aspects sont décrits dans la suite de mon introduction dans des sections distinctes. Malgré cette ségrégation, ces deux aspects forment un tout étroitement lié permettant la représentation de l'information olfactive.

1.2.2. La représentation spatiale de l'information olfactive

Dans les autres systèmes sensoriels, une organisation spatiale basée sur les caractéristiques du stimulus est présente dès le tissu sensoriel et se retrouve au niveau du cortex sensoriel primaire (exemples de la rétinotopie, de la tonotopie...). Même si elle ne semble pas aussi fine au niveau de la muqueuse olfactive, une organisation spatiale peut être définie d'une part au niveau des projections entre l'épithélium olfactif et le bulbe olfactif et d'autre part au niveau de la couche glomérulaire puis des couches profondes du bulbe olfactif.

1.2.2.1. Les projections épithélio-bulbaires

Comme évoqué lors de la description de la muqueuse olfactive, les neurorécepteurs olfactifs exprimant la même protéine réceptrice sont regroupés selon quatre zones circonscrites de l'épithélium, le long de l'axe dorsomédial-ventrolatéral, sans toutefois former des cartes spatiales fines (Fig. 1.13). Les axones provenant de chaque zone de l'épithélium se projettent dans la zone dorso-ventrale correspondante dans le bulbe olfactif ipsilatéral formant une projection « zone à zone » (Fig. 1.13B ; Miyamichi *et al.*, 2005 ; Sakano, 2010). Au sein de chacune de ces zones bulbaires, les axones des neurorécepteurs olfactifs exprimant la même protéine convergent vers un nombre très restreint de glomérules (Fig. 13A ; Ressler *et al.*, 1993 ; Vassar *et al.*, 1994 ; Mombaerts *et al.*, 1996). Le marquage génétique spécifique d'un type de protéine réceptrice a permis de mettre en évidence que la place des neurorécepteurs olfactifs dans l'épithélium ainsi que les glomérules sur lesquels ces neurorécepteurs se projettent sont similaires d'un animal à l'autre suggérant une grande importance fonctionnelle (Biju *et al.* 2008).

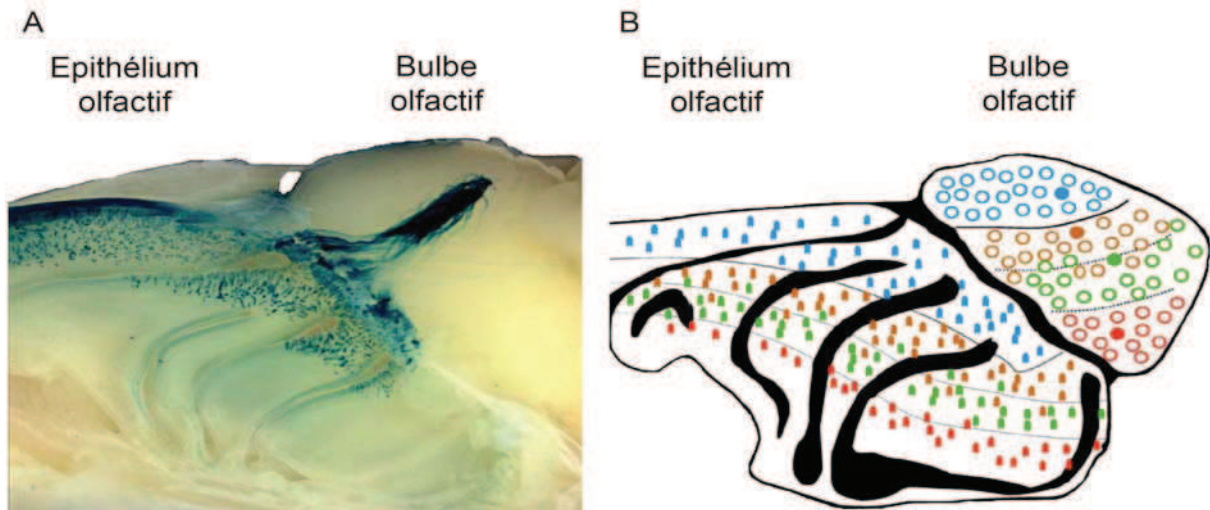


Figure 1.13 : Les projections épithélio-bulbaires (modifié d'après Strotmann & Breer, 2006)

- A) Spécificité des projections entre l'épithélium et le bulbe olfactif illustrée par une préparation « tête entière ». Celle-ci est issue d'une souris transgénique dont le récepteur olfactif 18-2 est co-exprimé avec lacZ. Tous les neurorécepteurs olfactifs exprimant la protéine 18-2 sont marqués en bleu.
- B) Représentation schématisée de l'organisation « zone à zone » entre l'épithélium olfactif et le bulbe olfactif. Une couleur représente une zone de l'épithélium et la zone du bulbe olfactif à laquelle elle est liée.

Cette spécificité de l'adressage des axones des neurorécepteurs olfactifs au bulbe olfactif nécessite des mécanismes particuliers et présents tout au long de la vie de l'animal puisque ces neurones sont régulièrement renouvelés. Ces mécanismes de guidage sont encore mal connus et feraient intervenir plusieurs éléments. Notamment, les protéines réceptrices elles-mêmes et toute la cascade de transduction qui en découle doivent être fonctionnelles pour la mise en place correcte des projections puisque l'inactivation spécifique du canal CNG entraîne une altération des projections (Biju *et al.*, 2008). Par ailleurs, les cellules engainantes semblent également jouer un rôle dans cet adressage spécifique des axones à un glomérule donné. En effet, ces cellules secrètent des protéines de guidage axonal spécifiques telles que Slit1, Robo2 ou encore la semaphorine3. Ces protéines participeraient à la mise en place correcte des projections des neurorécepteurs olfactifs grâce aux gradients de concentration qu'elles établissent (DeMaria & Ngai, 2010 ; Su & He, 2010 ; Mori & Sakano, 2011).

L'importance de l'intégrité des projections épithélio-bulbaires dans la représentation correcte des odeurs apparaît notamment lors d'études d'inactivation du gène codant pour certaines molécules participant au guidage axonal. Par exemple, il a été montré que l'inactivation de la protéine Robo2 entraîne un mauvais ciblage glomérulaire de certains axones de neurorécepteurs entraînant un déficit dans la mise en place de comportement innée comme la fuite devant une odeur de prédateur (Cho *et al.* 2011).

De manière similaire à l'organisation rétinotopique ou tonotopique, la spécificité des projections épithélio-bulbaires participent à une organisation odotopique du système olfactif. Les molécules odorantes possédant des propriétés identiques se lient aux neurorécepteurs olfactifs exprimant la même protéine réceptrice. Ces neurorécepteurs convergent vers un nombre restreint de glomérules ce qui est à l'origine de cartes d'activation spécifiques dans la couche glomérulaire.

1.2.2.2. Activation spatiale de la couche glomérulaire

La spécificité des projections épithélio-bulbaires induit donc une organisation spécifique des entrées du bulbe olfactif. L'implication de cette organisation dans le codage de l'information olfactive a tout d'abord été étudiée avec la technique de 2 déoxyglucose permettant de révéler les zones du bulbe olfactif où la consommation en glucose a été la plus importante. Grâce à cette technique, plusieurs règles ont pu être établies pour la représentation spatiale glomérulaire d'une odeur et confirmées par la suite avec d'autres techniques d'imagerie telles que le marquage de l'activité de gène précoce comme c-Fos, l'imagerie intrinsèque, l'utilisation d'imagerie calcique ou de marqueurs sensibles au voltage ou encore l'imagerie fonctionnelle par

résonnance magnétique (Jourdan *et al.*, 1980 ; Onoda *et al.*, 1992 ; Yang *et al.*, 1998 ; Rubin & Katz, 1999 ; Wachowiak & Cohen, 2001 ; Spors & Grinvald, 2002). La première règle est qu'une odeur possède une représentation spatiale superficielle puisqu'elle entraîne l'activation d'un groupe spécifique de glomérules dans le bulbe olfactif et que ce groupe de glomérules activés est spécifique de l'odeur utilisée. Deuxièmement, ces patrons d'activation sont bilatéraux, symétriques et très similaires d'un animal à l'autre pour une odeur donnée. La similarité des patrons est également retrouvée d'une technique à l'autre (Pain *et al.*, 2011). Une troisième règle pour la représentation spatiale de l'information olfactive repose sur l'organisation chimiotopique du bulbe olfactif c'est-à-dire selon les caractéristiques chimiques de la molécule odorante. Cette organisation a été étudiée en réalisant des travaux d'imagerie utilisant plusieurs familles de molécules odorantes et correspond à une organisation spatiale fine basée sur le fait que des odeurs similaires activent des glomérules qui sont spatialement regroupés (Rubin & Katz, 1999 ; Uchida *et al.*, 2000 ; Johnson & Leon, 2007). Une limitation à la finesse de cette organisation spatiale est récemment apparue. En effet, Soucy *et al.* (2009) ont montré que des glomérules activés par des odeurs proches peuvent être séparés par des glomérules inactifs suggérant une organisation chimiotopique grossière au niveau de la couche glomérulaire. Selon les auteurs, cette différence de finesse de la carte d'activation glomérulaire peut s'expliquer par l'amélioration de la résolution spatiale de leur technique.

1.2.2.3. Les colonnes glomérulaires

Les données précédemment décrites mettent en évidence qu'une odeur donnée entraîne l'activation de glomérules spécifiques. Cette activation spécifique permet la formation de **colonnes glomérulaires** puisque les cellules M/P projettent leurs dendrites apicales dans un glomérule situé à la verticale de leur soma (Shepherd, 1972). Ces colonnes pourront interagir entre elles par les connexions inter-glomérulaires et au niveau des dendrites latérales des cellules M/P. L'organisation en colonnes glomérulaires du bulbe olfactif est également étayée par des données électrophysiologiques. En effet, une meilleure synchronisation des activités de décharge, ou des fluctuations du potentiel de membrane, peut être observée pour des cellules M/P appartenant à un même glomérule que pour des cellules se projetant dans des glomérules distincts (Buonviso *et al.*, 1990 ; Schoppa & Westbrook, 2001 ; Dhawale *et al.*, 2010). De manière analogue au cortex visuel primaire, les colonnes glomérulaires du bulbe olfactif seraient le support des champs récepteurs olfactifs. L'étude des relations existant entre les cartes d'activation du bulbe olfactif et les réponses intracellulaires des cellules M/P ont permis à Luo & Katz (2001) de définir des cartes de corrélation de réponse. Celles-ci mettent en évidence une

organisation en « centre excité et contour inhibé » des réponses reposant sur le fait que la colonne glomérulaire correspondant au champ récepteur du stimulus est fortement excitée (Fig. 1.14). Autour de ce centre excité, les cellules M/P apparaissent inhibées par la stimulation ce qui forme le contour inhibé. Cette inhibition des unités glomérulaires voisines serait induite par le jeu des inhibitions latérales inter-glomérulaires et via les cellules granulaires (Yokoi *et al.*, 1995 ; Aungst *et al.*, 2003).

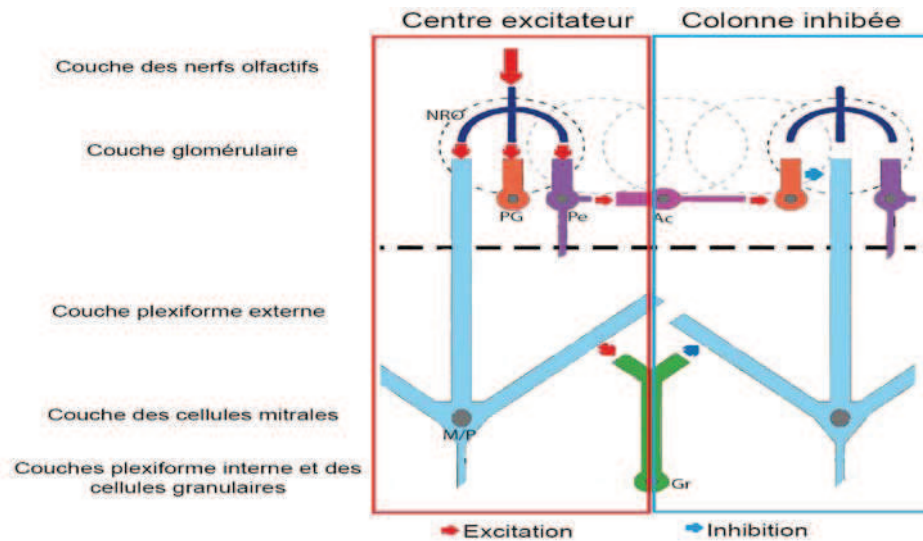


Figure 1.14 : Représentation schématique de l'organisation en « centre excité et contour inhibé » (modifié d'après Aungst *et al.*, 2003)

Les connexions synaptiques excitatrices sont représentées en rouge et celles inhibitrices en bleu. NRO : neurorécepteur olfactif ; PG : cellule périclomérulaire ; Pe : cellule plexiforme externe ; Ac : cellule à axone court ; M/P : cellule M/P ; Gr : cellule granulaire

1.3. Les dynamiques temporelles participant à la représentation de l'information olfactive

De manière concomitante à la composante spatiale, le traitement de l'information olfactive fait également intervenir des dynamiques temporelles. Celles-ci peuvent être distinguées au niveau de l'activité du réseau ainsi qu'au niveau de l'activité individuelle des neurones par l'expression de plusieurs rythmes. Ces derniers se définissent par les gammes de fréquence dans lesquelles ils se produisent avec : le rythme lent entre 1 et 10 Hz et les rythmes rapides beta (15-30 Hz) et gamma (40-90 Hz).

Les connaissances actuelles sur ces différents rythmes, exprimés au niveau de l'activité populationnelle et individuelle, seront reportées dans les sections suivantes. Avant d'aborder le

rythme lent du bulbe olfactif, une description du rythme thêta compris entre 4 et 10 Hz sera présentée pour illustrer l'importance des rythmes lents dans le fonctionnement neuronal. Les rythmes rapides seront, quant à eux, exposés dans une troisième partie.

1.3.1. Exemple du rythme thêta

Le rythme thêta, d'une fréquence comprise entre 4 et 10 Hz, est un rythme proéminent chez les mammifères. Il a surtout été étudié au niveau de la formation hippocampique mais est également présent dans les régions parahippocampiques (cortex ento- et périrhinaux), au niveau du néocortex et du colliculus supérieur (Wang, 2010). Historiquement, le rythme thêta hippocampique a tout d'abord été décrit chez l'animal anesthésié pour ensuite être associé à un état d'éveil généralisé de l'animal (Green et Arduini, 1954). Rapidement, ce rythme a été proposé pour refléter des comportements actifs étant données les relations qu'il entretient avec le réflexe d'orientation chez le chat (Grastyan *et al.*, 1959). Chez le rat en comportement, l'enregistrement de l'activité globale de l'hippocampe a permis de montrer que les épisodes d'oscillations thêta précédaient et accompagnaient des mouvements volontaires tels que marcher ou se dresser (Vanderwolf, 1969).

Le rythme thêta de l'hippocampe se caractérise :

- Au niveau de l'activité de réseau par la présence d'oscillations de grande amplitude dont les caractéristiques vont dépendre de la localisation de l'enregistrement (**Fig. 1.15A**),
- Au niveau des cellules pyramidales par la présence d'oscillations de leur potentiel de membrane et par la synchronisation de leur activité de décharge sur une phase particulière de l'oscillation du réseau (**Fig. 1.15B**).

L'oscillation à la fréquence thêta du potentiel de membrane des cellules pyramidales est parfois considérée comme une dépolarisation rythmique sur laquelle des potentiels d'action peuvent se produire. Ces oscillations du potentiel de membrane des cellules pyramidales de l'hippocampe sont hautement corrélées avec celles mesurées au niveau du réseau hippocampique (**Fig. 1.15.B** ; Leung & Yim, 1986 ; Soltez & Deschenes, 1993). Leur relation de phase semble dépendre du potentiel de membrane de la cellule (Soltez & Deschenes, 1993). En effet, une hyperpolarisation du potentiel de membrane des cellules pyramidales entraîne un décalage de 150° de la phase entre les oscillations du potentiel de membrane et les oscillations du réseau sans en changer la fréquence.

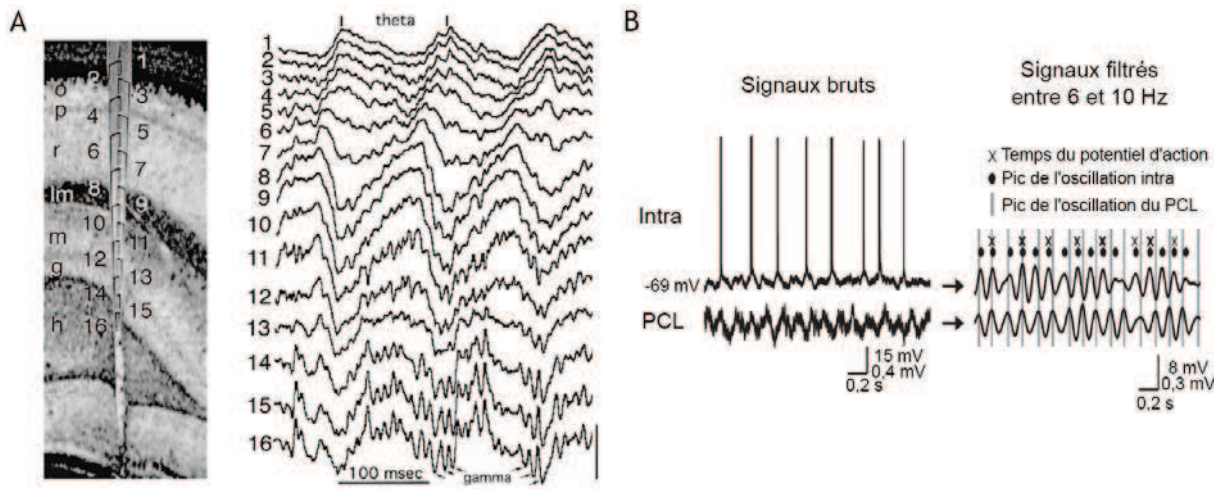


Figure 1.15 : Le rythme thêta hippocampique

A) Rythme thêta enregistré dans CA1 et le gyrus denté. A gauche : coupe histologique illustrant la position de l'électrode d'enregistrement multisite par rapport aux différentes couches de l'hippocampe. Les chiffres de 1 à 16 correspondent aux différents sites d'enregistrement du PCL. A droite, des exemples d'enregistrement de l'activité du réseau de l'hippocampe sont présentés pour chacun de ces sites. O : *Stratum oriens* ; p : couche des cellules pyramidales ; r : *Stratum radiatum* ; lm : *Stratum lacunosum-moleculare* ; m : couche moléculaire ; g : couche des cellules granulaires ; h : hilus (modifié d'après Buzsaki, 2002).

B) Exemple d'enregistrement simultané de l'activité intracellulaire d'une cellule pyramidale de l'hippocampe (Intra) et de l'activité du PCL. Ce double enregistrement est réalisé à proximité l'un de l'autre chez la souris « tête fixée » soumise à une navigation virtuelle. Les signaux bruts (à gauche) sont accompagnés de leur signaux filtrés entre 6 et 10 Hz (à droite) (Modifié d'après Harvey et al., 2009).

Le rythme thêta est un état très actif dont la genèse est permise par des relations spécifiques entre des noyaux sous-corticaux, des interactions synaptiques importantes au sein du réseau hippocampique et des mécanismes intrinsèques aux neurones pyramidaux (Buzsaki, 2002 ; Sirota & Buzsaki, 2005).

La participation de mécanismes intrinsèques dans le rythme thêta a été proposée car les cellules pyramidales possèdent des propriétés de résonance dans cette gamme de fréquence et que l'amplitude des oscillations du potentiel de membrane et leur relation de phase avec le PCL sont voltage-dépendants (Soltesz & Deschenes, 1993 ; Buzsaki, 2002). Les mécanismes intrinsèques reposeraient notamment sur des courants ioniques voltage-dépendants tels que le courant calcique de type t et le courant cationique I_h (Buzsaki, 2002).

Dans le cadre du codage par assemblée de neurones, le rythme thêta hippocampique jouerait un rôle de référence de phase. Par exemple, le rythme thêta intracellulaire peut permettre aux potentiels d'action de se produire à des phases spécifiques de l'oscillation de réseau (Sirota & Buzsaki, 2005). Ainsi, le rythme thêta fournirait l'horloge commune permettant la formation d'assemblées de neurones, spécifiquement synchronisées à l'oscillation thêta du réseau à laquelle se superpose des oscillations gamma (Lisman, 2005).

Le rythme thêta semble impliqué dans un grand nombre de fonctions. Tout d'abord, les relations temporelles entre les oscillations du potentiel de membrane des cellules de lieu, leur activité de décharge et les oscillations du PCL évoluent au fur et à mesure que l'animal s'approche du lieu pour lequel la cellule est sensible (**Fig. 1.15B** ; O'Keefe & Recce, 1993 ; Harvey *et al.*, 2009). Cette évolution spécifique des relations est appelée précession de phase et suggère la participation du rythme thêta dans la navigation spatiale.

D'autres fonctions ont été proposées pour le rythme thêta hippocampique. Par exemple, il participerait à la formation et au rappel des mémoires épisodiques et déclaratives et dans les processus de mémoire de travail en modulant la plasticité synaptique (Winson, 1978 ; Eichenbaum *et al.*, 2000 ; Lisman, 2005 ; Duzel *et al.*, 2010).

1.3.2. Les dynamiques lentes liées à la respiration

Au niveau du bulbe olfactif, le rythme lent est lié à la respiration par le fait que l'information lui parvient de manière phasique. En effet, la respiration forme un mécanisme de contrôle de l'apport des molécules odorantes à la muqueuse olfactive. L'inspiration permet leur entrée dans la cavité nasale tandis que l'expiration les renvoie à l'extérieur. Cette activation rythmique de la muqueuse est ensuite transmise au bulbe olfactif et se reflète au niveau de l'activité du réseau ainsi qu'au niveau de l'activité individuelle des cellules. Le rythme lent de l'activité de réseau peut être observé par étude des dynamiques d'activation de la couche glomérulaire et par étude du PCL. A l'échelle individuelle, il est présent au niveau de l'activité de décharge et des fluctuations du potentiel de membrane des neurones. Chacun de ces niveaux est décrit dans une section qui lui est spécifique.

1.3.2.1. Dynamique lente dans la couche glomérulaire

L'évolution des techniques d'imagerie a conduit à l'étude des dynamiques d'activation des neurones. Au niveau du bulbe olfactif, la première étude à s'être intéressée à ce type d'activité est celle réalisée par Spors & Grinvald en 2002 (**Fig. 1.16**). Au cours de celle-ci, ils ont observé le décours temporel de l'activation des éléments post-synaptiques de la couche glomérulaire obtenue avec une technique d'imagerie basée sur l'utilisation du marqueur fluorescent RH-1838. Chez l'animal anesthésié, plusieurs éléments pertinents sont apparus. Tout d'abord, la carte d'activation glomérulaire varie au cours d'une stimulation odorante (**Fig. 1.16A**). Certains glomérules vont s'activer avec des cinétiques qui leur sont propres et

spécifiques de l'odeur utilisée. Ensuite, l'étude de la dynamique d'activation d'un seul glomérule a permis de mettre en évidence que les fluctuations du niveau de fluorescence de certains glomérules se font au rythme de la respiration (Fig. 1.16B). Cette activation rythmique de l'étage glomérulaire possède une amplitude, une phase et une distribution spatiale qui sont modulées de façon spécifique par l'odeur (Fig. 1.16B et C ; Spors & Grinvald, 2002). L'utilisation de techniques d'imagerie calcique du signal pré-synaptique par application de molécules de Dextran fluorescentes sur les neurorécepteurs olfactifs, toujours chez l'animal anesthésié, permet de retrouver des résultats similaires (Spors *et al.*, 2006). D'autres auteurs, utilisant notamment l'imagerie de l'activité post-synaptique de souris génétiquement modifiées pour la sous-unité Kv3.1 du courant potassique des cellules M/P, observent des activations glomérulaires relativement stables d'un cycle respiratoire à l'autre lors d'une stimulation odorante (Fletcher *et al.*, 2009).

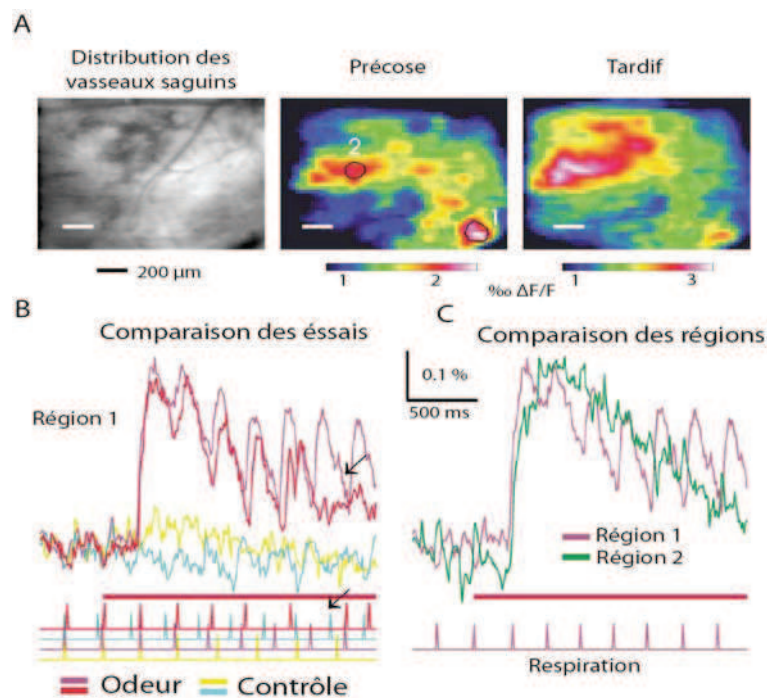


Figure 1.16 : Dynamiques spatio-temporelles de l'activation de la couche glomérulaire du bulbe olfactif (Modifié d'après Spors & Grinvald, 2002)

- Cartes d'activation de la surface dorsale du bulbe olfactif avec la distribution des vaisseaux sanguins et les cartes de variations de fluorescence obtenues à différents moments d'une stimulation odorante : au début (précoce) et vers la fin (tardif).
- Décours temporel du signal fluorescent enregistré dans une région spécifique. Les courbes rose et rouge sont obtenues lors de stimulations répétées avec la même odeur. Les courbes contrôles, représentées en jaune et bleu sont obtenues en absence de stimulations odorantes. Ces courbes de variations de fluorescence sont accompagnées du signal respiratoire simultané. La correspondance entre les deux signaux est indiquée par le code couleur. Le trait rouge situé sous les courbes de variation de fluorescence matérialise la période de stimulation odorante.
- Décours temporel du signal fluorescent de deux régions de la couche glomérulaire lors d'une même stimulation odorante. Les régions examinées sont entourées sur la carte d'activation « précoce »

Les relations étroites entre la respiration et les dynamiques d'activation des glomérules peuvent être révélées lors d'expérience de double trachéotomie. Dans ces conditions, la respiration de l'animal ou respiration trachéale est dissociée du flux d'air présent dans la cavité nasale ou respiration nasale. Il est alors possible de faire varier et contrôler les différents paramètres du flux d'air qui entre dans la cavité nasale tels que la fréquence ou le débit. Un tel protocole a permis de mettre en évidence que les cartes d'activation glomérulaire observées en réponse à une odeur sont similaires lorsque la fréquence et le débit d'air imposé dans la cavité nasale sont modifiés. De nouveaux glomérules actifs pourront émerger lorsque le débit d'air dans la cavité nasale est augmenté (Oka *et al.*, 2009). Lorsque la cinétique d'activation d'un seul glomérule est examinée, il apparaît que l'importance de son pic d'activation varie en fonction du débit (Oka *et al.*, 2009 ; Esclassan *et al.*, *soumis*). L'effet de la fréquence de la respiration nasale est plus complexe puisqu'il va dépendre du débit d'air utilisé avec une diminution du pic d'activation lors de l'augmentation de la fréquence (Esclassan *et al.*, *soumis*). Cette diminution sera d'autant plus importante que le débit est faible, aucun effet de la fréquence n'étant observé pour les forts débits.

Par ailleurs, une activation des glomérules au rythme de la respiration peut également être observée en absence de stimulation odorante. Dans ce cas, les fluctuations de fluorescence ont une amplitude nettement moins importante que celles observées durant une stimulation odorante (Fletcher *et al.*, 2009). Ceci montre que la modulation respiratoire de l'activité du réseau glomérulaire existe en présence d'air uniquement et qu'elle est modifiée en fonction de la présence d'une odeur et des paramètres de la respiration.

Chez l'animal vigile, il est également possible d'étudier les dynamiques d'activation de la couche glomérulaire par imagerie fluorescente. De tels travaux ont été réalisés chez le rat « tête fixé » avec un marqueur fluorescent de l'activation pré-synaptique (Verhagen *et al.*, 2007, Wesson *et al.*, 2008a et b ; Wesson *et al.*, 2009 ; Carey *et al.*, 2009). Lorsque l'animal discrimine une odeur avec une fréquence respiratoire comprise entre 1 et 3 Hz et donc similaire à la fréquence respiratoire d'un animal anesthésié, des résultats semblables sont obtenus avec une carte d'activation dynamique et une fluctuation du signal fluorescent au rythme de la respiration (Verhagen *et al.*, 2007). En revanche, lorsque l'animal respire avec une fréquence comprise entre 4 et 6 Hz, l'activation glomérulaire perd la rythmicité respiratoire pour présenter une activation tonique (Verhagen *et al.*, 2007).

Les résultats obtenus, notamment par Fletcher *et al.* (2009), avec l'utilisation de souris génétiquement modifiées suggère que les fluctuations de la fluorescence correspondent à des fluctuations synchronisées du potentiel de membrane des cellules se projetant sur un glomérule.

Cette corrélation ne peut cependant pas être établie avec certitude puisque aucune étude mêlant l'analyse de la modulation respiratoire de l'activation glomérulaire à des enregistrements intracellulaires des cellules M/P ne s'est intéressée à cette corrélation. En effet, la seule étude mêlant l'approche intracellulaire et l'imagerie (Luo & Katz, 2001) ne réalise pas ces deux enregistrements de manière simultanée et analyse uniquement la dynamique d'activation de la carte spatiale par intervalle de 200 ms sans tenir compte de la respiration ni de la dynamique d'activation d'un seul glomérule. Toutefois, cette corrélation semble raisonnable au vu de ce qui se passe dans d'autres cortex sensoriels. Par exemple, le signal fluorescent enregistré au niveau du cortex somato-sensoriel dévolu aux vibrisses présente une activation dynamique et celle-ci est similaire aux variations de potentiel de membrane des neurones de ce cortex (Berger *et al.*, 2007).

1.3.2.2. Dynamique lente du potentiel de champ local

Chez l'animal anesthésié et libre de respirer, le PCL est caractérisé, en absence d'odeur, par des oscillations dont la fréquence est corrélée à celle de la respiration (Buonviso *et al.*, 2003). Ces oscillations correspondent à la modulation respiratoire et leurs caractéristiques vont dépendre de la couche du bulbe olfactif dans laquelle le PCL est enregistré (Fig. 1.17A). Par exemple, une modulation respiratoire est observée sur le PCL enregistré au niveau de la couche des cellules granulaires alors qu'il apparaît plat au niveau de la couche des cellules mitrales.

Pendant une stimulation odorante, des oscillations de grandes amplitudes synchronisées à la respiration caractérisent le PCL du bulbe olfactif (Fig. 1.17A). Celles-ci ont été les premières oscillations mises en évidence chez l'animal anesthésié (Adrian, 1942). Il a été montré par la suite que des oscillations beta et gamma se superposaient à cette modulation lente du PCL lors des stimulations odorantes (Fig. 1.17B ; Adrian, 1950, Freeman, 1975 ; Buonviso *et al.*, 2003).

L'étude de la relation liant la rythmicité du bulbe olfactif à la respiration est notamment permise par des expériences de double trachéotomie. Celles-ci ont permis de mettre en évidence que, si un flux d'air rythmique est présent dans la cavité nasale, l'amplitude de la modulation respiratoire du PCL est augmentée à partir d'un certain niveau de débit d'air imposé. De plus, cette amplitude est également dépendante de la fréquence de la respiration nasale puisqu'elle diminue lorsque la fréquence respiratoire est augmentée. Ceci suggère une relation étroite entre respiration et activité lente du réseau bulbaire (Courtiol *et al.*, 2011 ; Courtiol *et al.*, sous presse).

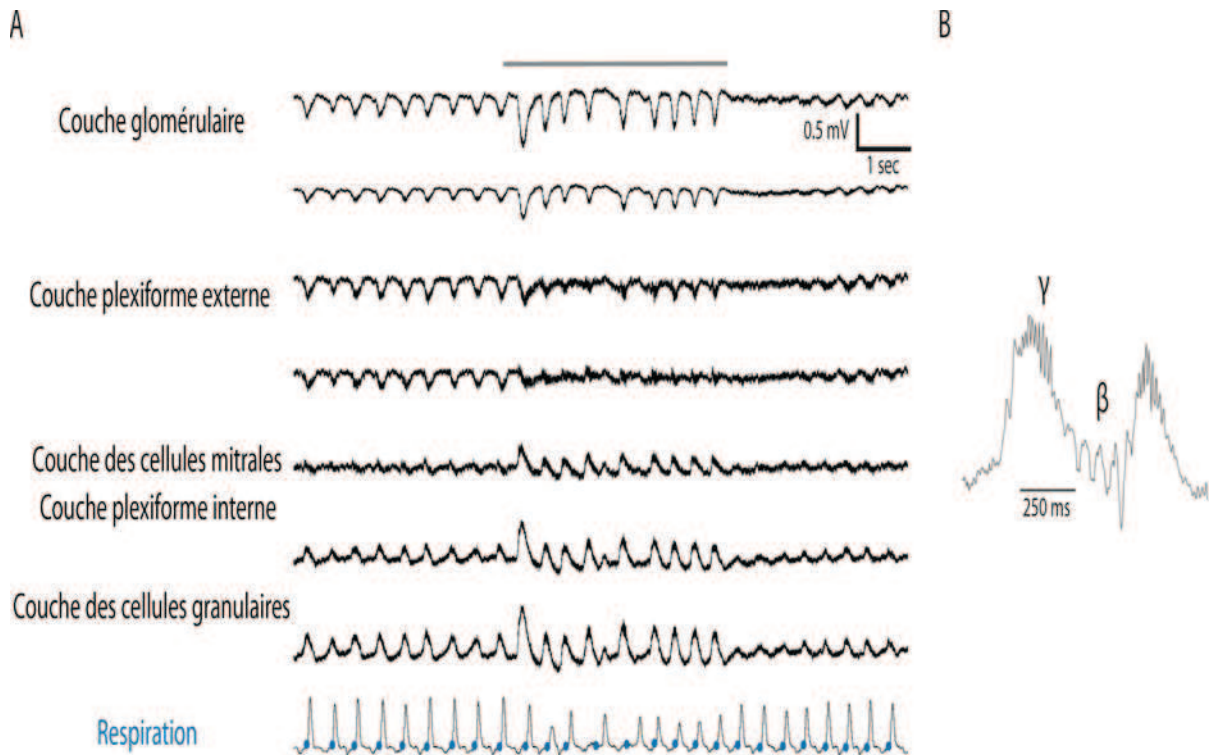


Figure 1.17 : Les dynamiques du potentiel de champ local du bulbe olfactif

- A) Exemples d'enregistrements du PCL obtenu simultanément dans les différentes couches du bulbe olfactif. Ces enregistrements ont été réalisés chez le rat anesthésié et libre de respirer grâce à une électrode à 16 voies d'enregistrement dont l'espace inter-site est de 50 μm . Le tracé du bas correspond au signal respiratoire avec les transitions entre l'inspiration et l'expiration indiquées par un point bleu. La présence d'une odeur est indiquée par le trait gris au dessus des tracés (*D'après une communication personnelle de Buonviso et al.*).
- B) Exemple d'enregistrement du PCL de la couche granulaire du bulbe olfactif réalisé chez le rat anesthésié et libre de respirer. Cet enregistrement est obtenu pendant une stimulation odorante. Des bouffées d'oscillations rapides se greffent spécifiquement sur l'oscillation lente liée à la respiration. Les oscillations de type gamma sont présentes au sommet de l'oscillation lente tandis que les oscillations beta se produisent dans le creux de cette oscillation lente (*D'après Buonviso et al. 2003*),

Par ailleurs, ces oscillations lentes liées à la respiration du bulbe olfactif sont étroitement corrélées avec les oscillations lentes présentes dans le cortex piriforme (Fontanini *et al.*, 2003). D'un point de vue temporel, la forte corrélation se reflète par l'association spécifique du pic positif du signal bulbaire avec le pic négatif observé sur le PCL enregistré au niveau du cortex piriforme.

Chez le rat en comportement, des oscillations lentes se produisant approximativement au rythme de la respiration ont été observées à plusieurs reprises (Freeman *et al.*, 1978 ; Kay, 2005). Lors de ces études, la respiration n'était toutefois pas enregistrée. Récemment, Courtiol *et al.* (sous presse) ont mis en évidence, chez des rats vigiles placés dans une cage de pléthysmographie, que la modulation respiratoire du PCL était hautement corrélée à la

respiration et qu'un changement brutal de fréquence respiratoire se reflétait au niveau de l'activité du réseau bulbaire.

1.3.2.3. Dynamique lente des activités unitaires

1.3.2.3.1. Au niveau de l'activité de décharge

L'activité de décharge des cellules M/P du bulbe olfactif est fortement modulée par la respiration. Cette modulation est présente en période d'activité spontanée et pendant les stimulations odorantes chez l'animal anesthésié (Adrian, 1951 ; Walsh, 1956).

L'étude de l'activité de décharge chez l'animal anesthésié respirant librement a permis de proposer que les réponses aux stimulations odorantes des cellules M/P seraient mieux caractérisées par la description de la réorganisation temporelle de leur décharge au cours d'un cycle respiratoire que par des changements globaux de taux de décharge (Macrides & Chorover, 1972). Cette proposition est notamment basée sur l'observation que le taux de décharge de certaines cellules M/P du bulbe olfactif ne change pas lors de stimulations odorantes par rapport à celui présent durant l'activité spontanée (Macrides & Chorover, 1972). Par la suite, plusieurs méthodologies ont été définies pour caractériser la synchronisation de l'activité de décharge des cellules M/P : « inhalation cycle histograms » décrit par Macrides & Chorover en 1972 ; « inhalation-synchronized histograms » développé par Potter & Chorover en 1976 ; des fonctions complexes prenant en compte à la fois la fréquence moyenne de décharge et sa distribution temporelle (Scott, 1977) ; des profils d'inspiration et d'expiration définis par Chaput & Holley en 1980. En 1992, Chaput *et al.* ont décrit une autre méthodologie basée sur les variations du taux de décharge le long du cycle respiratoire. Cette méthodologie leur a permis de définir 9 patrons respiratoires de décharge avec différents types de patrons synchronisés à la respiration et d'autres qui ne le sont pas. Les patrons de décharge synchronisés à la respiration peuvent être séparés en trois catégories (**Fig. 1.18**) : 1) des patrons simples synchronisés excitateurs (S+); 2) un patron simple synchronisé inhibiteur (S-) et 3) des patrons synchronisés complexes (Sc). Les patrons de décharges **S+** se caractérisent par une seule augmentation de l'activité de décharge à un moment précis du cycle respiratoire, préférentiellement peu après la transition entre l'inspiration et l'expiration. Deux types de patrons de décharge S+ ont été différenciés : un premier type où l'augmentation de la décharge se superpose à une activité de décharge soutenue tout le long de la respiration et un deuxième type pour lequel les potentiels d'action sont émis uniquement à un moment précis du cycle respiratoire. Au contraire des

patrons S+, le patron de décharge **S-** se caractérise par une diminution voire une disparition de l'activité de décharge à un moment particulier du cycle respiratoire. Les patrons de décharge **Sc** correspondent aux patrons dont l'activité de décharge présente de multiples pics et / ou creux le long du cycle respiratoire. Il est possible de différencier 4 patrons Sc :

- celui présentant une augmentation de l'activité de décharge suivie par une diminution,
- celui avec une diminution puis une augmentation de l'activité de décharge,
- celui composé d'une séquence de diminution puis augmentation et à nouveau diminution de l'activité de décharge,
- celui dont deux séquences d'augmentation de l'activité de décharge sont séparées par sa diminution.

A l'opposé de ces patrons synchronisés à la respiration, il est possible de différencier un patron de décharge non synchronisé (**NoS**). Il se caractérise par une répartition des potentiels d'action homogène sur tout le cycle respiratoire. Pour les enregistrements ne présentant pas ou peu de potentiels d'action, un patron de décharge **Nul** a été défini.

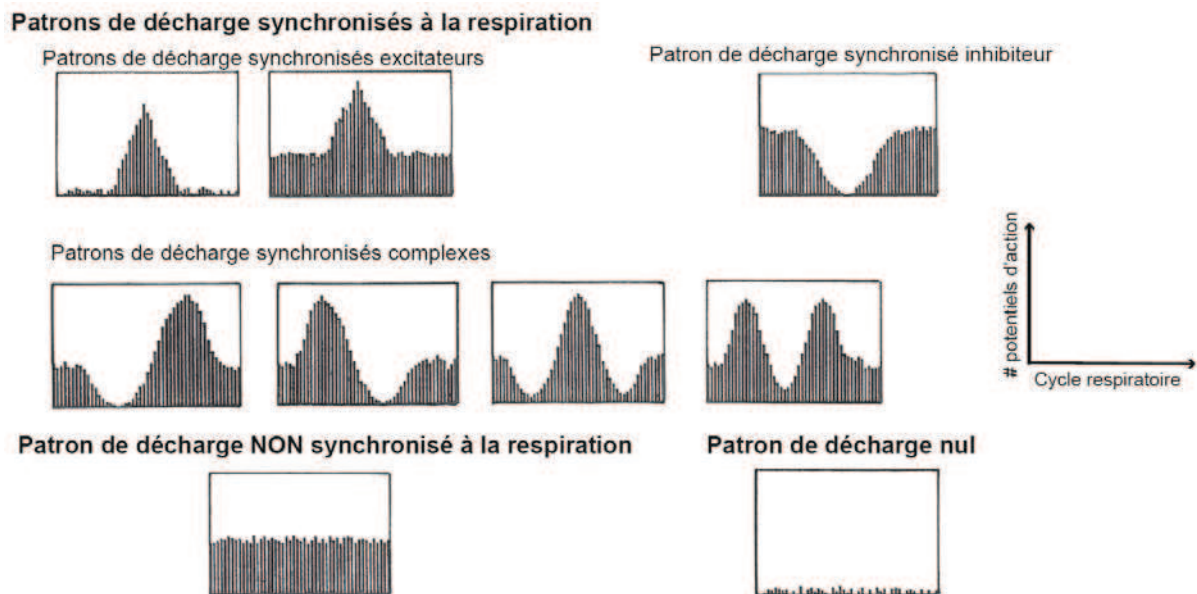


Figure 1.18 : Représentation des différents patrons de décharge respiratoire des cellules M/P

(Modifié d'après Chaput et al., 1992)

Pendant les périodes d'activité spontanée, quasiment la moitié des cellules M/P exprime un patron NoS tandis que seulement 35% portent un patron synchronisé à la respiration (Chaput *et al.*, 1992). Parmi ces cellules, le patron S+ est le plus représenté. La présence d'une odeur favorise la synchronisation de l'activité de décharge des cellules M/P à la respiration puisque les

patrons S+, S- et Sc sont exprimés par quasiment 60% des cellules. Cette augmentation de la proportion de patrons synchronisés à la respiration est surtout permise par une augmentation du pourcentage de cellules exprimant le patron S-.

L'étude de l'expression des patrons de décharge synchronisés à la respiration a permis de renforcer l'hypothèse d'une organisation en colonne du bulbe olfactif décrite précédemment. En effet, des cellules M/P proches et donc supposées projeter leurs dendrites apicales dans le même glomérule ont une probabilité plus importante de présenter un même patron de décharge que des cellules distantes (Buonviso *et al.*, 1992). De plus, la synchronisation de l'activité de décharge entre cellules M/P proches est améliorée par les stimulations odorantes (Buonviso *et al.*, 1992). Si l'activité de décharge de deux cellules M/P enregistrées simultanément est observée finement, il apparaît qu'une partie de leurs potentiels d'action tendent à se produire de manière synchrone lors d'une stimulation odorante (Kashiwadani *et al.*, 1999).

La relation entre l'expression des patrons de décharge et la respiration elle-même peut également être étudiée à l'aide d'expérience de double trachéotomie. Il apparaît alors que la plupart des cellules mitrales n'ont pas d'activité spontanée lorsqu'aucun flux d'air ne pénètre dans la cavité nasale et que l'activité de décharge de certaines est rythmée par la respiration nasale même en absence de stimulation odorante (Walsh, 1956 ; Macrides & Chorover, 1972 ; Potter & Chorover, 1976 ; Onoda & Mori, 1980 ; Sobel & Tank, 1993). De plus, la proportion de cellules exprimant des patrons de décharge synchronisés à la respiration est dépendante de l'importance du flux d'air dans la cavité nasale (Courtiol *et al.*, 2011). Ceci suggère que la proportion de cellules exprimant un patron synchronisé à la respiration pourra être modulée en fonction du comportement respiratoire de l'animal vigile. Cette suggestion est d'autant plus probable qu'une modulation de l'activité de décharge par la respiration a également été décrite chez l'animal vigile (Chaput & Holley, 1979, 1980 et 1985, Pager, 1985).

1.3.2.3.2. Au niveau du potentiel de membrane

Le rythme lent lié à la respiration est également présent au niveau du potentiel de membrane des cellules M/P. Des enregistrements de l'activité intracellulaire de ces cellules ont, en effet, permis de décrire des oscillations lentes du potentiel de membrane comme correspondant à une dépolarisation synaptique se produisant au rythme de la respiration lors de réponses à des stimulations odorantes (Fig. 1.19.A ; Wellis *et al.*, 1989 ; Charpak *et al.*, 2001, Luo & Katz, 2001 ; Cang & Isaacson, 2003 ; Margrie & Schaefer, 2003 ; Schaefer *et al.*, 2006). Ces fluctuations du potentiel de membrane au rythme de la respiration sont associées à des

variations de la concentration intracellulaire de calcium (Chapark *et al.*, 2001) et possèdent une amplitude d'environ 6 mV. Celle-ci est voltage-dépendante puisque l'hyperpolarisation des cellules M/P entraîne son augmentation (Cang & Isaacson, 2003). Les oscillations lentes du potentiel de membrane évoquées par les odeurs sont également sensibles aux changements d'intensité de l'odeur : une augmentation de l'intensité de l'odeur entraîne une augmentation de l'amplitude et de la pente de l'oscillation (Cang & Isaacson, 2003). Par ailleurs, des réponses inhibitrices caractérisées par une diminution globale du potentiel de membrane à laquelle s'ajoute des variations au rythme de la respiration peuvent également être observées lors de stimulations odorantes (Fig. 1.19B). Ce type de réponse a été défini comme correspondant à des potentiels post-synaptiques inhibiteurs se produisant au rythme de la respiration et serait permis par l'inhibition latérale (Wellis *et al.*, 1989 ; Cang & Isaacson, 2003). L'implication des inhibitions latérales dans la mise en place des réponses inhibitrices au rythme de la respiration est soutenue par le fait que des dépolarisations du potentiel de membrane, au rythme de la respiration, sont aussi observées dans les cellules granulaires. Ces dépolarisations pourraient alors induire une libération rythmique de GABA sur les cellules mitrales qui leur sont connectées (Wellis & Scott, 1990 ; Cang & Isaacson, 2003 ; Margrie & Schaefer, 2003).

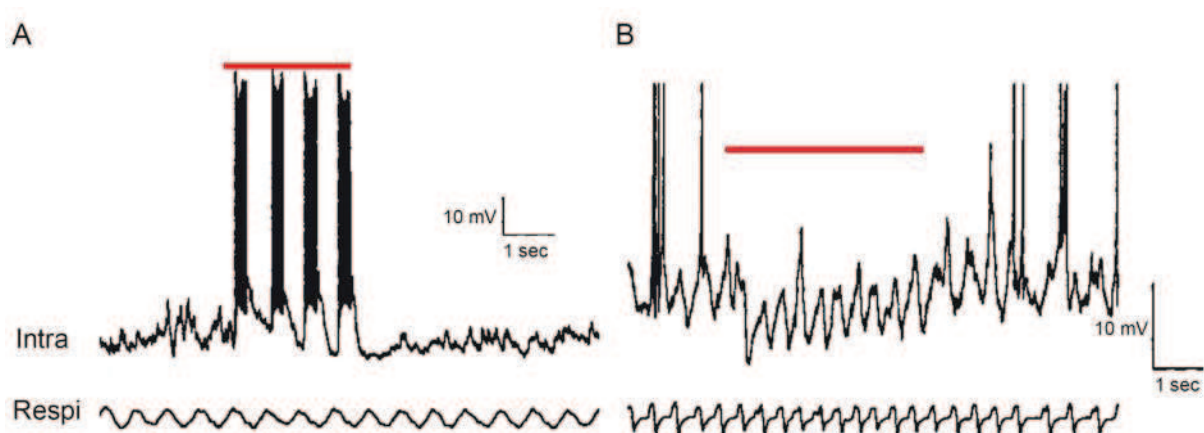


Figure 1.19 : Les oscillations lentes du potentiel de membrane des cellules M/P (Modifié d'après Cang & Isaacson, 2003)

Exemples d'enregistrements intracellulaires (Intra) illustrant une réponse excitatrice (A) et inhibitrice (B) chez le rat anesthésié et libre de respirer. La stimulation odorante est représentée par le trait rouge. Les potentiels d'action sont tronqués pour l'exemple B.

Par ailleurs, les oscillations lentes du potentiel de membrane au rythme de la respiration semblent correspondre à une activité extrêmement robuste pour les cellules à panache externes puisque toutes leurs réponses aux odeurs sont de ce type et que des oscillations peuvent également être observées pendant leur activité spontanée (Luo & Katz,

2001). De même, certaines cellules M/P expriment en période d'activité spontanée des oscillations lentes de leur potentiel de membrane au rythme de la respiration (Margrie & Schaefer, 2003). Comme le suggère des expériences de double trachéotomie, ces oscillations dépendent de la présence d'un flux d'air dans la cavité nasale. Les relations entre ces oscillations et les différents paramètres de la respiration n'ont pas encore été établies tout comme leur existence chez l'animal vigile.

1.3.2.4. Origines du rythme lent lié à la respiration

Plusieurs origines non exclusives ont été proposées pour le rythme lent lié à la respiration des différentes activités du bulbe olfactif : 1) une origine périphérique, 2) une origine intrinsèque au bulbe olfactif ou 3) une origine centrale.

L'origine périphérique des dynamiques lentes du bulbe olfactif est soutenue par plusieurs arguments. Tout d'abord, les activités rythmées par la respiration pourraient refléter la façon dont le stimulus parvient à son récepteur lors de stimulations odorantes. En effet, *in vivo*, les molécules odorantes, présentes dans l'air, pénètrent dans la cavité nasale à chaque inspiration tandis que l'expiration entraîne leur expulsion. L'arrivée rythmique des molécules odorantes a pour conséquence de fournir une activation dynamique de l'entrée en induisant une activation maximale de l'épithélium à la fin de l'inspiration (Chaput, 2000). Cette dynamique temporelle serait à l'origine des rythmes lents des différentes activités du bulbe olfactif et servirait de base pour tous les traitements ultérieurs de l'information olfactive. Toutefois, cette activation dynamique, par activation odeur-évoquée des neurorécepteurs olfactifs, ne semble pas être le seul mécanisme responsable de l'influence de la respiration puisqu'elle est également observée en dehors de toute stimulation odorante. Ceci conduit à supposer la participation d'un autre mécanisme tel que la mécano-sensibilité de la muqueuse olfactive. La participation de celle-ci a été proposée dès 1951 par Adrian. Cette composante aurait comme origine une mécano-sensibilité des neurorécepteurs olfactifs puisque une partie d'entre eux répondent non seulement aux stimulations odorantes mais également aux stimulations mécaniques (Ueki & Domino, 1961 ; Grosmaître *et al.*, 2007). Ces réponses aux stimulations mécaniques sont corrélées à l'intensité de la pression et possèdent des propriétés similaires à celles des réponses aux odeurs (Grosmaître *et al.*, 2007). Cette mécano-sensibilité des neurorécepteurs olfactifs apparaît étroitement liée aux rythmes lents de l'activité du bulbe olfactif en conduisant la modulation respiratoire du PCL bulbaire.

Ensuite, les études menées sur un modèle de rat anesthésié avec double trachéotomie ont permis de mettre en évidence que lorsqu'aucun flux d'air ou un flux d'air constant pénètre dans la cavité nasale les oscillations lentes du PCL et du potentiel de membrane disparaissent et l'activité de décharge ne se synchronise plus avec la respiration (Onoda & Mori, 1980 ; Sobel & Tank, 1993 ; Schaefer *et al.*, 2006 ; Courtiol *et al.*, 2011). De plus, l'activité de décharge des cellules M/P est synchronisée à la respiration nasale et donc avec la périphérie alors qu'elle est complètement indépendante de la respiration trachéale (Sobel & Tank, 1993). Un argument supplémentaire en faveur d'une origine périphérique vient d'études pharmacologiques. En effet, l'application d'antagonistes aux récepteurs AMPA et NMDA (qui diminuent le signal périphérique) ou l'utilisation de TTX (Tetrodotoxine, bloqueur des courants sodiques) entraînent la disparition de l'activation spatiale dynamique de la couche glomérulaire (Spors & Grinvald, 2002) et la disparition des oscillations lentes du potentiel de membrane (Margrie & Schaefer, 2003). Ces résultats suggèrent que la transmission synaptique entre les neurorécepteurs olfactifs et les cellules M/P est nécessaire à l'expression de la dynamique lente du bulbe olfactif.

En complément de cette origine périphérique, l'expression de la dynamique lente du bulbe olfactif semble également faire intervenir une **composante centrale**. En effet, la section du pédoncule olfactif, qui déconnecte le bulbe olfactif du cortex, entraîne la diminution voir la disparition de la synchronisation de l'activité de décharge (Potter & Chorover, 1976 ; Pager, 1980). Par ailleurs, la participation d'une composante centrale est également supportée par la persistance de la synchronisation de l'activité de décharge des cellules M/P à la respiration lorsqu'aucun flux d'air ne pénètre dans la cavité nasale (Ravel & Pager, 1990). Au niveau du PCL, des oscillations lentes peuvent également être observées en absence de flux d'air dans la cavité nasale (Fontanini *et al.*, 2003). Dans ces conditions, seuls les liens entre oscillations bulbaires et corticales seraient perturbés.

Plus récemment, l'intervention d'une **composante intrinsèque** au bulbe olfactif a été suggérée pour expliquer l'origine de la dynamique lente. Cette composante peut être envisagée au niveau des cellules M/P et au niveau des cellules à panache externes.

Dans le premier cas, les oscillations du potentiel de membrane semblent faire intervenir l'activation de certains courants ioniques spécifiques des cellules M/P. Ceci a été mis en évidence sur tranches isolées de bulbe olfactif où des oscillations du potentiel de membrane des cellules M/P avec une fréquence comprise entre 0.05 et 3 Hz peuvent être observées :

- Spontanément (Carlson *et al.*, 2000),

- Lorsque le milieu extracellulaire contient de la GABAzine (inhibiteur des récepteurs GABA) et/ou quand le magnésium en est absent (Puopolo & Belluzzi, 2001 ; De Saint Jan *et al.*, 2009),

- Lorsqu'une stimulation électrique est réalisée au niveau de la couche des nerfs olfactif ou au niveau de l'axone des cellules M/P (Carlson *et al.*, 2000 ; Schoppa & Westbrook, 2001 ; Urban & Sakmann, 2002 ; De Saint Jan & Westbrook, 2007 ; Gire & Schoppa ; 2009).

Quelles que soient les conditions utilisées pour l'évoquer, l'activité rythmique oscillatoire, parfois rencontrée sous le nom de 'dépolariation de longue durée', se caractérise par des dépolariations rythmiques du potentiel de membrane des cellules M/P sur lesquelles des potentiels d'action peuvent se greffer. Pour certains auteurs, cette activité rythmique du potentiel de membrane serait uniquement permise par une activation des récepteurs au glutamate (Carlson *et al.*, 2000 ; De Saint Jan & Westbrook, 2007). En revanche, d'autres auteurs proposent la participation de courants calciques et sodiques voltage-dépendants en parallèle de l'activation des récepteurs aux glutamates (Puopolo & Belluzzi, 2001 ; Johnston & Delaney, 2010). D'autres encore proposent la participation de tous les types de récepteurs glutamatergiques ainsi que celle du récepteur GABA-A et de canaux potassiques (Schoppa & Westbrook, 2001). La divergence de vue sur les mécanismes impliqués pourrait être due à une différence de préparation et de méthode pour évoquer les oscillations.

Par ailleurs, l'origine intrinsèque d'une fluctuation du potentiel de membrane a également été évoquée par Heyward *et al.* (2001) qui observent, au niveau des cellules M/P, **des états bistables**. Ceux-ci correspondent au fait que le potentiel de membrane de ces cellules peut se maintenir à deux niveaux : un niveau haut ou « up » situé vers le seuil de déclenchement des potentiels d'action et un niveau bas ou « down » durant lequel aucun potentiel d'action n'est émis et séparé de l'état haut par environ 10 mV. La preuve d'une origine intrinsèque de cette bi-stabilité est renforcée par le fait qu'elle est toujours présente en absence d'entrée synaptique excitatrice et inhibitrice et par sa voltage-dépendance.

Dans le cas des cellules à panache externes, une activité « bursting » spontanée a été mise en évidence *in vitro*. Cette activité « bursting » correspond à des oscillations ou dépolariations du potentiel de membrane se produisant à une fréquence de 2 à 3 Hz et sur lesquelles peuvent se greffer une salve de potentiels d'action (McQuiston & Katz, 2001 ; Hayar *et al.*, 2004a,b ; Hayar *et al.*, 2005 ; Antal *et al.*, 2006 ; Zhou *et al.*, 2006 ; DeSaint Jan. *et al.*, 2009, Dong *et al.*, 2009). Cette activité rythmique des cellules à panache externes, parfois qualifiée de 'pacemaker', est permise par les propriétés intrinsèques de leur membrane et se produit spontanément (Hayar *et al.*, 2004, Zhou *et al.*, 2006b). Elle fait intervenir des courants sodiques persistants (I_{Nap}) pour l'initiation de la dépolariation, des courants calciques de type t pour la phase de dépolariation

et des courants potassiques calcium- et voltage-dépendants pour la phase de repolarisation. Même si elle n'est pas indispensable à sa genèse, l'activation de récepteurs synaptiques peut également influencer cette activité rythmique au niveau de son occurrence et de son importance (amplitude de la dépolarisation rythmique et / ou nombre de potentiels d'action inclus dans la salve). Par exemple, le blocage des récepteurs AMPA, NMDA mais également GABA-A favorise une occurrence régulière de l'activité « bursting » (Hayar & Ennis., 2007). Les cellules à panache externes imposeraient leur activité rythmique intrinsèque aux cellules M/P appartenant au même glomérule grâce aux synapses électriques et chimiques qui lient ces deux types cellulaires (De Saint Jan *et al.*, 2009). En effet, les potentiels d'action calcique formant ces oscillations lentes pourraient être transmis de manière efficace au travers du réseau de jonctions GAP qui relie les cellules entre elles (Bennett & Zukin, 2004; De Saint Jan *et al.*, 2009).

La grande majorité des données viennent donc étayer une origine périphérique pour le rythme lent lié à la respiration des activités bulbaires. Toutefois, cette origine n'exclut pas la participation de facteurs intrinsèques et / ou centraux. En effet, ceux-ci pourraient influencer les différentes activités rythmées par la respiration.

1.3.2.5. Les rôles fonctionnels supposés du rythme lent du bulbe olfactif

Au niveau du bulbe olfactif, le **rythme lent** lié à la respiration semble pouvoir jouer plusieurs rôles non exclusifs.

Tout d'abord, il participerait à la **synchronisation** de l'activité d'une population de neurones. Celle-ci concerne les cellules M/P appartenant à une même unité glomérulaire c'est-à-dire les cellules M/P se projetant au sein du même glomérule. Ces cellules présentent des activités synchrones au niveau :

- 1) des variations du signal de fluorescence calcique (Chen *et al.*, 2009),
- 2) des patrons de décharge évoqués par les odeurs (Buonviso *et al.*, 1992),
- 3) des potentiels post-synaptiques (Urban & Sakman, 2002)
- 4) des oscillations lentes du potentiel de membrane (Carlson *et al.*, 2000 ; Schoppa & Westbrook, 2001).

De plus, une synchronisation des oscillations du potentiel de membrane peut également être observée entre cellules M/P et cellules à panache externes (De saint Jan *et al.*, 2009 ; Gire & Schoppa, 2009). La synchronisation de l'ensemble de ces activités glomérulaires ferait intervenir différents mécanismes tels que le spillover du glutamate, les synapses électriques et

l'accumulation de potassium (Jahr & Nicoll, 1981 ; Schoppa & Westbrook, 2001, De Saint Jan & Westbrook, 2005 ; Wachowiack & Shipley, 2006). La synchronisation glomérulaire de l'onde lente nécessite également que les éléments composant le glomérule soit spécifiquement organisé en différents compartiments (Borisovska *et al.*, 2011).

Le rythme lent intracellulaire pourrait également intervenir dans la **régulation du moment précis d'émission des potentiels d'action**. Cette régulation agirait sur la latence du premier potentiel d'action émis suite à une stimulation (Cang & Isaacson, 2003 ; Schaefer *et al.*, 2006). Ces données vont dans le sens de l'hypothèse selon laquelle les oscillations lentes du potentiel de membrane formeraient, pour les cellules M/P, un dispositif participant au codage en permettant de reformater temporellement la force des entrées synaptiques en jouant sur la latence du premier potentiel d'action se produisant sur le cycle de l'oscillation (Margrie & Schaefer, 2003; Cang & Isaacson, 2003 ; Schaefer *et al.*, 2006).

Un troisième rôle envisageable pour le rythme lent du bulbe olfactif serait de faciliter **la transmission de l'information**. En effet, le cortex piriforme présentant également une activité rythmée par la respiration, les deux structures peuvent se synchroniser lors du traitement de l'information (Fontanini *et al.*, 2003). De plus, la synchronisation de l'activité de décharge d'une population de neurones, au rythme lent, augmente également la probabilité que l'élément post-synaptique réponde puisque les différents événements post-synaptiques pourront se sommer.

1.3.3. Les dynamiques rapides

Superposées au rythme lent de l'activité du bulbe olfactif, des oscillations rapides apparaissent. Celles-ci ont une fréquence comprise entre 15 et 90 Hz et peuvent être observées au niveau du PCL du bulbe olfactif et au niveau du potentiel de membrane des cellules M/P. Ces deux niveaux d'observation seront décrits dans les deux prochaines sections de mon introduction. A leur suite, les relations entre l'activité de décharge des cellules M/P et les oscillations rapides du PCL seront abordées.

1.3.3.1. Les oscillations rapides du potentiel de champ local

Dès 1950, Adrian a mis en évidence que l'activité du réseau bulbaire est caractérisée par la présence d'oscillations rapides qui se superposent aux oscillations lentes liées à la

respiration lors des stimulations odorantes. Par la suite, deux types d'oscillations rapides du PCL ont été définis en fonction de leur fréquence : les oscillations beta qui ont une fréquence comprise entre 15 et 30 Hz et les oscillations gamma dont la fréquence se situe entre 40 et 90 Hz (Fig. 1.17).

Chez l'animal anesthésié et respirant librement, les oscillations gamma ont une fréquence moyenne de 55 Hz et se produisent au moment de la transition entre l'inspiration et l'expiration en bouffée régulière d'une durée moyenne de 170 ms (Buonviso *et al.*, 2003). Les oscillations beta, quant à elles, se caractérisent par des bouffées irrégulières de 2 à 7 cycles se produisant à une fréquence moyenne de 17 Hz. D'une durée moyenne de 230 ms, les oscillations beta peuvent se produire, chez l'animal anesthésié, dans une période allant de l'expiration au maximum de l'inspiration. Ces propriétés des oscillations gamma et beta ne varient pas en fonction de la couche dans laquelle elles sont enregistrées. Néanmoins, leur probabilité d'apparition est dépendante des propriétés chimiques de l'odeur. Par exemple, les odeurs appartenant à la famille des alcools n'évoquent que très rarement des oscillations gamma alors que celles de la famille des esters induisent les deux types d'oscillations rapides (Cenier *et al.*, 2008). Quelle que soit l'odeur utilisée, si des oscillations gamma sont évoquées, elles se produisent toujours dans la même gamme de fréquence et toujours au moment de la transition entre l'inspiration et l'expiration, et elles conservent leur courte durée. Le cas des oscillations beta est plus complexe puisque même si elles conservent bien leur fréquence et leur durée, leur phase respiratoire est plus variable d'une odeur à l'autre. De plus, la probabilité d'apparition des deux types d'oscillations rapides semble également dépendre la concentration de l'odeur. En effet, la probabilité d'occurrence des oscillations gamma est corrélée avec la pression de vapeur saturante au sein d'une famille d'odeur c'est-à-dire que plus la quantité de molécules odorantes apportées à la cavité nasale est importante et plus les oscillations gamma présentent une forte probabilité de se produire, au détriment des oscillations beta (Neville & Haberly, 2003 ; Cenier *et al.*, 2008), celles-ci apparaissant donc préférentiellement pour de faibles concentrations (Neville & Haberly, 2003). Pour les concentrations odorantes intermédiaires, les deux types d'oscillations sont présents (Neville & Haberly, 2003). Un autre paramètre, faisant probablement varier la concentration de l'odeur et qui influence l'occurrence des oscillations rapides est la dynamique respiratoire. En effet, une augmentation du débit d'air dans la cavité nasale induit une augmentation de la probabilité d'apparition des oscillation gamma au détriment des oscillations béta (Courtiol *et al.*, 2011).

Des origines différentes ont été proposées pour les oscillations beta et gamma du PCL. En effet, des expériences de lésion du tractus olfactif latéral (ou le bulbe olfactif est déconnecté des centres) ainsi que les études *in vitro* suggèrent que les oscillations gamma ont une origine

locale au bulbe olfactif tandis que les oscillations beta nécessiteraient la participation du cortex olfactif primaire puisque une disparition des oscillations beta est observée tandis que les oscillations gamma peuvent toujours être évoquées (Neville & Haberly, 2003; Lagier *et al.*, 2004 ; Martin *et al.*, 2004). Pour les deux types d'oscillations, le fonctionnement de la boucle entre cellules mitrales et cellules granulaires serait impliqué, avec une participation des retours corticaux pour les oscillations beta (Rall & Shepherd, 1968 ; Neville & Haberly, 2003). Des études réalisées sur tranches de bulbe olfactif ont également apporté des arguments en faveur de la participation des synapses électriques dans la mise en place de ces oscillations rapides (Friedman & Strowbridge, 2003).

Par ailleurs, les deux types d'oscillations rapides ont été décrites chez l'animal vigile (Freeman & Skarda, 1985 ; Gervais *et al.*, 2007 ; Kay *et al.*, 2009). Toutefois, leur occurrence est différente de ce qui se produit chez l'animal anesthésié. Elle va dépendre de la tâche dans laquelle le rat est engagé et est modifiée par l'apprentissage (Ravel *et al.*, 2003 ; Martin *et al.*, 2004, Fuentes *et al.*, 2008). En effet, les oscillations gamma sont observées préférentiellement lors de l'activité spontanée en se produisant tout de même au maximum de la modulation respiratoire du PCL. Lorsqu'une odeur est présentée au rat, les oscillations gamma s'écrasent au profit de l'émergence des oscillations beta. Cette dernière sera d'autant plus importante que l'animal devient expert dans la tâche impliquant l'odeur inhalée.

1.3.3.2. Les oscillations rapides sous-liminales du potentiel de membrane

Au sein du bulbe olfactif de rongeurs, les oscillations rapides du potentiel de membrane des cellules M/P ont été très peu étudiées. In vivo, elles se produisent dans la bande de fréquence gamma juste avant une bouffée de potentiels d'action pendant les stimulations odorantes (Charpak *et al.*, 2001 ; Debarbieux *et al.*, 2003). Ceci suggère que ces oscillations participeraient au déclenchement des potentiels d'action. Sur tranches de bulbe olfactif, des oscillations sous-liminales se produisent avec une fréquence variant entre 10 et 50 Hz en fonction du potentiel de membrane de la cellule M/P (Desmaison *et al.*, 1999). Elles peuvent également être évoquées par des pulses de courant et présentent alors une fréquence comprise entre 20 et 50 Hz (Chen *et al.*, 1997 ; Balu *et al.*, 2004). Leur fréquence est hautement corrélée avec la fréquence instantanée des potentiels d'action indiquant que ces oscillations sous-liminales pourraient participer à l'émission d'une décharge temporellement précise (Desmaison *et al.*, 1999). Par ailleurs, les oscillations rapides du potentiel de membrane

apparaissent synchronisées avec les oscillations rapides évoquées au niveau du PCL par stimulation électrique de la couche des nerfs olfactifs (Lagier *et al.*, 2004).

L'origine des oscillations rapides sous-liminaires n'a pas encore été établie avec certitude. Toutefois, la participation de mécanismes intrinsèques à la cellule a été proposée suite aux études *in vitro*. Il a notamment été mis en évidence, grâce à leur sensibilité à la TTX, que les oscillations rapides du potentiel de membrane impliquaient des courants sodiques (Desmaison *et al.*, 1999 ; Balu *et al.*, 2004) et notamment un courant sodique persistant I_{Nap} (Desmaison *et al.*, 1999). De plus, des courants potassiques tel que I_D participeraient également à ces oscillations rapides du potentiel de membrane (Balu *et al.*, 2004). En complément de cette composante intrinsèque, des potentiels post-synaptiques inhibiteurs médiés par les récepteurs GABA-A participeraient à ces oscillations sous-liminaires (Desmaisons *et al.*, 1999 ; Lagier *et al.*, 2004)

1.3.3.3. Relation entre l'activité de décharge des cellules M/P et les oscillations rapides du potentiel de champ local

Selon l'hypothèse que les informations sensorielles sont représentées au sein du système nerveux central par des assemblées de neurones, l'activité de décharge des neurones appartenant à l'assemblée devrait se produire de manière synchrone et entretenir des relations de phase particulières avec l'activité globale du réseau. Cette hypothèse d'une synchronisation de l'activité de décharge avec les oscillations du PCL est notamment étayée par des données obtenues au niveau du système olfactif d'insectes. Dans ce cas, la représentation de l'odeur par le système olfactif, dont l'organisation est similaire à celui des rongeurs, fait notamment intervenir une dynamique rapide de 20 à 30 Hz (Laurent *et al.*, 2001). En effet, une stimulation odorante particulière induit des oscillations rapides :

1) au niveau du potentiel de membrane des neurones de projection et des neurones locaux du lobe antennaire (équivalent des cellules M/P et des interneurons inhibiteurs du bulbe olfactif de rat, respectivement) et

2) au niveau du PCL du corps pédonculé (analogue du cortex piriforme) et du potentiel de membrane des cellules qui le composent (Laurent & Naraghi, 1994 ; Laurent & Davidowitz, 1994).

Toutes ces oscillations entretiennent des relations de phase très étroites entre elles. Au cours d'une stimulation odorante, les neurones du lobe antennaire participant à l'assemblée de neurones émettraient leurs potentiels d'action lors de la phase ascendante d'un ou plusieurs cycles d'oscillation du PCL. Cette précision de la décharge serait permise par les oscillations du

potentiel de membrane des neurones (Laurent & Davidowitz, 1994 ; Wher & Laurent, 1996 ; Laurent, 1996). La représentation de l'odeur serait donc permise par une assemblée de neurones dynamiques puisqu'un neurone donné participerait à l'assemblée seulement lors de quelques cycles d'oscillations (Laurent, 1996). Est-ce qu'une relation de phase semblable entre les potentiels d'action d'une cellule M/P donnée et les oscillations rapides du PCL existe au niveau du bulbe olfactif de rongeurs ?

Au sein du système olfactif de mammifères, le premier argument étayant l'existence d'une telle relation a été apporté par Eeckman & Freeman, 1990. Ces auteurs proposaient que les oscillations rapides interviendraient dans la synchronisation du patron de décharge. Au niveau du bulbe olfactif de mammifères anesthésiés, une des premières études a s'être intéressée aux relations temporelles entre l'activité de décharge des cellules M/P et les oscillations rapides du PCL a été réalisée chez le lapin par Kashiwadani *et al.*, 1999. Lors de cette étude, la majorité des potentiels d'action de la plupart des cellules M/ P se produisent au moment de la phase descendante des oscillations rapides du PCL lors de la stimulation odorante. Cette synchronisation de la décharge avec la phase descendante des oscillations gamma est retrouvée sur tranche de bulbe olfactif (Lagier *et al.*, 2004). Néanmoins, les synchronisations décrites dans ces deux études (Kashiwadani *et al.*, 1999 ; Lagier *et al.*, 2004) ne paraissent pas aussi simples dans la préparation *in vivo* respirant librement. Tout d'abord, les deux modèles utilisés ne présentent qu'une seule gamme de fréquences d'oscillations rapides alors que d'autres travaux ont montré l'existence d'oscillations beta et gamma lors de stimulation odorante dans le bulbe olfactif (Buonviso *et al.*, 2003 ; Neville & Haberly, 2003). La deuxième raison repose sur le fait que le rythme respiratoire n'est pas pris en compte dans les deux cas. En effet, dans l'étude chez le lapin anesthésié, l'odeur était appliquée dans la cavité nasale avec uniquement une simulation de l'inhalation durant un seul cycle respiratoire tandis qu'aucun rythme lent n'est présent au niveau de l'activité du PCL *in vitro*. Or, la respiration est un élément central de l'activité du bulbe olfactif puisque, comme mentionné à plusieurs reprises, elle module les différentes dynamiques du bulbe olfactif.

Plus récemment, des travaux réalisés chez le rat anesthésié ont examiné les relations entre l'activité de décharge des cellules M/P et les oscillations rapides du PCL en fonction du patron respiratoire de décharge (Cenier *et al.*, 2009 ; Courtiol *et al.*, 2011). Il apparaît alors que les potentiels d'action des cellules M/P présentant un patron S+ se produisent dans la même phase du cycle respiratoire que les oscillations gamma du PCL c'est-à-dire au moment de la transition entre l'inspiration et l'expiration (Cenier *et al.*, 2009). De manière similaire, les potentiels d'action appartenant à des activités S- et les oscillations beta ont lieu dans la même phase respiratoire. Plus particulièrement, les potentiels d'action des activités S+ émis pendant une

bouffée d'oscillation gamma ne se produisent pas de manière homogène. Au contraire, ils sont émis préférentiellement dans le creux de l'oscillation gamma du PCL. De la même façon, les potentiels d'action des activités S- émis pendant les oscillations beta se produisent préférentiellement dans le creux de l'oscillation beta. Ces résultats montrent donc l'existence de relations de phase spécifique entre certains potentiels d'action et les oscillations du PCL du bulbe olfactif. Concernant le rythme gamma, une étude couplant des données expérimentales et de la modélisation des cellules M/P au sein d'un réseau a permis de mettre en évidence que cette synchronisation des potentiels d'action sur une bouffée d'oscillation gamma résulterait d'un phénomène d'entraînement (David *et al.*, 2009).

2. Problématique

Dans le contexte d'un traitement de l'information par assemblées de neurones, les dynamiques lentes de l'activité neuronale semblent jouer un rôle clé. Ce rôle serait notamment porté par la mise en place de relations spécifiques entre une cellule et le réseau auquel elle appartient. De plus en plus de preuves expérimentales viennent étayer l'existence de telles relations. Par exemple, des relations de phases particulières ont été mises en évidence entre l'activité du réseau hippocampique, l'activité de décharge des cellules pyramidales et les fluctuations de leurs potentiels de membrane (Harvey *et al.*, 2009). Lors du déplacement de l'animal, l'activité du réseau hippocampique se synchronise à un rythme particulier permettant l'émergence d'une oscillation thêta. Dans le même temps, l'activité de certaines cellules pyramidales hippocampiques se caractérise par une évolution spécifique de leur potentiel de membrane et l'apparition d'une oscillation thêta dont le décours temporel évoluera pour permettre à l'activité de décharge de se produire lors d'une phase particulière de l'activité de réseau. La mise en place d'une relation de phase spécifique entre l'activité de décharge et l'activité de réseau passe également par une évolution caractéristique des relations temporelles existant entre les oscillations intracellulaires et celles du réseau.

Au sein du bulbe olfactif, le rythme lent lié à la respiration semble primordial dans le traitement de l'information olfactive (Laurent *et al.*, 2001 ; Buonviso *et al.*, 2006). Ce rythme, caractérisé par des oscillations lentes du PCL, une synchronisation de l'activité de décharge à la respiration et des oscillations lentes du potentiel de membrane (OLPM), est fortement influencé par la présence d'une odeur. Si les dynamiques lentes du réseau et de l'activité de décharge ainsi que leurs sensibilités aux stimulations odorantes sont plutôt bien déterminés, la présence spontanée des OLPM et les modifications induites par les odeurs sur celles-ci sont encore mal connues. De plus, ces trois niveaux d'expression de la dynamique lente du bulbe olfactif n'étant généralement pas abordés en même temps, les relations les unissant n'ont pas encore été établies malgré l'importance qu'elles semblent revêtir pour le traitement de l'information.

Ainsi, ce travail de thèse a pour objectif d'étudier les OLPM des cellules M/P et d'examiner les relations pouvant exister entre ces oscillations, l'activité de décharge des cellules M/P et la dynamique lente du réseau bulbaire. Il s'intéresse également à déterminer l'effet d'une stimulation odorante sur ces relations. De plus, nous avons cherché à savoir si les relations entre les OLPM et l'activité de décharge des cellules M/P pouvaient déterminer spécifiquement l'activité fine de décharge. En effet, l'activité de décharge d'un neurone peut être séparée en deux types : l'activité de décharge par potentiels d'action isolés parfois rencontrée sous le nom de « beating » d'une part et d'autre part l'activité de décharge « bursting » caractérisée par une dépolarisation du potentiel de membrane sur laquelle se greffe une salve caractéristique de

potentiels d'action. Or, ces deux types d'activité n'auraient pas la même importance fonctionnelle puisque l'activité de type « bursting » transmettrait l'information de manière plus efficace que l'activité de type « beating » et potentialiserait les interactions synaptiques (Lisman, 1997).

Afin de répondre à ces objectifs, une technique d'enregistrement simultanée de l'activité du PCL bulbaire et de l'activité intracellulaire de cellules M/P a été mise au point chez le rat anesthésié et libre de respirer. Nous avons également développé l'analyse spécifique des OLPM pour qu'elle soit la plus adaptée à nos questions.

Au cours d'une première étude, qui fait l'objet d'un article soumis pour publication, nous nous sommes attachés à déterminer la présence des OLPM spontanément et les modifications évoquées par une stimulation odorante. A la suite de quoi, nous avons étudié les relations liant ces oscillations intracellulaires et les différents patrons respiratoires de décharge exprimés par les cellules du bulbe olfactif. Nous avons également examiné la sensibilité de ces relations aux stimulations odorantes. L'étude de l'effet des changements d'excitabilité ainsi que l'utilisation d'un modèle de cellule mitrale nous ont permis de mettre en évidence l'existence de relations spécifiques entre les OLPM et les patrons respiratoires de décharge.

En complément de cette étude, nous avons réalisé quatre études supplémentaires, exposées dans une deuxième section. Même si elles ne font pas l'objet de publication pour le moment, à cause d'un échantillon insuffisant et de la nécessité de faire des analyses complémentaires, elles apportent des éléments de discussion intéressants.

Lors de la première étude complémentaire, nous nous sommes intéressés à l'évolution de l'amplitude des OLPM en fonction de la présence de l'odeur puis plus spécifiquement nous avons examiné les niveaux de potentiel entre lesquels le potentiel de membrane oscille.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes attachés à quantifier les relations temporelles entre les OLPM et la respiration ainsi que leur sensibilité aux stimulations odorantes et aux changements d'excitabilité.

Une troisième série d'analyse a ensuite porté sur les relations entre les OLPM et les oscillations du PCL bulbaire. Cette étude a été réalisée dans le but d'examiner la corrélation et la relation de phase entre ces deux signaux et de savoir si ces deux caractéristiques étaient modifiées par une stimulation odorante.

Dans la quatrième étude complémentaire, nous avons cherché à savoir si l'existence de relations spécifiques entre les OLPM et les patrons de décharge liés à la respiration sous-tendait une organisation temporelle spécifique de l'activité fine de décharge.

L'ensemble de ces études nous ont permis de mettre en évidence l'existence de relations spécifiques et complexes entre les OLPM des cellules M/P, leur activité de décharge et les oscillations du PCL. La mise en place de telles relations pourrait avoir des conséquences fonctionnelles importantes pour le traitement de l'information olfactive en permettant à certaines cellules de participer spécifiquement à une assemblée de neurones.

3. Résultats

3.1 Les oscillations lentes du potentiel de membrane des cellules M/P et leurs relations avec l'activité de décharge

La première étape de ce travail de thèse a été d'étudier de manière détaillée les oscillations lentes du potentiel de membrane (OLPM) des cellules M/P et d'examiner leurs relations avec l'activité de décharge. Ces travaux font l'objet d'un article soumis pour publication. Ici, nous présenterons, dans une première partie, un résumé des principaux résultats de l'article. Le manuscrit soumis se trouvera dans une deuxième section.

3.1.1. Résumé de l'article

L'objectif de cette étude était de savoir si des fluctuations spécifiques du potentiel de membrane des cellules M/P sous-tendent l'expression des différents patrons respiratoires de décharge. Pour cela, nous avons utilisé un modèle de rat anesthésié et libre de respirer chez lequel l'activité intracellulaire des cellules M/P était enregistrée.

Tout d'abord, nous avons examiné les OLPM et leur sensibilité aux stimulations odorantes. Nous avons défini, pour la première fois, plusieurs types d'OLPM :

- Un type positif (**OLPM+**), dont le potentiel de membrane passe plus de temps aux valeurs de potentiel les plus négatives (en rouge sur la **figure 3.1**);
- Un type négatif (**OLPM-**) dont le potentiel de membrane se situe majoritairement aux valeurs de potentiel les plus positives (en vert sur la **figure 3.1**);
- Un type complexe (**OLPMc**) correspondant à une forme intermédiaire entre les OLPM+ et les OLPM-.

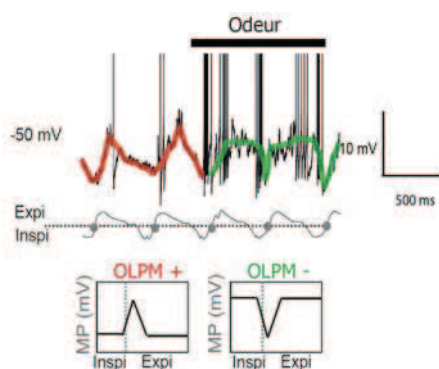


Figure 3.1 : Exemple d'enregistrement intracellulaire illustrant les deux principaux types d'oscillations lentes du potentiel de membrane (OLPM).

Le signal intracellulaire est accompagné par le signal respiratoire dont les transitions entre l'inspiration et l'expiration sont marquées par des cercles gris. Dans le bas de la figure, une représentation schématique du signal intracellulaire moyenné sur un cycle respiratoire normalisé peut être observée pour l'OLPM+ présente pendant la période contrôle et pour l'OLPM- présente pendant la stimulation odorante. Celle-ci est représentée par un trait noir au-dessus du signal intracellulaire.

Au repos et sans odeur, 30% des cellules M/P possèdent une OLPM ($n = 6/20$; figure 2 de l'article). Celles-ci peuvent être de type positif (15%) ou négatif (15%). La présence d'une odeur induit une augmentation significative de la proportion de cellules présentant une OLPM (60% des cellules M/P, $n = 12/20$). Cette augmentation est principalement portée par une augmentation de la proportion d'OLPM- (45% au lieu des 15% de la période odeur).

Pour déterminer les relations entre les différentes formes d'OLPM et l'activité de décharge des cellules M/P, il nous a d'abord fallu déterminer les patrons respiratoires de décharge. Pour cela, une classification en 5 patrons de décharge respiratoires reposant sur celle définie par Chaput *et al.* (1992) a été utilisée. La description détaillée des différents patrons respiratoires de décharge et leur représentation schématique peuvent être retrouvées dans la section 1.4.1.3.1 de l'introduction (**Fig. 1.18**). Brièvement, nous distinguons :

- le patron non-synchronisé à la respiration (**noS**) caractérisé par une distribution uniforme des potentiels d'action au cours du cycle respiratoire ;
- le patron synchronisé excitateur (**S+**) avec une augmentation de la décharge autour de la transition entre l'inspiration et l'expiration ;
- le patron synchronisé inhibiteur (**S-**) qui présente une diminution de la décharge à un moment particulier du cycle respiratoire ;
- le patron synchronisé complexe (**Sc**) avec de multiples augmentations et / ou diminutions de la décharge au cours du cycle respiratoire et
- le patron **nul** pour les enregistrements avec peu ou pas de potentiels d'action.

Les patrons de décharge synchronisés à la respiration (S+, S- et Sc) sont exprimés par 35% ($n = 7/20$) des cellules en période d'activité spontanée (figure 2 de l'article). La proportion de cellules présentant une synchronisation de leur décharge à la respiration atteint 60 % lors des stimulations odorantes ($n = 12/20$).

Lorsque les associations entre les différentes formes d'OLPM et les différents patrons respiratoires de décharge sont observées, deux relations fortes peuvent être distinguées : 1/ **les cellules dont l'activité de décharge n'est pas synchronisée à la respiration, ne présentent jamais d'OLPM** et 2/ **les cellules avec un patron de décharge S- possèdent toujours une oscillation de type négatif** (figure 3 de l'article). Des relations plus complexes apparaissent pour les cellules présentant les patrons de décharge S+ et Sc. En effet, ces patrons peuvent être associés à des OLPM ou ne pas présenter d'oscillations de leur potentiel de membrane. Ceci nous a conduits à émettre l'hypothèse que les cellules, dont l'activité de décharge est synchronisée à la respiration sans OLPM visible, étaient à un niveau d'excitabilité tel que l'oscillation était masquée. Cette oscillation pourrait être révélée par des modifications du niveau d'excitabilité de la cellule.

Pour étayer cette proposition, nous avons examiné les effets des changements d'excitabilité intracellulaire sur les OLPM et l'activité de décharge (figure 4 de l'article). Nous avons observé que l'injection de courant continu dans la cellule M/P modifie l'expression d'OLPM. Une hyperpolarisation du potentiel de membrane par injection de courant négatif entraîne une augmentation significative de la proportion de cellule présentant une OLPM+. A l'opposé, la synchronisation de l'activité de décharge à la respiration n'est quasiment pas affectée par les changements d'excitabilité intracellulaire.

Plus spécifiquement, nous avons montré que les changements d'excitabilité intracellulaire, réalisés dans les cellules M/P sans OLPM et avec un patron de décharge synchronisé à la respiration, permettaient de révéler une oscillation lente de leurs potentiels de membrane (figure 5A de l'article). La possibilité, qu'une cellule possédant un patron synchronisé à la respiration puisse avoir une oscillation masquée, a également été étayée en utilisant un modèle de cellule mitrale. Cette modélisation, réalisée par Nicolas Fourcaud-Trocmé, nous a permis de simuler l'activité d'une cellule mitrale recevant des entrées rythmiques ou statiques à différents états d'excitabilité intracellulaire (figure 5B de l'article). L'ensemble de ces résultats nous a conduits à distinguer les cellules possédant une **oscillation silencieuse**, masquée au potentiel de repos.

Lorsque les relations entre les OLPM et les patrons de décharge respiratoires sont à nouveau examinées en distinguant les cellules avec une OLPM silencieuse, il apparaît que **toutes les cellules avec un patron de décharge synchronisé à la respiration possèdent une OLPM** (figure 6 de l'article). Les patrons S- sont exclusivement associés aux oscillations de type négatif et les patrons S+ sont combinés à des OLPM silencieuses, positives ou complexes.

En considérant l'ensemble des résultats de cette première étude, nous avons suggéré que **l'état d'excitabilité de la cellule**, dépendant de l'état d'excitabilité de son réseau, **et la force de l'entrée bulbaire**, modulée par la présence d'une odeur, **sous-tendent l'expression d'une OLPM spécifique. Cette OLPM, à son tour, contraindrait l'expression d'un patron de décharge respiratoire particulier.**

3.1.2. Article

The relationship between respiration-related membrane potential slow oscillations and discharge patterns in mitral/tufted cells: What are the rules?

Virginie Briffaud, Nicolas Fourcaud-Trocmé, Belkacem Messaoudi, Nathalie Buonviso and Corine Amat

Abstract

Background: The slow respiration-related rhythm strongly shapes the activity of the olfactory bulb. This rhythm appears as a slow oscillation that is detectable in the membrane potential, the respiration-related spike discharge of the mitral/tufted cells and the bulbar local field potential. Here, we investigated the rules that govern the manifestation of membrane potential slow oscillations (MPSOs) and respiration-related discharge activities under various afferent input conditions and in various cellular excitability states.

Methodology and principal findings: We recorded the intracellular membrane potential signals in the mitral/tufted cells of freely breathing anesthetized rats. We first demonstrated the existence of multiple MPSOs that were influenced by odor stimulation as were discharge activity patterns. Complementary studies using changes to the intracellular excitability state and a computational model of the mitral cell showed that slow oscillations in the mitral/tufted cell membrane potential were also modulated by the intracellular excitability state, whereas the respiration-related spike activity mostly reflected the afferent input. Upon combination of our data regarding MPSOs and spike patterns, it emerged that cells exhibiting an unsynchronized discharge pattern never exhibited an MPSO, whereas cells with a respiration-synchronized discharge pattern always exhibited an MPSO. In addition, we showed that a type of mitral/tufted cell spike pattern could not be associated with any type of MPSO; the MPSO and respiration-related discharge patterns maintained specific relationships even when the discharge pattern was not directly sensitive to intracellular excitability.

Conclusion: We propose that both the intracellular excitability state and the input strength underlie specific MPSOs, which in turn constrain the types of spike patterns exhibited.

Keywords: olfactory bulb, membrane potential oscillation, spike discharge, mitral/tufted cell, slow rhythm

Introduction

Brain functions involve several cortical rhythms. Among these rhythms, slow oscillations (<10 Hz) and, more specifically, theta oscillations (4-12 Hz) appear to possess specific functional roles in the neocortex and the hippocampus. Notably, the network theta rhythm has been shown to allow phase references for discharge activity and/or other cortical oscillations [1, 2]. In such a scheme, these rhythms are believed to underlie a coding strategy for multiple functions, such as sensory processing and memory [3, 4].

The olfactory system is naturally affected by the slow rhythm of respiratory activity, which rhythmically carries odorant molecules to receptor cells. This slow rhythm has been extensively described at the level of both the network and unitary activities in the olfactory bulb, the first relay for olfactory information. In the network activity, this rhythm appears as a slow oscillation in the local field potential [5-7], which patterns the occurrence of fast odor-evoked local field potential oscillations [8]. At the level of the mitral/tufted cells (M/T cells), the principal cells of the olfactory bulb, the slow respiration-related rhythm manifests both in spike discharges [9-14] and in membrane potential fluctuations [15, 16]. While the functional role of this slow rhythm has never been clearly defined, it is likely to be a key feature in odor processing, as suggested by its involvement in specific operations. First, robust information about odorant molecules has been shown to be transmitted when the spike discharge of a population of M/T cells is integrated over

the inhalation phase of the respiratory cycle or over the entire respiratory cycle [17-19]. The respiratory cycle thus constitutes the unit of olfactory processing [20-22]. Second, membrane potential slow oscillations (MPSOs) have been shown to improve action potential precision [22]. Finally, local field potential respiration-related slow oscillations are believed to facilitate information transfer between the olfactory bulb and olfactory cortex [23, 24].

To date, several patterns of discharge synchronizations related to respiration have been described. Nevertheless, the mechanisms underlying these synchronizations remain unknown. Here, we sought to determine if 1) the same rules could govern the manifestation of respiratory patterning of both the MPSOs and the discharge activity and 2) MPSOs and discharge activity could be similarly affected by the afferent input and by the excitability state of the network in which the cell is embedded. For this purpose, we recorded intracellular M/T cell activity in freely breathing anesthetized rats, and we complemented this experimental data with a computational model of the mitral cell. We observed that 1) different types of MPSO, which can be positive, negative or complex, exist and are influenced by sensory afferents, 2) a type of M/T cell spike pattern cannot be associated with any type of MPSO, 3) a single cell can exhibit different MPSO types according to its excitability state, and 4) the intracellular excitability state and afferent input strength both affect the type of MPSO, which in turn constrains the types of spike patterns exhibited.

Results

Consistent with the few published studies on the mammalian olfactory bulb conducted *in vivo* [15, 25], our intracellular recordings clearly showed that the membrane potential of some M/T cells could develop an oscillation that was synchronized with the respiratory cycle on which discharge activity is superimposed (**Figure 1A**). A simple visual inspection of the intracellular signals revealed that the membrane potential slow oscillation (MPSOs) was not a unique signal but could take different forms (**Figure 1A, B**). Because various discharge activity patterns have been previously described (excitatory pattern S+, inhibitory pattern S-, complex pattern Sc; [24]), we expected that there would be a clear rule governing the association between the MPSO type and the discharge pattern. We therefore sought to determine which rules could govern the expression of the MPSO and the respiration-related discharge activity.

Our first aims were to accurately characterize MPSOs by classifying them according to precise parameters and to analyze how they were influenced by sensory input. Using autocorrelation and fast Fourier transformation, we observed that 30% of M/T cells ($n = 6/20$) exhibited an MPSO under control condition (at rest and without odor stimulation). The frequency range of these oscillations was 1.73 ± 0.13 Hz ($n = 6$), which was perfectly correlated with the respiratory frequency (Pearson's correlation coefficient: 0.99). During the control period, two types of MPSO were present: 1) positive MPSOs (MPSO+) were characterized by an up-point proportion of less than 50% (see materials and methods section for details) and were exhibited by 15% of the cells ($n = 3/20$; **Figure 2A Control**; for a typical example, see **Figure 1A3, B3 Control**) and 2) negative

MPSOs (MPSO-) were characterized by an up-point proportion greater than 50% and were manifested by 15% of the cells ($n = 3/20$; **Figure 2A Control**; for an example of an intracellular recording, see **Figure 1A2, B2**). The remaining 70% of the cells during the control period did not exhibit an observable MPSO and corresponded to the NoMPSO category (for an example, see **Figure 1A1, B1 Control**). These proportions were greatly influenced by odorant stimulation. Indeed, we observed that the proportion of cells exhibiting an MPSO increased from 30% during the control period to 60% during odor stimulation ($n = 12/20$; $p < 0.05$ using the McNemar test) without a change in frequency (1.96 ± 0.11 Hz, $n = 12$; Mann-Whitney test: $p > 0.05$). This substantial difference was due largely to an increase in the proportion of the MPSO- type (45% during the odor period vs. 15% during the control period; $n = 9/20$; **Figure 2A**). The MPSO+ type represented only 10% of the population ($n=2/20$). A third type of MPSO, MPSOc, was observed in one cell. Interestingly, we did not observe any simple, strict rules for the change in MPSO type during the change from the control to the odor condition. As synthesized in **Figure 2A**, 57% of cells ($n = 8/14$) exhibiting NoMPSOs under the control condition continued to exhibit NoMPSOs when odor was applied, while the remaining 43% ($n = 6/14$) adopted any of the three MPSO types (**Figure 2A**; example: **Figure 1A1, B1**). Cells that exhibited an MPSO- during the control period maintained this type of MPSO during odor application (for an example, see **Figure 1A2, B2**). Conversely, cells exhibiting an MPSO+ during the control period adopted an MPSO- pattern during odor stimulation (for an example, see **Figure 1A3, B3**). This first analysis revealed that M/T cells can exhibit different types of MPSO or NoMPSO and that the influence of sensory afferent on the expression of MPSO is complex.

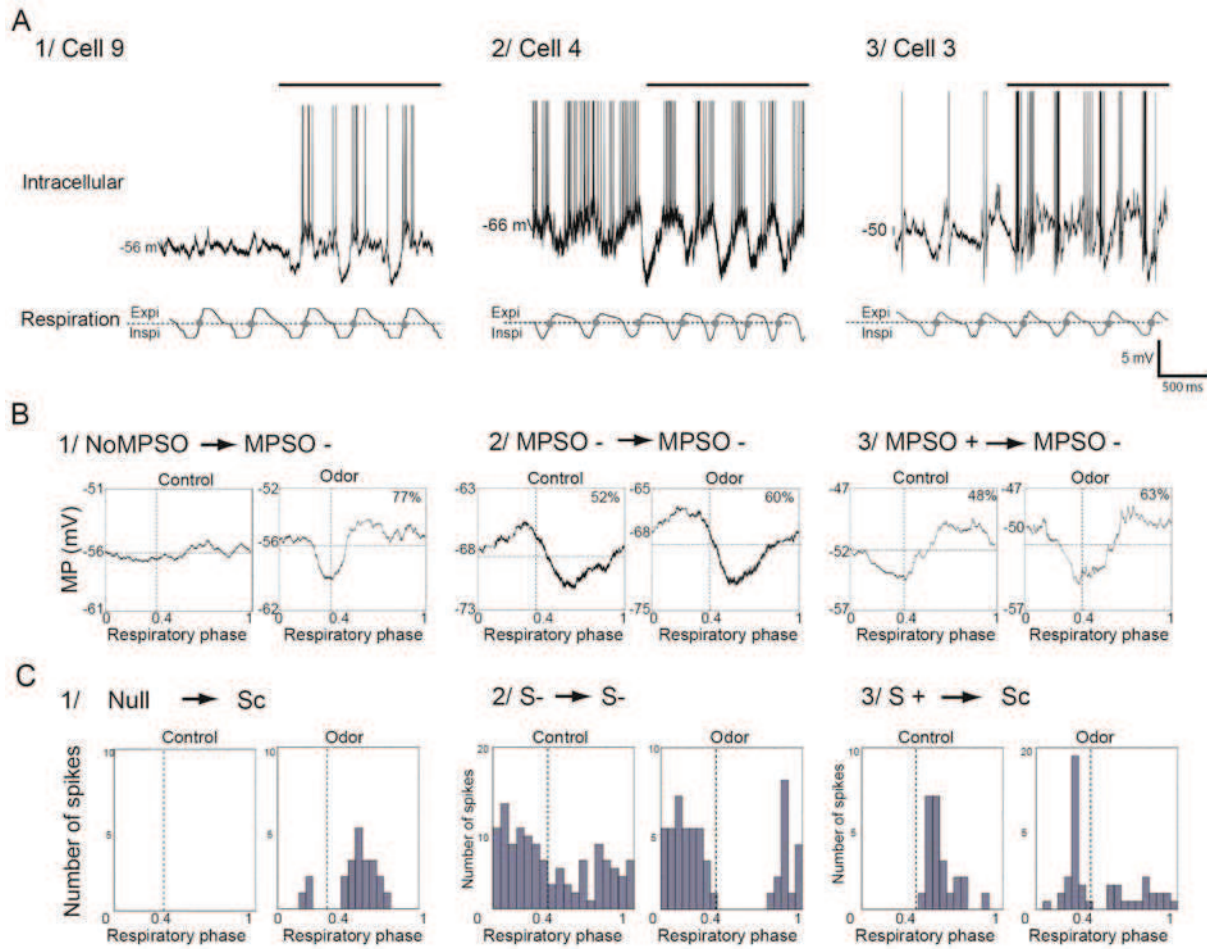


Figure 1: Examples of intracellular activities: membrane potential slow oscillations and respiration-related discharge patterns

A) Typical recordings of intracellular signals. Cell numbers were extracted from the matrix presented in panel A of Figure 2. Top: intracellular recording; bottom: respiratory signal with expiration (Expi) and inspiration (Inspi) separated by a dotted line. Gray circles mark the inspiration/expiration transitions. The horizontal black line at the top of the intracellular signal indicates odor stimulation. The action potentials were truncated to improve the visibility of the membrane potential.

B) Respiration-triggered membrane potential averages before (Control) and during odor stimulation (Odor) of the cells presented in A. 1) A cell without intracellular oscillations prior to odor stimulation acquired a negative membrane potential slow oscillation (MPSO-) during odor stimulation. 2) A cell with a MPSO- before and during odor stimulation. 3) A cell with a positive membrane potential slow oscillation (MPSO+) becoming MPSO- during odor stimulation. A vertical dotted line indicates the transition between inspiration and expiration, and a horizontal dotted line represents the mean membrane potential. The up-point proportion is indicated for each averaged MPSO in the right corner.

C) Respiration-triggered histograms of the action potentials from the cells presented in panel A before (Control) and during odor stimulation (Odor). 1) A cell without an action potential (Null pattern) before odor stimulation exhibited a complex synchronized pattern (Sc) during odor stimulation; 2) a cell that exhibited a suppressive-simple-synchronized pattern (S-) before and during odor stimulation; 3) a cell with an excitatory-simple-synchronized pattern (S+) transitioned to a Sc pattern during odor stimulation. The vertical dotted line indicates the inspiration/expiration transition.

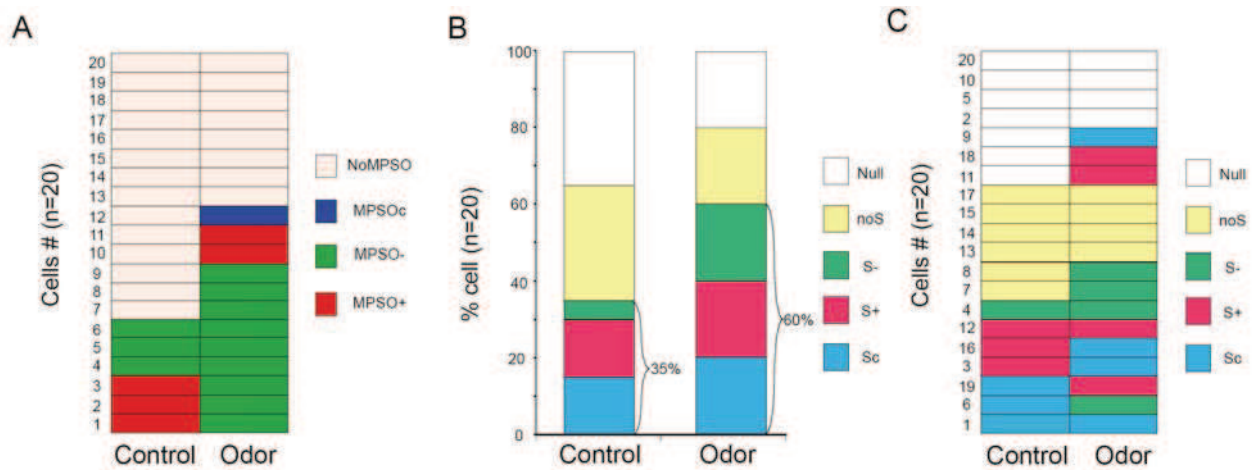


Figure 2: Effects of odor stimulation on membrane potential slow oscillations and respiration-related discharge patterns

A) Synthetic view of the MPSO types in the entire population of recorded cells before (Control) and during odor stimulation (Odor) ($n=20$). Each line corresponds to the same cell before and during odor stimulation. The different types of MPSO are indicated by colors as follows: the positive membrane potential slow oscillation (MPSO+) is in red, the negative membrane potential slow oscillation (MPSO-) is in green, the complex membrane potential slow oscillation (MPSOc) is in blue, and no oscillating signal (NoMPSO) is in beige.

B) The percentages of respiration-related discharge patterns before (Control) and during odor stimulation (Odor) ($n=20$). The types of respiration-related patterns are indicated by colors as follows: the complex synchronized pattern (Sc) is in blue, the excitatory-simple-synchronized pattern (S+) is in red, the suppressive-simple-synchronized pattern (S-) is in green, the non-synchronized pattern (NoS) is in yellow, and null activity (Null) is in white.

C) Synthetic view of a respiration-related discharge pattern in the whole population of recorded cells before (Control) and during odor stimulation (Odor) ($n=20$). Each line corresponds to the discharge activity pattern of an individual cell before and during the odor stimulation. The depicted cells are the same as those presented in panel A.

Our second aim was to determine whether these different types of MPSO were associated with particular spiking patterns. In particular, we asked if MPSO expression strictly conformed to the expression of respiration-related spiking patterns described by Cenier et al. [24]. Indeed, the excitatory S+ pattern has been characterized by an increase in the spike rate at the end of inspiration; one might expect this discharge pattern to be associated with an MPSO+, with the peak occurring at the same time. Similarly, we expected a strict association between the

MPSO- and S- patterns, the MPSOc and Sc patterns and the NoMPSO and NoS pattern.

To test this possibility, we first needed to characterize the various respiration-related spiking patterns obtained by intracellular recording. Examples of respiration-synchronized discharge patterns are presented in **Figure 1A, C**. A typical S+ pattern, in which the action potentials mainly occur within the small time window just after the inspiration / expiration transition, was observed in the cell presented in **Figure 1A3, C3** (control period). The S- pattern is displayed in **Figure 1A2, C2** (control and odor periods)

and is characterized by a decrease in the discharge activity just after the inspiration / expiration transition. The cells presented in **Figure 1A1, C1 and 1A3, C3** exhibited an Sc pattern (odor stimulation), which is defined by multiple peaks / troughs along the respiratory cycle. **Figure 2B** indicates that during odor stimulation, the proportion of cells with these respiration-synchronized discharge patterns increased from 35% ($n = 7/20$ during the control period) to 60% ($n = 12/20$). In particular, we observed that all cells with respiratory-synchronized discharge patterns during the control period maintained a respiratory discharge synchronization during the odor period even if the odor changed the type of pattern in some cells (**Figure 2C**, and **Figure 1A2, 3 and C2, 3** present examples of the recordings). The proportions of control and odor-evoked respiration-related discharge

patterns during the control and odor periods were similar to the results obtained by Chaput et al. [13] from a pool of 1408 cells using extracellular recording, demonstrating that our intracellular sampling was representative.

Once the spiking patterns were classified, the next step consisted of evaluating the adequacy between the different MPSO types and the different spiking patterns. We thus constructed matrices crossing the respiration-related discharge pattern type and the MPSO type for each of the 20 cells stimulated with an odor (**Figure 3**). Two strong relationships were observed during both the control and odor stimulation periods: 1) a NoS pattern was only observed in combination with a NoMPSO and 2) an S- pattern was always associated with an MPSO-.

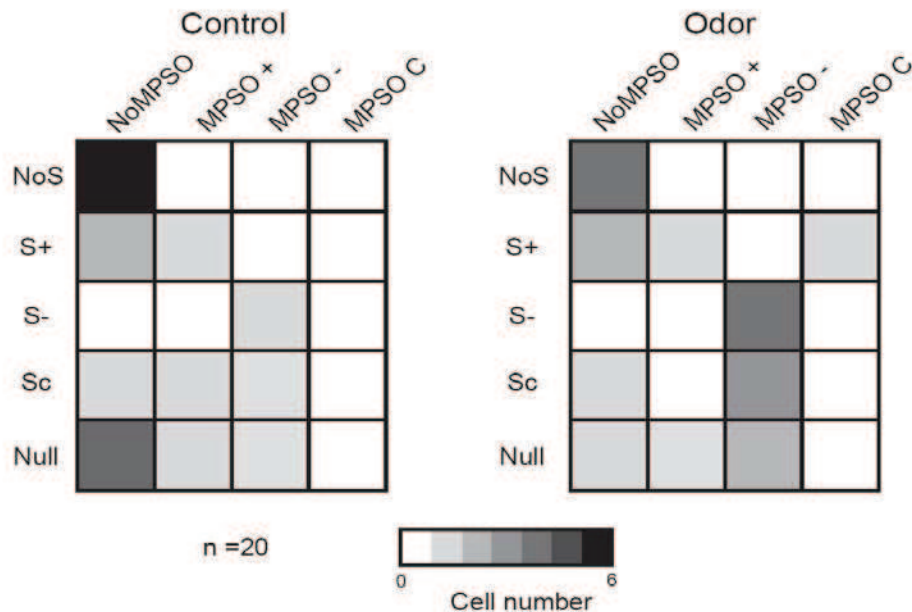


Figure 3: Primary study of the relationship between membrane potential slow oscillations and respiration-related discharge patterns

The probability of an association between different membrane potential slow oscillation types and various respiration-related discharge pattern types ($n=20$) is presented for the control and odor periods. The probabilities are indicated in grayscale, in which white represents a null probability and black indicates the maximal probability. The 20 cells used to create these matrices are the same as those presented in Figure 2. NoMPSO: no oscillation; MPSO+: positive membrane potential slow oscillation; MPSO-: negative membrane potential slow oscillation; MPSOc: complex membrane potential slow oscillation; NoS: non-synchronized pattern, S+: excitatory-simple-synchronized pattern; S-: suppressive-simple-synchronized pattern; Sc: complex synchronized pattern; Null: null activity.

Surprisingly, the other discharge patterns (Sc, S+ and Null) did not exhibit any exclusive association with a particular MPSO type. Specifically, some respiration-synchronized patterns were associated with NoMPSO, an S+ pattern could be associated with a NoMPSO, MPSO+ or MPSOc type but was never associated with an MPSO- type, and cells with an Sc pattern could exhibit a NoMPSO, MPSO+ or MPSO- type.

We were puzzled by the observation that some cells could exhibit a respiration-synchronized discharge pattern while showing no observable MPSO. If this were true, how was the discharge synchronization to respiration possible? We hypothesized that an MPSO existed in all M/T cells that presented a respiration-synchronized discharge pattern but could be masked at particular excitability states. This hypothesis would apply when the membrane potential is such that the MPSO amplitude is null or extremely low because of the driving force and conductance levels. Under these conditions, the MPSO could be masked even if rhythmic input still allowed respiration synchronization of the discharge activity. Modifications to the membrane potential would then reveal these “masked” MPSO.

Thus, the third aim of this study consisted of exploring this hypothesis by examining the sensitivity of MPSOs and respiration-related discharge patterns to intracellular excitability changes. First, the probability of the occurrence of the different MPSO types was examined under direct intracellular current injection as described in the materials and methods. The sensitivity of the MPSO types to the intracellular excitability level is illustrated in **Figure 4A**, where the cell exhibited an MPSO+ in the resting membrane potential

state and the hyperpolarized state but an MPSO- in the depolarized state. We calculated the percentages of each MPSO type in the 4 hyperpolarized states (H1, H2, H3 and H4) and the 2 depolarized states (D1 and D2) (**Figure 4B**).

Hyperpolarized states: Overall, the proportion of cells exhibiting an MPSO was significantly increased when the membrane potential was hyperpolarized. In H3, the oscillating cell population represented 50% of cells ($n = 10/20$), whereas it represented only 21.9% of cells ($n = 7/32$) at resting membrane potential ($p < 0.05$ with Fisher's test). In addition, membrane potential hyperpolarization led to an increase in the proportion of cells exhibiting MPSO+ (**Figure 4B**). The change in the proportions of cells exhibiting MPSO+, MPSO-, MPSOc and NoMPSO was significantly different between the resting and the 3 most hyperpolarized states (between the resting membrane potential and H2 state: $\chi^2_{(1, 50)} = 8.97$, $p < 0.05$; between the resting membrane potential and H3 state: $\chi^2_{(1, 50)} = 7.90$, $p < 0.05$; between the resting membrane potential and H4 state: $\chi^2_{(1, 41)} = 13.21$, $p < 0.01$).

Depolarized states: In contrast to hyperpolarization, membrane potential depolarization did not have a significant effect on the frequency of MPSO occurrence: the proportion of oscillating cells was 27.3% ($n = 3/11$) in the depolarized state D2 and 21.9% ($n = 7/32$) at the resting membrane potential ($p > 0.05$ with Fisher's test; **Figure 4B**). However, examination of the evolution of the MPSO at the single cell level showed that membrane potential depolarization could also trigger an MSPO (**Figure 5A**, hatching). In the depolarized state, the MPSO+ type disappeared in favor of the MPSO- type (**Figure 4B**).

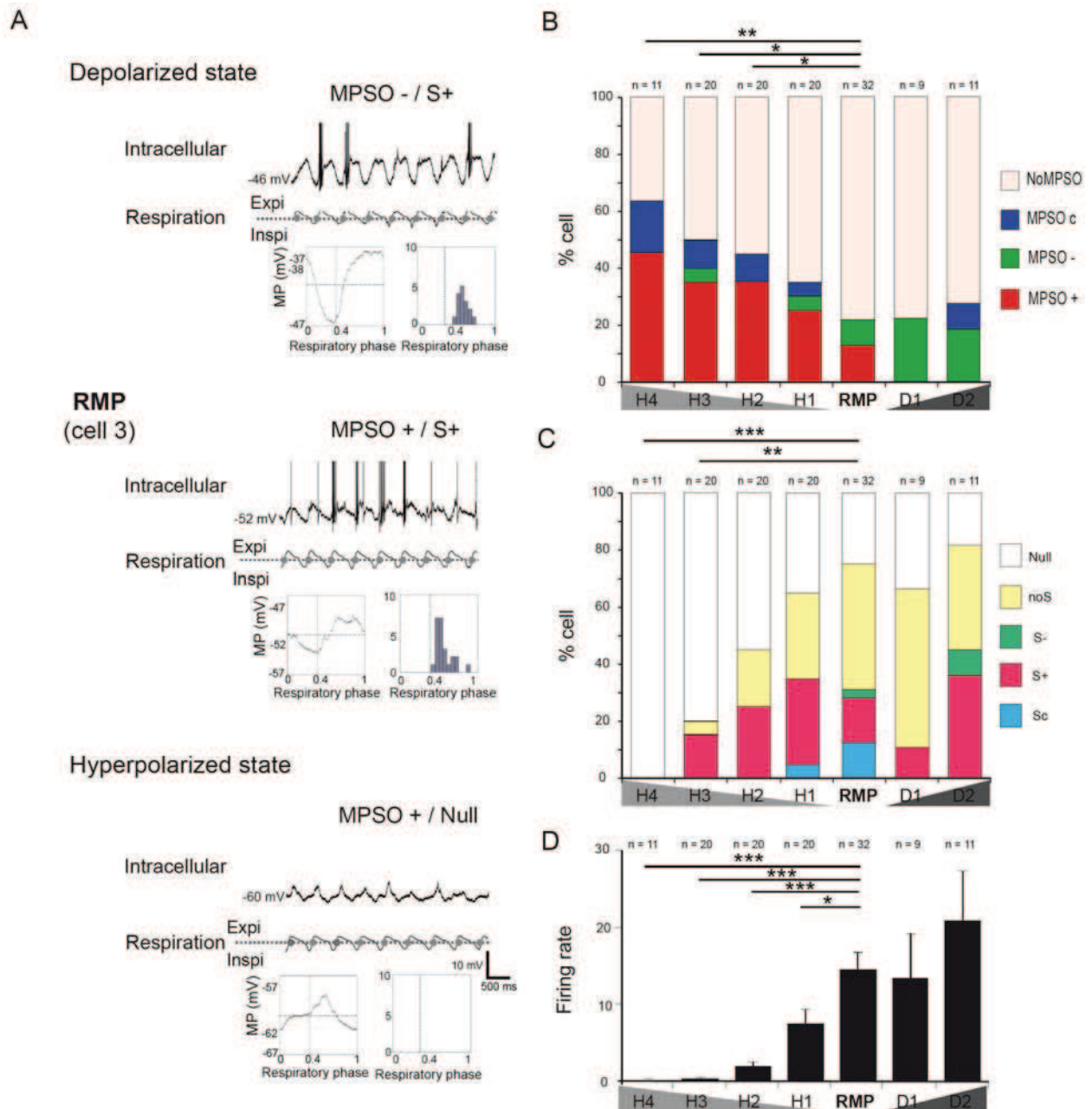


Figure 4: Influence of intracellular excitability state on membrane potential slow oscillations and discharge activities

A) An example of recordings at different excitability levels. Cell # 3 exhibited an MPSO during all excitability states. In the resting membrane potential (RMP) and H2 states, the intracellular oscillations were positive, but at D2 they were negative. This cell exhibited an excitatory-simple synchronized pattern (S+) in the RMP and D2 states. The discharge activity became null in H2. Top: an intracellular recording with truncated action potentials; bottom: a respiration signal with expiration (Expi) and inspiration (Inspi) separated by a dotted line and gray circles as signal transitions between inspiration and expiration. Insets: respiration-triggered membrane potential average (left) and a respiration-triggered spike histogram (right), in which the vertical dotted line indicates the inspiration/expiration transition. In the respiration-triggered membrane potential average, the horizontal dotted line corresponds to the mean membrane potential.

B) Percentages of membrane potential slow oscillation types at different excitability levels. As defined in the materials and methods section, H1, H2, H3 and H4 are hyperpolarized states. RMP: resting membrane potential; D1 and D2: the two depolarized states. The number of examined cells at

each excitability level is indicated at the top of each bar. The membrane potential slow oscillation types are indicated by color as follows: red indicates a positive membrane potential slow oscillation (MPSO+), green indicates a negative membrane potential slow oscillation (MPSO-), blue indicates a complex membrane potential slow oscillation (MPSOc) and beige indicates a cell without oscillations (NoMPSO). The χ^2 test was used for statistical analysis; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$.

C) Percentages of respiration-related discharge pattern types at different excitability levels. The number of examined cells in each excitability state is indicated at the top of the column. The activity patterns are color-coded: blue indicates the complex synchronized pattern (Sc), red indicates the excitatory-simple-synchronized pattern (S+), green indicates the suppressive-simple-synchronized pattern (S-), yellow indicates the non-synchronized pattern (NoS) and white indicates null activity (Null). According to the χ^2 statistical test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$. Between RMP and H3: $\chi^2_{(1, 50)} = 17.60$, $p < 0.01$; between RMP and H4: $\chi^2_{(1, 42)} = 18.67$; $p < 0.001$.

D) Mean firing rates at different excitability levels. Each column corresponds to the mean firing rate \pm SEM for an intracellular excitability state. The number of cells examined at each excitability level is indicated at the top of each bar. The Mann-Whitney test was used for statistical analysis: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$.

In addition, we analyzed the effects of intracellular excitability changes on discharge activity. Overall, we observed that the proportions of cells exhibiting S+, S- and Sc were only slightly influenced by excitability changes (**Figure 4C**). We found that the S+ pattern was a particularly stable pattern because it persisted regardless of the excitability state, except in H4 (**Figure 4C**). An example of the persistence of the S+ pattern is illustrated in **Figure 4A**, where the cell presented an S+ pattern both at rest and in the depolarized states. The Sc and S- patterns were rarely present regardless of the excitability level. Indeed, the Sc pattern was observed only in H1 and at resting membrane potential in a small proportion of cells (H1: 4.54%, resting membrane potential: 12.5%; **Figure 4C**), and the S- pattern appeared only twice (once at resting membrane potential and once in D2) (**Figure 4C**). As expected, the more hyperpolarized the cell was, the more frequent the occurrence of the Null pattern (**Figure 4C**).

These results suggest that intracellular excitability changes profoundly affected MPSOs, whereas the respiration-synchronized discharge patterns were only slightly sensitive to the intracellular excitability level. It is noteworthy that this

weak effect was not due to a general lack of effect on action potential generation because, as expected, the firing rate of the cells varied with the intracellular excitability state (**Figure 4D**). Indeed, the membrane potential depolarization, caused by positive current injection, led to an increase in the mean firing rate, whereas progressive hyperpolarization caused by injection with increasing amounts of negative current induced a significant and progressive decrease in the discharge activity (Mann-Whitney test: $p < 0.05$ between resting membrane potential and H1, $p < 0.001$ between resting membrane potential and the three most hyperpolarized states).

We then combined these new data (i.e., the results obtained from the changes in excitability level) in a matrix where the MPSO type and spike pattern were represented for each of the 18 cells recorded under the 4 excitability states (**Figure 5A**). This representation reveals that all cells manifesting a non-congruent association (a respiration-synchronized discharge pattern associated with a NoMPSO) at resting membrane potential developed an MPSO when the intracellular state was modified (**Figure 5A**, cells 12, 19,

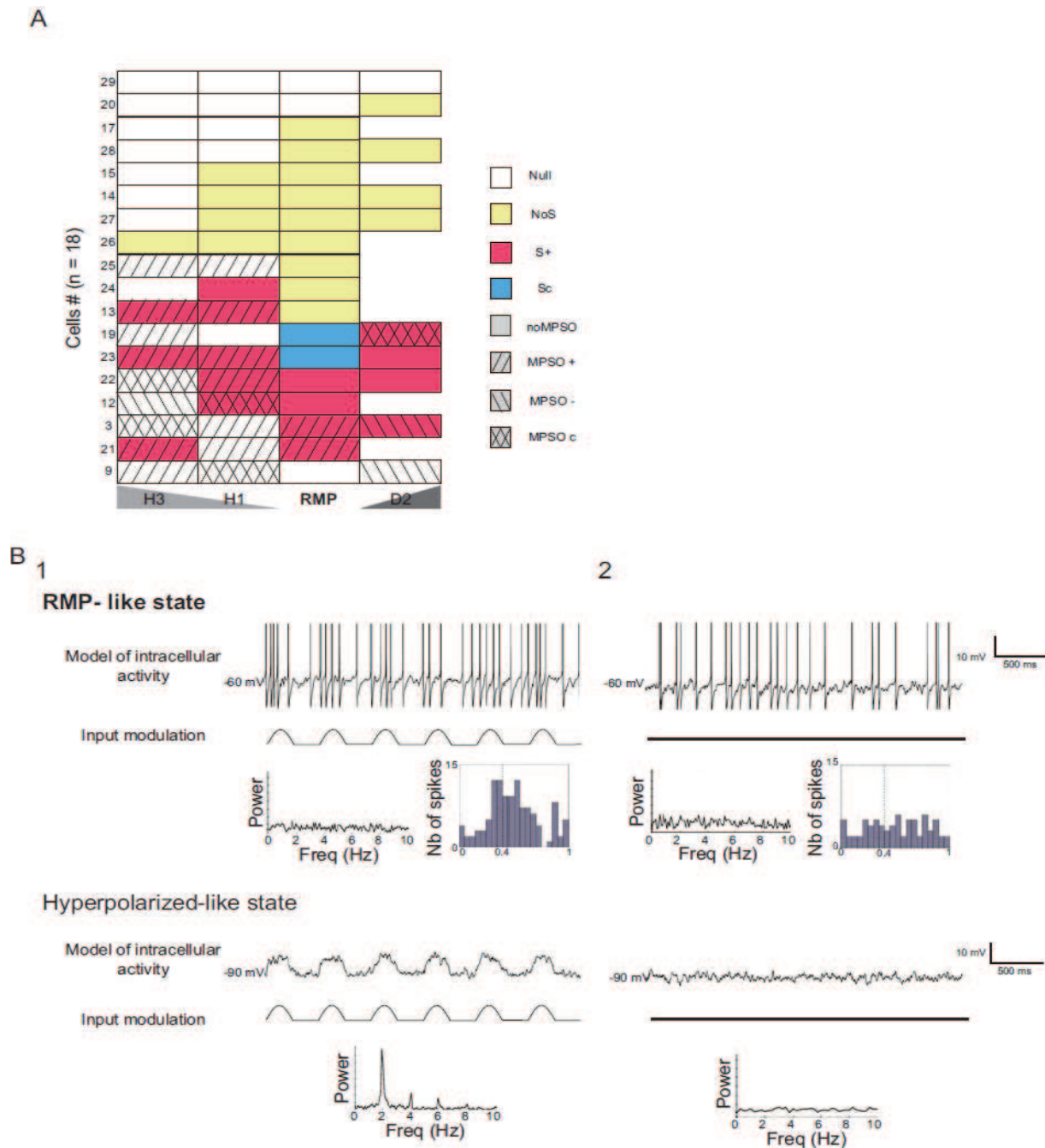


Figure 5: Unmasking of silent membrane potential slow oscillations

A) A synthetic view of both membrane potential slow oscillations and respiration-related discharge patterns from 18 cells in the H3, H2, RMP and D2 excitability states. Each line corresponds to a single cell. Of these 18 cells, 9 were also utilized in the study of odor stimulation and are indicated with the same numbers (between 1 and 20) as those used in Figure 2. The remaining 9 cells are numbered from 21 to 29. Of the 18 cells, 8 were not depolarized. The activity patterns are indicated by color as follows: blue indicates the complex synchronized pattern (Sc), red indicates the excitatory-simple-synchronized pattern (S+), yellow indicates the non-synchronized pattern (NoS) and white represents null activity (Null). Different types of hatch marks represent the presence and types of membrane potential; the right hatch marks indicate positive membrane potential slow oscillations (MPSO+), the left hatch marks indicate negative membrane potential slow oscillations (MPSO-), the cross hatches indicate complex membrane potential slow oscillations (MPSOc) and a lack of hatches indicates cells without oscillation (NoMPSO).

B) Computational simulation of intracellular activity with rhythmic (1) or stationary (2) inputs at resting membrane potential (RMP-like state) and during negative current injection (hyperpolarized-like state). Rhythmic input at 2 Hz simulated modulation of intracellular activity by respiration. 1) In an RMP-like state, rhythmic input simulation ($a = 0.7$) induced a synchronization of the discharge activity without a membrane potential slow oscillation. Simulation of membrane potential hyperpolarization induced an intracellular slow oscillation. 2) Simulation with stationary input ($a = 0$) did not induce the emergence of a rhythm: the discharge activity and membrane potential are flat. Top: intracellular activity simulation; bottom: simulated input. Inset: fast Fourier transform plot of MP and the resulting respiratory cycle-triggered spike histogram.

22 and 23). Conversely, most of the cells exhibiting a NoS pattern did not exhibit an MPSO when they were hyperpolarized or depolarized (**Figure 5A**, cells 14, 15, 17, 24, 26, 27, and 28). Indeed, these cells maintained a NoS/NoMPSO combination or acquired a Null pattern associated with a NoMPSO (**Figure 5A**). These results show that 1) the MPSO was actually masked at the resting membrane potential in all cases where we observed the unexpected combination of a synchronized spiking pattern with a NoMPSO and 2) an MPSO is never actually expressed in combination with a NoS pattern.

We then wanted to strengthen our conclusion using a modeling approach. We used a modeled mitral cell (see materials and methods for the details of the model) in both a resting membrane potential-like state and a hyperpolarized-like state (**Figure 5**). We compared the resulting activity of the modeled cell (MPSO and spiking activity) when the cell was submitted to a rhythmic input (**Figure 5B1**) vs. when it was submitted to a stationary input (**Figure 5B2**). We observed that, in the resting membrane potential-like state, a 2-Hz rhythmic input resulted in synchronized discharge activity, even in the absence of an MPSO (**Figure 5B1**, fast Fourier transform representation). In the hyperpolarized-like state, the same rhythmic input condition resulted in the appearance of an MPSO and action potential disappearance (**Figure 5B1**, hyperpolarized-like state). Conversely,

when the modeled cell received a stationary input, neither an MPSO nor a synchronized spiking pattern emerged in the resting membrane potential-like state or the hyperpolarized-like state (**Figure 5B2**).

Taken together, our experimental and modeling results show that cells without observable MPSO but with a respiratory-synchronized discharge pattern probably express a silent oscillation (Silent MPSO).

As a final analysis, we included the silent oscillations revealed by intracellular current injection in the matrix presented in Figure 3 ($n = 19$; **Figure 6**). In addition to Figure 3, which shows that 1) a NoS pattern was always exhibited in combination with a NoMPSO type and 2) an S- pattern was always associated with an MPSO- type, **Figure 6** also shows that the S+ and Sc patterns were always associated with the occurrence of an MPSO. Finally, we observed that olfactory stimulation increased the probability that the M/T cells would exhibit a specific association between a respiration-synchronized discharge pattern and an MPSO from 36.8% to 57.9% ($n = 19$).

In summary, what emerges from this series of results is that cells exhibiting an unsynchronized discharge pattern never exhibited an MPSO, whereas cells with a respiration-synchronized discharge pattern always exhibited an MPSO.

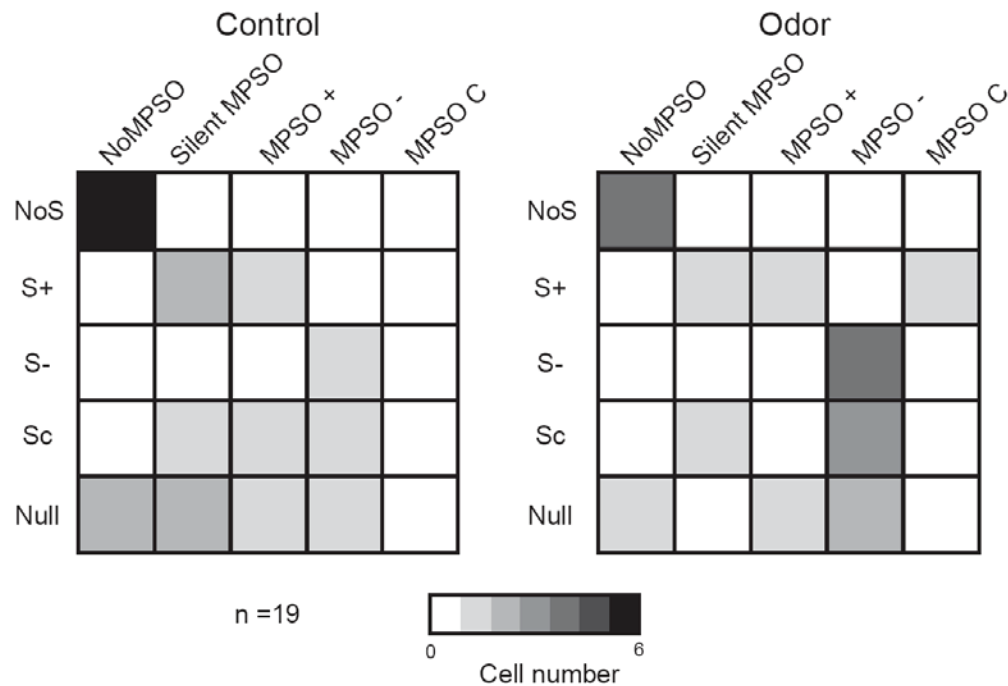


Figure 6: Exclusive associations between membrane potential slow oscillations and respiration-related discharge patterns

The probability of an association between each type of membrane potential slow oscillation (including silent membrane potential slow oscillations) and each type of respiration-related discharge pattern ($n = 19$) is shown for the control and odor periods. The 19 cells used to create these matrices are the same as those used in Figures 2 and 3. One cell was excluded because it was not tested using the intracellular excitability protocol. The probabilities are represented using grayscale code, in which white indicates a null probability and black indicates the maximal probability. NoMPSO: no oscillation; silent MPSO: silent membrane potential slow oscillation; MPSO+: positive membrane potential slow oscillation; MPSO-: negative membrane potential slow oscillation; MPSO C: complex membrane potential slow oscillation; NoS: non-synchronized pattern, S+: excitatory-simple-synchronized pattern; S-: suppressive-simple-synchronized pattern; Sc: complex synchronized pattern; Null: null activity.

Discussion

The aim of this study was to shed light on the respiration-related slow rhythm manifested in the M/T cell membrane potential and its relationship to M/T cell spike discharge. Specifically, we sought to determine the extent to which afferent sensory input and the excitability state of the network influence the expression of both MPSOs and discharge activities. We first observed an apparently complex and confusing relationship between MPSO and respiration-related discharge pattern

expressions. However, our additional analysis completely clarified this issue, and specific relationships have finally been observed between the two activity levels. Our data definitively show that the respiration-related discharge patterns of M/T cells are constrained by MPSOs that are in turn determined by both sensory input and the state of the circuit in which the cell is embedded.

The origin of the olfactory bulb slow rhythm

The origin of the slow rhythm has been mainly described as peripheral,

occurring via the rhythmic stimulation of the olfactory epithelium at each inspiration. Indeed, the local field potential signal has been shown not to exhibit respiration modulation when airflow does not penetrate the nasal cavity [26] or in the absence of mechanical stimulation of the olfactory neuroreceptor [27]. Similarly, the respiratory patterning of olfactory bulb single-unit activity has been shown to reflect the phasic stimulation of the olfactory receptors because slow patterning was not observed during continuous odor stimulation [28] or in the absence of air stimulation [26]. Our study has demonstrated that the occurrence of respiration-synchronized discharge patterns is enhanced by odor stimulation, consistent with extracellular studies [13, 29]. Interestingly, we have shown for the first time that these patterns were poorly influenced by intracellular excitability changes, confirming that respiration-related spike activity mainly originates from afferent input activation. The origin of MPSOs is not well established. Some studies have proposed an exclusively peripheral origin because MPSOs disappear when there is no airflow in the nasal cavity [22, 25]. We observed that odor stimulation modulated the occurrence of MPSOs and improved the synchronization of MPSOs with the slow oscillations of the local field potential (data not shown), indicating a common peripheral input.

The peripheral input is probably not the only factor that contributes to the slow rhythm, and various voltage-dependent conductances appear to also be involved in MPSO expression. Calcium and sodium fluctuations have been shown to reflect slow membrane potential dynamics, and the blockade of some calcium or sodium voltage-dependent conductances led to a decrease in MPSO amplitude [15, 30-32]. In addition, the blockade of some potassium voltage-dependent conductances in

olfactory bulb slices has been shown to delay the falling phase of oscillation [31, 33]. Our observation that MPSOs are highly sensitive to excitability changes supports the assumption that MPSOs are probably also shaped by an intrinsic component, including voltage-dependent conductances.

The relationship between respiration-related discharge patterns and membrane potential slow oscillations

Our study is the first to dissect the relationship between the respiration-related spike activity of M/T cells and the slow oscillation of their membrane potentials. We showed that cells without a synchronized discharge pattern never exhibited an MPSO and that S- patterns were always combined with an MPSO-, whereas cells with S+ patterns never exhibited an MPSO-. However, some MPSO / discharge activity associations were rather unexpected; for example, the observation of a rhythmic discharge activity, synchronized to the respiratory signal, superimposed on a non-oscillating membrane potential. We can explain such a discrepancy by our observation that MPSOs can be silenced in some excitability states and revealed in others.

The response patterns of M/T cells are closely correlated with the spatial patterns of glomerular activation. Luo and Katz [34] have shown that M/T cells are robustly excited when their related glomerulus is activated by an odorant but strongly inhibited when neighboring glomeruli are activated, showing a clear center-surround organization. We have used this observation to propose the following interpretation of our data (**Figure 7**). We assumed that the MPSO/respiration-related discharge pattern association depends on the location of the cell within the spatial pattern of the activated glomeruli. An M/T cell expressing NoMPSO and a spike pattern unrelated to respiration

is probably connected to a non-rhythmically activated glomerulus (**Figure 7A**). In contrast, an M/T cell exhibiting an MPSO is likely to be related (directly or indirectly) to a rhythmically activated glomerulus (**Figure 7B, C**). A cell located in a strongly activated area receives 1) a strong and direct activating input if the cell is connected to a center-activated glomerulus (**Figure 7B**, left glomerulus) or 2) an indirect inhibiting input if the cell is related to the surrounding glomerulus (**Figure 7B**, right glomerulus). In our scheme, strong direct inputs corresponded to excitatory responses characterized by the presence of an MPSO+. This MPSO type has been hypothesized to be initiated by the activation of AMPA/kainate, NMDA and metabotropic glutamate receptors because this activation has been shown to be crucial for the generation of MPSO+ [15, 22, 25, 30, 35, 36]. The observation that neuroreceptor activation reaches its maximum at the end of inspiration [37] could explain why an MPSO+ peaks after the inspiration / expiration transition (data not shown). In addition, we demonstrated that an MPSO+ imposes an S+ pattern, thus constraining the spike discharge to the restricted time window of the inspiration / expiration transition epoch [16, 38]. In this case, the strong afferent input overrides the influence of the cellular excitability, and the spike pattern does not depend on the excitability state. The propagation of the S+ spike discharge along a lateral dendrite may allow the rhythmic activation of connected granule cells [16, 25, 39, 40], which could in turn induce the rhythmic inhibition of the M/T cells in neighboring glomeruli. This rhythmic inhibition would probably be reflected by an MPSO- and would impose an S- pattern on those M/T cells, allowing for surrounding inhibition [34]. Our scheme

is also supported by the demonstration that the inhibitory discharge responses of M/T cells depend on granule cell-mediated lateral inhibition [41].

In the glomerular maps described by Luo and Katz [34], some glomerular columns are more weakly activated. In this case, M/T cells projecting into such glomeruli are probably more sensitive to intracellular excitability changes (**Figure 7C**). *In vivo*, the cellular excitability state of M/T cells is largely dependent on an animal's internal state because neuromodulator systems, such as cholinergic, noradrenergic or serotonergic inputs, act directly or indirectly on M/T cells [42]. According to our results, an M/T cell connected to a weakly activated glomerulus should exhibit a different MPSO type according to its excitability state. Indeed, we showed that the artificial modification of the intracellular excitability state 1) unmasked the presence of a silent MPSO and 2) led to the modification of the MPSO type exhibited (with MPSO+ promoted by hyperpolarization and MPSO- by depolarization). We also analyzed the impact of the intracellular excitability state using a mitral cell model. This model confirmed and complemented our experimental results because it demonstrated the existence of silent MPSOs, which were predominant at a specific excitability state (resting membrane potential). Taken together, these data suggest that both the peripheral input strength and the intracellular excitability state determine the MPSO type exhibited by an M/T cell and that the MPSO type in turn constrains the expression of a respiration-related discharge pattern.

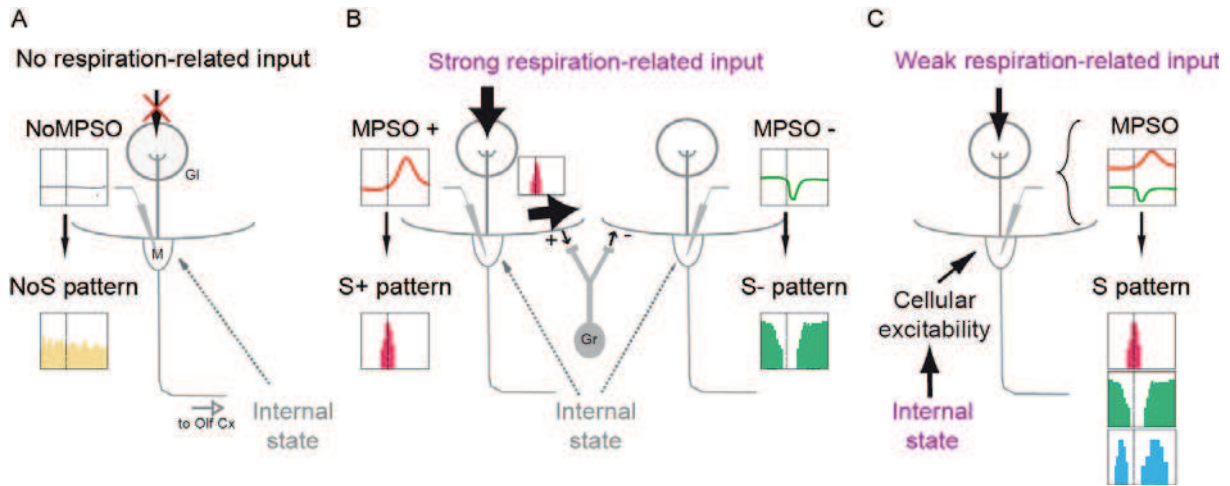


Figure 7: Schematic representation of an interpretation of our data

Case A: A mitral/tufted cell related to a glomerular unit receiving no respiration-related input. This cell exhibits neither a membrane potential slow oscillation (NoMPSO) nor a respiration-synchronized discharge pattern (NoS). Gl: glomerulus; M: mitral cell; Olf Cx: olfactory cortex.

Case B: A mitral/tufted cell related to a glomerular unit receiving a strong respiration-related input. This cell exhibits a positive membrane potential slow oscillation (MPSO+) that manifests an excitatory-simple-synchronized pattern (S+). This S+ spike pattern induces, via granular activation, a lateral inhibition of the mitral/tufted cells connected to neighboring glomeruli. As a result, this cell exhibits a negative membrane potential slow oscillation (MPSO-) associated with a suppressive-simple-synchronized pattern (S-). Gr: granule cell.

Case C: A mitral/tufted cell related to a glomerular unit receiving a weak respiration-related input. Because of the weak peripheral input, this cell is strongly influenced by the cellular excitability state, which in turn depends on characteristics of the animal's internal state (such as neuromodulation and attention). The synergistic effect of the peripheral input and the intracellular excitability can thus result in several different types of membrane potential slow oscillations (MPSO+, -, c), which in turn induce different respiration-synchronized discharge patterns.

Conclusion

Our M/T cell intracellular recordings obtained from freely breathing anesthetized rats allowed us to show for the first time the specific sensitivity of MPSOs and respiration-related discharge patterns to odor stimulation and intracellular excitability changes. We have explained the specific and narrow relationships that exist between these two activity levels. These specific arrangements can be integrated into the spatio-temporal coding scheme of olfactory processing. We propose that, through the dual modulation by input and network excitability, the rough glomerular activation map can be refined as a function of the animal's state.

Materials and Methods

Animal preparation

Male Wistar rats (240 to 350 g, Janvier, Le Genest-Saint-Isle, France) were anesthetized with an intraperitoneal injection of urethane (1.5 g/kg). The local field potential oscillations were used to monitor anesthesia depth, and supplemental doses were delivered when necessary. Each animal was immobilized in a stereotaxic apparatus. Respiration was unimpeded and was measured with a homemade bidirectional pressure sensor, as described by Roux et al. [43], placed in front of the right nostril. This sensor measured respiratory airflow changes as a depression during inspiration and a super-pressure

during expiration. Viscous xylocaine (2%) was applied to the skin before surgery, and a craniotomy was performed above the dorsal surface of the left olfactory bulb. The dura was removed, and the olfactory bulb was protected by a 3% agar Ringer's lactate solution. The cisterna magna was drained. The animals' temperature was maintained at 37°C with a heating blanket (Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA). At the end of the experiments, the rats were euthanized by a lethal intraperitoneal injection of pentobarbital.

All experiments were conducted in strict accordance with the European Community Council directive of November 24, 1986 (86/609/EEC) and those of the French Ethical Committee and French Legislation. The experiments have been approved by the Ethics Committee of the Université de Lyon 1 (authorization number: BH2008-08).

In vivo electrophysiological recordings

Intracellular recordings were performed in the lateral or medial area of the left olfactory bulb using borosilicate glass micropipettes (o.d. = 1.5 mm; i.d. = 0.86 mm; Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA) pulled with a horizontal puller (model P-97, Sutter Instruments, Novato, CA, USA). The micropipettes were filled with a solution of 2 M potassium acetate. For morphological identification, we also included 2% biocytin (Sigma, Saint Louis, MO, USA) in the micropipette solution during some recordings. The electrode resistances ranged from 55 to 180 MΩ. The electrophysiological signal was amplified and low-pass filtered on line at 10 KHz by an intracellular amplifier (Axoclamp 2B, Axon Instruments, Foster City, CA, USA). The signal was then digitized at 20 KHz (PCI-DAS 1602/16, Measurement Computing, Norton, CA, USA) and stored on a personal computer using ELPHY software (Sadoc G., Centre National de la Recherche

Scientifique). During the experiment, intracellular excitability changes were produced by progressive direct current (DC) injections with an intracellular amplifier. The membrane potential was hyperpolarized at 4 distinct levels by negative current injections. The first level, H1, was obtained by a -0.16 ± 0.03 nA (mean \pm SEM, $n = 20$) DC injection and caused a 20% decrease in discharge activity relative to the spike discharge activity recorded at the resting membrane potential. The second level (H2) corresponded to the potential level at which the discharge activity was decreased by 50% by a -0.24 ± 0.04 nA DC injection ($n = 20$). The third and the fourth hyperpolarized levels (H3 and H4) were defined as the potential levels resulting in a level of discharge activity where few or no action potentials would be observed, respectively. These potential levels were obtained using current injections (for H3: -0.32 ± 0.04 nA, $n = 20$; for H4: -0.43 ± 0.07 nA, $n = 11$) carrying membrane potentials just below (H3) or well below (H4) the action potential threshold. Two depolarized states were also used to analyze the intracellular excitability effects. D1 corresponded to the level where a 10% in discharge activity was induced and was evoked by a positive DC injection of 0.12 ± 0.02 nA ($n = 9$). D2 corresponded to a 0.19 ± 0.04 nA injection ($n = 11$) and induced a 30% increase in discharge activity. The input resistance of the cells was measured by applying brief hyperpolarizing current pulses with a programmable stimulator (Master-8, A.M.P. Instruments LTD, Jerusalem, Israel). Before impalements, the electrode tip potential was controlled by measuring the DC offset of the electrode in the extracellular medium. This measurement was performed again at the end of the experiment.

The local field potential recordings were performed simultaneously using silicon probes (Neuronexus Technology,

Ann Arbor, MI, USA) placed in medial or lateral positions in the left olfactory bulb at a depth of approximately 1500 μm . The broadband signal (0.1 Hz to 5 KHz) was amplified with a homemade amplifier, digitized at 20 KHz (PCI-DAS 1602/16, Measurement Computing, Norton, USA) and stored on a personal computer.

Odor stimulation and acquisition protocol

Odor was delivered in front of the left nostril using a homemade olfactometer linked to the respiratory sensor to trigger odor onset at the end of an expiration period. Three different odorant molecules, isoamyl acetate, heptanone and ethyl pentanoate, were used separately (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA). A single odor was delivered at 9% of the saturated vapor pressure, and 2 consecutive stimulations were separated by at least 1.5 minutes. The recording session consisted of 4 seconds of pre-stimulus activity, 3 seconds of odor-evoked activity and 5 seconds of post-stimulus activity. Some 12-second recordings were performed without odor stimulation.

Histology

Biocytin was injected into some of the recorded cells using 0.2 nA depolarizing current pulses of 500 ms every 1 second for 10 minutes. At least 1 hour after the biocytin injection, the rat was perfused transcardially with Ringer's solution followed by 4% paraformaldehyde solution. After the animal was decapitated, the olfactory bulb was removed and stored in cold 30% sucrose in 0.1 M phosphate buffer. After the freezing process, 80- μm thick coronal sections were cut with a cryostat (Reichert-Jung, NuBlock, Germany). Biocytin was detected after the treatment using an avidin-biotin-peroxidase complex (ABC Elite Kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) and incubation with 3, 3'-diaminobenzidine-tetra-hydrochloride

(Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA). The sections were stained with cresyl violet, dehydrated and mounted with DPX. The cells were visualized with an optical microscope.

Data analysis

Data processing was performed using OpenElectrophy open-access homemade software ([44]; freely available at <http://neuralensemble.org/trac/OpenElectrophy>). This software was associated with the MySQL database, and specific analyses were performed with scripts written in Python.

Respiration

We examined phenomena related to respiration, such as respiration-related discharge patterns and the membrane potential slow oscillations (MPSOs). Therefore, we chose to represent the data as a function of the respiratory phase [43]. Briefly, the recorded respiratory signal was processed to extract each respiratory cycle. The time component of these periods was then converted into a circular phase component that was defined between 0 and 1, where 0 and 1 represented the beginning of inspiration and the end of expiration, respectively. Using this new reference, the electrophysiological signals were no longer represented as a function of time but as a function of the related respiratory phase. During phase transformation, inspiration and expiration were scaled differently to place the transition point between inspiration and expiration at the same phase for all respiratory cycles. The main advantage of this method was that the phase representation was common to all trials, unlike the time representation. Electrophysiological recordings were thus analyzed relative to the inspiration / expiration transition, which could be automatically detected as the point at which

the respiratory signal crossed zero, corresponding to the point of null airflow in the rising phase.

The respiratory frequency (in Hz) of each recording was calculated by dividing the number of extracted respiratory cycles by the time between the beginning of the first cycle and the end of the last cycle of the total recording time.

Intracellular signal

For this analysis, we selected a total of 32 M/T cells with stable membrane potentials and resting membrane potentials of less than -50 mV. Of these 32 M/T cells, 20 were stimulated with odor, and 28 were subjected to at least one excitability state, predominantly the hyperpolarized state, in addition to the resting state. Because depolarized states are more difficult to stabilize, only 11 M/T cells were submitted to these conditions. Cell type identification was performed according to electrophysiological and anatomical criteria. The recorded M/T cells (see **Figure 8A** for a typical signal), for which a typical signal can be seen in **Figure 8A**, exhibited a mean resting membrane potential of -57.99 ± 1.18 mV ($n = 32$) and an input resistance of 49.01 ± 8.06 M Ω ($n = 19$). These electrophysiological characteristics have been described as being specific to M/T cells [45]. The electrophysiological identification of the M/T cells was confirmed by anatomical criteria using biocytin staining (**Figure 8B**). These cells were characterized by observations of soma localized to the mitral cell layer or the deep external plexiform layer, an apical dendrite directed toward the glomerular layer, lateral dendrites

spreading in the external plexiform layer and an axon in the internal plexiform layer.

Discharge activity analyses

We collected action potential times for all intracellular recordings using OpenElectrophy built-in spike detection.

Respiration-related discharge pattern. As previously described [13], M/T cell activity is characterized by its temporal pattern along the respiratory cycle. To determine this pattern, we constructed respiratory cycle-triggered histograms of action potentials (20 bins, based only on simultaneously recorded respiratory signals) (see **Figure 1B** and **Figure 4D** for examples). Because a respiratory cycle lasted approximately 500 ms, each bin represented approximately 25 ms. The respiratory cycle-triggered histograms of action potentials were calculated using 17.31 ± 0.29 respiratory cycles from recordings without odor stimulation, 6.21 ± 0.13 respiratory cycles from the control period of the odor-stimulated recordings and 4.45 ± 0.25 respiratory cycles from the odor period of the recordings. The histograms were classified into five different types according to the classifications of Chaput et al. [13]: 1) non-synchronized patterns (NoS) characterized by a uniform distribution of action potentials throughout the respiratory cycle, 2) excitatory-simple-synchronized patterns (S+) presenting a single increase in firing activity synchronized with the respiratory cycle, 3) suppressive-simple-synchronized patterns (S-) presenting a single decrease in firing activity synchronized with the respiratory cycle, 4) complex synchronized patterns (Sc) exhibiting multiple firing increases and/or decreases along the respiratory cycle and 5) Null recordings presenting few or no action potentials. The patterns were classified by visual inspection, first independently and then by a group of three observers. The patterns

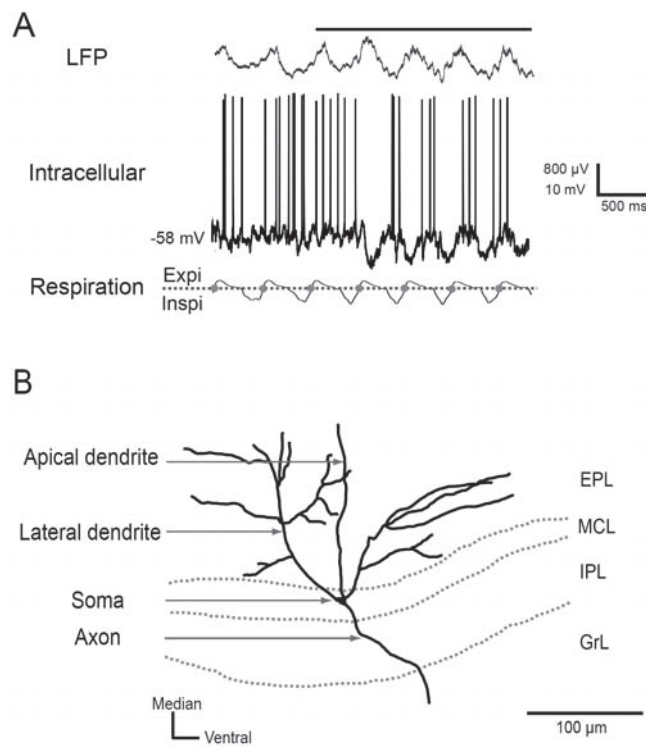


Figure 8: Identification of mitral/tufted cells

A) *Typical example of recorded signals.* The local field potential (LFP) signal in the granular layer was characterized by the presence of a high amplitude wave at the same respiratory frequency at which fast oscillations were superimposed during odor stimulation. The intracellular discharge activity appeared spontaneously and was synchronized to the respiratory rhythm during odor stimulation. Top: LFP signal; middle: intracellular recording; bottom: respiratory signal, with expiration (Expi) and inspiration (Inspi) separated by a dotted line. The inspiration/expiration transitions are represented by gray circles. The odor stimulation is indicated by a horizontal black line above the LFP signal.

B) *Morphological identification of mitral/tufted cells.* A morphological reconstruction of a mitral/tufted cell recorded *in vivo* and intracellularly labeled with biocytin. The mitral/tufted cells are characterized by the localization of the soma in the mitral cell layer or the deep external plexiform layer, their extensive lateral dendrites and the projection of their apical dendrite into a single glomerulus. EPL: External Plexiform Layer; MCL: Mitral Cell Layer; IPL: Internal Plexiform Layer; GrL: Granular Layer.

were selected for further analysis only if they were classified as the same type by at least two observers out of three.

Membrane potential slow oscillation analyses

To specifically study the evolution of the membrane potential in M/T cells, we removed action potentials from the membrane potential traces using the following procedure. For each recording, the

interspike intervals were calculated, and the interspike intervals histogram was used to differentiate single action potentials from a burst of action potentials in our database. In the second step, the averaged single action potentials and the action potential bursts were defined using spike-triggered averaging of the membrane potential. Next, two parameters were measured: first, the time between the first action potential peak and the pre-depolarization onset, Δt_{pre} ; and

second, the time between the last action potential peak and the after-hyperpolarization end, Δt_{post} . These times were used to replace the single action potentials or action potential bursts (at time t_{AP}) by a linear interpolation of the subthreshold membrane potential from $t_{AP} - \Delta t_{pre}$ to $t_{AP} + \Delta t_{post}$. This raw intracellular signal, from which the action potentials had been removed, was called the “cut-signal”. In the following, the raw intracellular signal corresponds to the “cut-signal” for the recordings without action potentials.

From this “cut signal”, the presence of an MPSO was determined using two methods, a fast Fourier transform analysis and an autocorrelation analysis of the membrane voltage. The autocorrelation was calculated using the following equation:

$$\frac{\langle (X - \langle x \rangle)^2 \rangle}{\sigma_x^2}$$

where x represents the signal; $\langle \rangle$, the mean; and σ , the standard deviation.

To be classified as oscillating, a “cut signal” needed to fulfill two criteria: first, its fast Fourier transform should exhibit an increase in power between 1 and 3 Hz (**Figure 9A1, 2** and **Figure 9B1, 2**); and second, its autocorrelogram should show a persistent oscillation in which the first lateral peaks had an amplitude higher than 50% of the main peak (**Figure 9C1, 2**). If both criteria were not reached, the trial was classified as non-oscillating (**Figure 9A3, B3, C3**). When the two criteria led to opposite conclusion, the trial was not retained for further analysis. The fast Fourier transform peak defined the MPSO oscillatory frequency value, which was confirmed by the autocorrelogram.

The average intracellular oscillations were not symmetric and regular like typical sine waves. We thus created specific analyses to classify these oscillations depending on the shape of their average cycles. The “cut signal” was averaged across several

respiratory cycles (the same number of respiratory cycles that were used for the respiratory cycle-triggered spike histograms) to obtain the respiration-triggered membrane potential average (**Figure 9D**). From this averaged signal, we extracted the median value from the most negative 30% of the membrane potential points (NEG-med) and the median value from the most positive 30% of the membrane potential points (POS-med). We then defined the mean value of the membrane potential oscillation as $OSC_{mean} = (NEG-med + POS-med) / 2$. Membrane potential values below OSC_{mean} were defined as down points, those above were defined as up points. The median, mean and point proportions were also visualized with histograms of the membrane potential distribution (**Figure 9E**). When the up-point proportion was $< 50\%$, the signal was classified as positive (MPSO+, **Figure 9D1, E1**), whereas if the up-point proportion was $> 50\%$, the MPSO was classified as negative (MPSO-, **Figure 9D2, E2**). Otherwise, the oscillation was classified as complex (MPSOc). We obtained similar classifications when the NEG-med and POS-med were calculated using 20% or 40% of the most positive and negative points.

Mitral cell model

In **Figure 6**, we used a compartmental mitral cell model to infer the effects of inhibitory and excitatory oscillatory conductance injections into the tuft and lateral dendrites on the soma membrane potential. We used a mitral cell model developed by Migliore and Shepherd ([46]; ModelDB access number: 97263). Briefly, the model contains a soma, a primary dendrite with a tuft and two secondary dendrites. Spikes are generated by a sodium current, and a delayed rectifier potassium current induces the spike repolarization. A slow inactivating potassium A-current is also present. Noisy

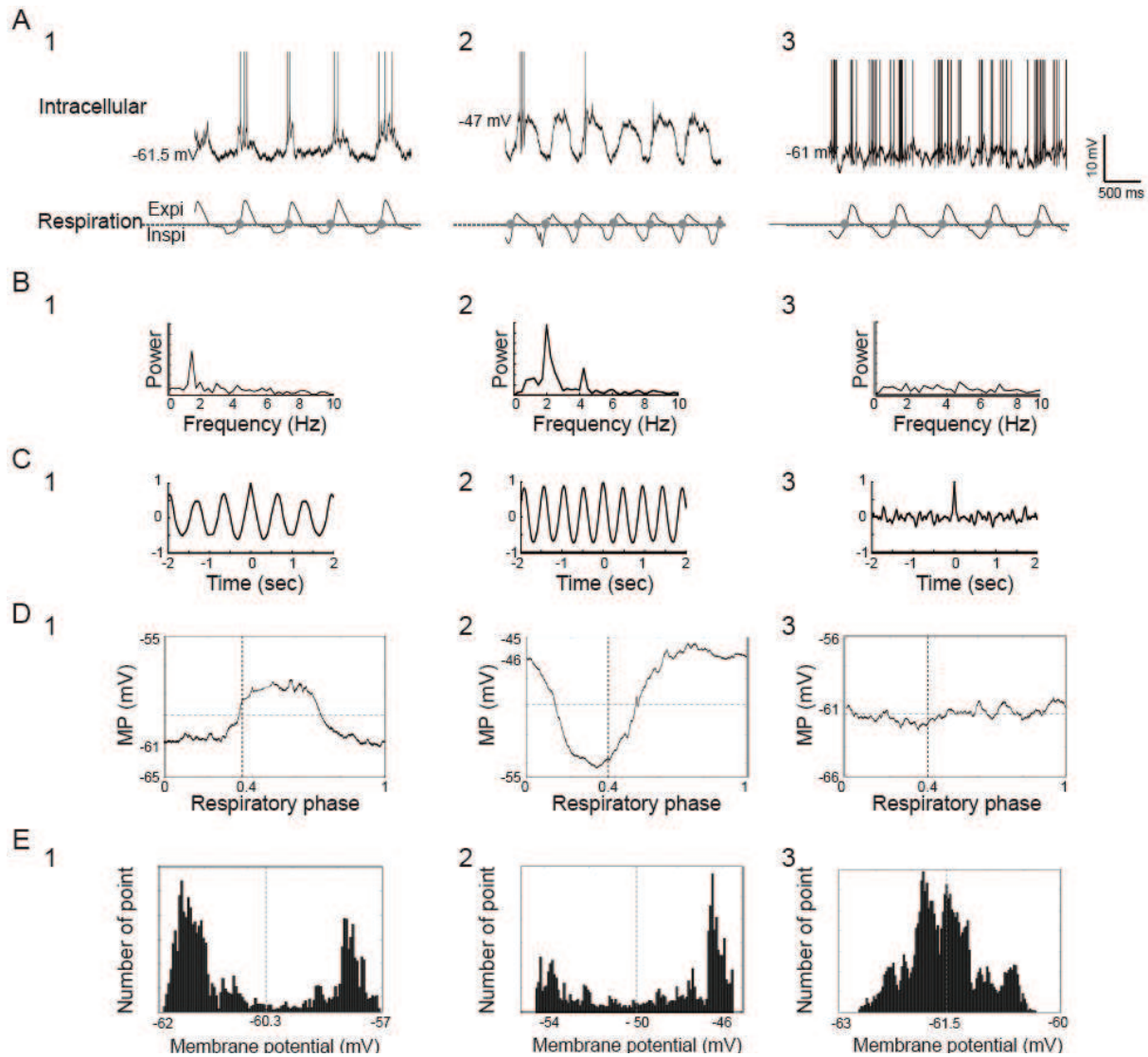


Figure 9: Characterization of membrane potential slow oscillations

A) Intracellular recordings of 1) a cell with a positive oscillation (MPSO+); 2) a cell with a negative oscillation (MPSO-) and 3) a cell without oscillation (NoMPSO).

Top: intracellular signal; bottom: respiratory signal with expiration (Expi) and inspiration (Inspi) separated by a dotted line. The gray circles indicate the inspiration/expiration transitions. The action potentials have been truncated to improve the visibility of the membrane potential.

B) Fast Fourier transform analysis of membrane potential power. Cells with membrane potential slow oscillations (1 and 2) exhibited higher power in the 2 Hz frequency range (corresponding to the respiratory rhythm) than a cell without oscillation (3).

C) Autocorrelograms of membrane potential. Cells with oscillations (1 and 2) present an oscillating autocorrelogram, while a cell without oscillation (3) shows a flat autocorrelogram.

D) Respiration-triggered averaging of membrane potential. A positive membrane potential slow oscillation was characterized by an up-point proportion < 50% (1), whereas a negative oscillation manifested an up-point proportion > 50% (2). In cells without oscillations, the plots were relatively flat. The inspiration/expiration transition is marked by a vertical dotted line, and the mean membrane potential is represented by a horizontal dotted line.

E) Histograms of membrane potential distribution. The mean membrane potential is represented by a vertical dotted line.

oscillatory conductances were injected into the following model:

$$\tau \frac{dg}{dt} = -g + (g_0 + \sigma \sqrt{\tau} \eta(t)) [1 + a \max(0, \sin(2\pi ft))]$$

where g is the injected conductance; τ is the synaptic time constant; g_0 is the average conductance; a is the modulation amplitude; f is the modulation frequency; η is the white noise process; and σ is the noise amplitude. The final injected current was calculated using the following equation:

$$I_{syn} = g(V - V_{syn})$$

where V_{syn} is the synaptic reversal potential. We simultaneously injected an excitatory conductance ($V_E = 0$ mV, $\tau_E = 3$ ms) into the mitral cell tuft and an inhibitory conductance ($V_I = -80$ mV, $\tau_I = 10$ ms) into both the mitral tuft and each secondary dendrite at 5 evenly spread locations. For all synaptic currents, we used $g_0 = 0.4$ ns, $\sigma = 0.2$ ns and $f = 2$ Hz. We used either $a = 0$ or $a = 0.7$.

Twelve seconds of real time were simulated. During the simulation, we monitored the membrane potential in the soma, the tuft and the middle of a secondary dendrite.

The simulations were performed on a standard Linux workstation using the NEURON simulator

Statistical analysis

Statistical tests were performed using R combined with Python scripts. The level of significance was set at $p < 0.05$ for all statistical tests ($p < 0.05^*$; $p < 0.01^{**}$; $p < 0.001^{***}$). The mean values are accompanied by SEM values. The McNemar test was applied to compare the proportion of oscillating cells between the control and the odor stimulation conditions. The change in occurrence of an MPSO between excitability states was compared using a Fisher's exact test. The proportion of cells of various MPSO types (+, - or complex) was compared between the excitability states using a χ^2 test. The differences in MPSO frequencies

between the control and odor conditions were compared using a Mann-Whitney test. The correlations between the respiratory frequency and the MPSO frequency were quantified using Pearson's correlation coefficient. The M/T cell activity patterns were compared between two excitability levels using a χ^2 test, and the significant difference between the firing rates across two excitability states was measured using a Mann-Whitney test.

Acknowledgments

This work was supported by a grant from the "Agence Nationale de la Recherche" (#ANR-07-NEURO-030). The funding agency had no role in the study design, data collection, data analysis, the decision to publish or the manuscript preparation. We would like to thank Emmanuelle Courtiol, Frederic Esclassan and Philippe Litaudon for their helpful comments on the manuscript. We would like to thank Marc Thévenet and Samuel Garcia for technical assistance.

References

1. Lisman J (2005) The theta/gamma discrete phase code occurring during the hippocampal phase precession may be a more general brain coding scheme. *Hippocampus* 15: 913-922.
2. Wang X (2010) Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition. *Physiol Rev* 90: 1195-1268.
3. Lisman J, Buzsáki G (2008) A neural coding scheme formed by the combined function of gamma and theta oscillations. *Schizophr Bull* 34: 974-980.
4. Steriade M (2006) Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience* 137: 1087-1106.
5. Adrian ED (1942) Olfactory reactions in the brain of the hedgehog. *J Physiol* 100: 459-473.

6. Freeman WJ (1978) Spatial properties of an eeg event in the olfactory bulb and cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 44: 586-605.
7. Fontanini A, Spano P, Bower JM (2003) Ketamine-xylazine-induced slow (< 1.5 hz) oscillations in the rat piriform (olfactory) cortex are functionally correlated with respiration. *J Neurosci* 23: 7993-8001.
8. Buonviso N, Amat C, Litaudon P, Roux S, Royet JP et al. (2003) Rhythm sequence through the olfactory bulb layers during the time window of a respiratory cycle. *Eur J Neurosci* 17: 1811-1819.
9. Macrides F, Chorover SL (1972) Olfactory bulb units: activity correlated with inhalation cycles and odor quality. *Science* 175: 84-87.
10. Onoda N, Mori K (1980) Depth distribution of temporal firing patterns in olfactory bulb related to air-intake cycles. *J Neurophysiol* 44: 29-39.
11. Ravel N, Caille D, Pager J (1987) A centrifugal respiratory modulation of olfactory bulb unit activity: a study on acute rat preparation. *Exp Brain Res* 65: 623-628.
12. Ravel N, Pager J (1990) Respiratory patterning of the rat olfactory bulb unit activity: nasal versus tracheal breathing. *Neurosci Lett* 115: 213-218.
13. Chaput MA, Buonviso N, Berthommier F (1992) Temporal patterns in spontaneous and odour-evoked mitral cell discharges recorded in anaesthetized freely breathing animals. *Eur J Neurosci* 4: 813-822.
14. Aylwin MDLL, Díaz E, Maldonado PE (2005) Simultaneous single unit recording in the mitral cell layer of the rat olfactory bulb under nasal and tracheal breathing. *Biol Res* 38: 13-26.
15. Charpak S, Mertz J, Beurepaire E, Moreaux L, Delaney K (2001) Odor-evoked calcium signals in dendrites of rat mitral cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 1230-1234.
16. Cang J, Isaacson JS (2003) In vivo whole-cell recording of odor-evoked synaptic transmission in the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 23: 4108-4116.
17. Lehmkuhle MJ, Normann RA, Maynard EM (2006) Trial-by-trial discrimination of three enantiomer pairs by neural ensembles in mammalian olfactory bulb. *J Neurophysiol* 95: 1369-1379.
18. Bathellier B, Buhl DL, Accolla R, Carleton A (2008) Dynamic ensemble odor coding in the mammalian olfactory bulb: sensory information at different timescales. *Neuron* 57: 586-598.
19. Cury KM, Uchida N (2010) Robust odor coding via inhalation-coupled transient activity in the mammalian olfactory bulb. *Neuron* 68: 570-585.
20. Kepecs A, Uchida N, Mainen ZF (2006) The sniff as a unit of olfactory processing. *Chem Senses* 31: 167-179.
21. Shusterman R, Smear MC, Koulakov AA, Rinberg D (2011) Precise olfactory responses tile the sniff cycle. *Nat Neurosci* 14: 1039-1044.
22. Schaefer AT, Angelo K, Spors H, Margrie TW (2006) Neuronal oscillations enhance stimulus discrimination by ensuring action potential precision. *PLoS Biol* 4: e163.
23. Litaudon P, Garcia S, Buonviso N (2008) Strong coupling between pyramidal cell activity and network oscillations in the olfactory cortex. *Neuroscience* : in press.
24. Cenier T, David F, Litaudon P, Garcia S, Amat C et al. (2009) Respiration-gated formation of gamma and beta neural assemblies in the mammalian olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 29: 921-930.
25. Margrie TW, Schaefer AT (2003) Theta oscillation coupled spike latencies yield computational vigour in a mammalian sensory system. *J Physiol* 546: 363-374.
26. Courtiol E, Amat C, Thévenet M, Messaoudi B, Garcia S et al. (2011) Reshaping of bulbar odor response by nasal flow rate in the rat. *PLoS One* 6: e16445.
27. Grosmaître X, Santarelli LC, Tan J, Luo M, Ma M (2007) Dual functions of mammalian olfactory sensory neurons as odor detectors

- and mechanical sensors. *Nat Neurosci* 10: 348-354.
28. Sobel EC, Tank DW (1993) Timing of odor stimulation does not alter patterning of olfactory bulb unit activity in freely breathing rats. *J Neurophysiol* 69: 1331-1337.
29. Carey RM, Wachowiak M (2011) Effect of sniffing on the temporal structure of mitral/tufted cell output from the olfactory bulb. *J Neurosci* 31: 10615-10626.
30. Yuan Q, Knöpfel T (2006) Olfactory nerve stimulation-evoked mglur1 slow potentials, oscillations, and calcium signaling in mouse olfactory bulb mitral cells. *J Neurophysiol* 95: 3097-3104.
31. Balu R, Strowbridge BW (2007) Opposing inward and outward conductances regulate rebound discharges in olfactory mitral cells. *J Neurophysiol* 97: 1959-1968.
32. Johnston J, Delaney KR (2010) Synaptic activation of t-type Ca^{2+} channels via mglur activation in the primary dendrite of mitral cells. *J Neurophysiol* 103: 2557-2569.
33. Balu R, Larimer P, Strowbridge BW (2004) Phasic stimuli evoke precisely timed spikes in intermittently discharging mitral cells. *J Neurophysiol* 92: 743-753.
34. Luo M, Katz LC (2001) Response correlation maps of neurons in the mammalian olfactory bulb. *Neuron* 32: 1165-1179.
35. Carlson GC, Shipley MT, Keller A (2000) Long-lasting depolarizations in mitral cells of the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 20: 2011-2021.
36. Schoppa NE, Westbrook GL (2001) Glomerulus-specific synchronization of mitral cells in the olfactory bulb. *Neuron* 31: 639-651.
37. Chaput MA (2000) Eog responses in anesthetized freely breathing rats. *Chem Senses* 25: 695-701.
38. Padmanabhan K, Urban NN (2010) Intrinsic biophysical diversity decorrelates neuronal firing while increasing information content. *Nat Neurosci* 13: 1276-1282.
39. Debarbieux F, Audinat E, Charpak S (2003) Action potential propagation in dendrites of rat mitral cells in vivo. *J Neurosci* 23: 5553-5560.
40. Egger V (2008) Synaptic sodium spikes trigger long-lasting depolarizations and slow calcium entry in rat olfactory bulb granule cells. *Eur J Neurosci* 27: 2066-2075.
41. Yokoi M, Mori K, Nakanishi S (1995) Refinement of odor molecule tuning by dendrodendritic synaptic inhibition in the olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 3371-3375.
42. Ennis M, Hamilton K, Hayar A (2007) . : Berlin Heidelberg. .
43. Roux SG, Garcia S, Bertrand B, Cenier T, Vigouroux M et al. (2006) Respiratory cycle as time basis: an improved method for averaging olfactory neural events. *J Neurosci Methods* 152: 173-178.
44. Garcia S, Fourcaud-Trocmé N (2009) Openelectrophy: an electrophysiological data- and analysis-sharing framework. *Front Neuroinformatics* 3: 14.
45. Wellis DP, Scott JW (1990) Intracellular responses of identified rat olfactory bulb interneurons to electrical and odor stimulation. *J Neurophysiol* 64: 932-947.
46. Migliore M, Shepherd GM (2008) Dendritic action potentials connect distributed dendrodendritic microcircuits. *J Comput Neurosci* 24: 207-221.

3.2. Résultats complémentaires

En complément de notre première étude, des analyses supplémentaires ont été réalisées selon quatre axes, chacun faisant l'objet d'une section. Le premier axe a porté sur l'examen spécifique de certaines caractéristiques des oscillations lentes du potentiel de membrane (OLPM) des cellules M/P. En particulier, nous avons étudié l'amplitude des OLPM et les effets d'une stimulation odorante sur celle-ci. De manière plus précise, nous nous sommes ensuite intéressés aux niveaux de potentiel entre lesquels le potentiel de membrane de la cellule oscille. Notre deuxième axe a eu pour but de quantifier les relations temporelles entre les différentes phases respiratoires et les OLPM. Dans ce cadre, nous avons cherché à savoir si ces relations étaient fixes ou si une stimulation odorante et / ou les changements d'excitabilité intracellulaire pouvaient spécifiquement les moduler. Dans la troisième partie, nous nous sommes intéressés aux relations entre les OLPM et la modulation respiratoire du PCL et à leurs sensibilités aux stimulations odorantes. Dans une quatrième partie, nous présenterons les résultats préliminaires de l'étude des activités fines de décharge (potentiels d'action isolés et « burst » de potentiels d'action) afin de savoir si les combinaisons spécifiques entre un patron respiratoire de décharge et une OLPM étaient caractérisées par des distributions spécifiques des deux types de décharge.

Suite à l'article, de nouvelles cellules ont été enregistrées et ajoutées au premier groupe. Les OLPM et les patrons respiratoires de décharge ont été étudiés pour cette nouvelle population. Lors des stimulations odorantes, les comportements individuels des cellules M/P apparaissent similaires à ceux observés dans l'article même si de nouveaux cas émergent (par exemple, une cellule avec une OLPM- devient OLPM+). Nous retrouvons également une sensibilité aux changements d'excitabilité intracellulaire similaire à celle décrite dans l'article. Les nouvelles cellules ont donc été incluses pour les analyses complémentaires. Par ailleurs, nous avons choisi de ne pas présenter l'unique OLPMc observée pendant l'odeur pour plus de clarté.

3.2.1. Amplitude et niveaux « haut » et « bas » de potentiel

3.2.1.1. Méthodes

Afin d'étudier l'amplitude des OLPM et les niveaux de potentiels entre lesquels le potentiel de membrane oscille, nous avons déterminé, pour chaque période d'enregistrement intracellulaire présentant une OLPM, deux valeurs de potentiel de membrane (Fig. 3.2) :

- celle dite « haute » et correspondant au potentiel de membrane des sommets des cycles d'oscillation,
- celle dite « basse » pour les valeurs de potentiel correspondant au creux de l'oscillation.

L'amplitude de l'OLPM est obtenue en soustrayant la valeur « basse » à la valeur « haute ».

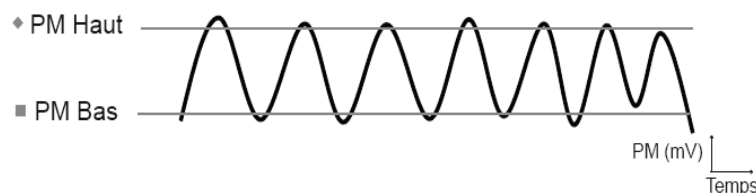


Figure 3.2 : Les niveaux “haut” et “bas” du potentiel de membrane des cellules M/P présentant une oscillation lente visible

« PM haut » indique la valeur de potentiel de membrane considérée comme valeur « haute » et « PM bas » indique la valeur de potentiel de membrane considérée comme valeur « basse ».

3.2.1.2. Résultats

3.2.1.2.1. Amplitude des OLPM

Les amplitudes de chaque OLPM obtenues avant et pendant une stimulation odorante sont illustrées sur la figure 3.3 A.

Pendant la période contrôle, l'amplitude moyenne des OLPM+ est de 3.47 ± 0.42 mV (n = 11) et celle des OLPM- est de 4.29 ± 0.50 mV (n = 5 ; Fig. 3.3A). La forme de l'OLPM ne semble pas influencer son amplitude puisque cette différence n'est pas significative au test de Mann Whitney (p = 0.154).

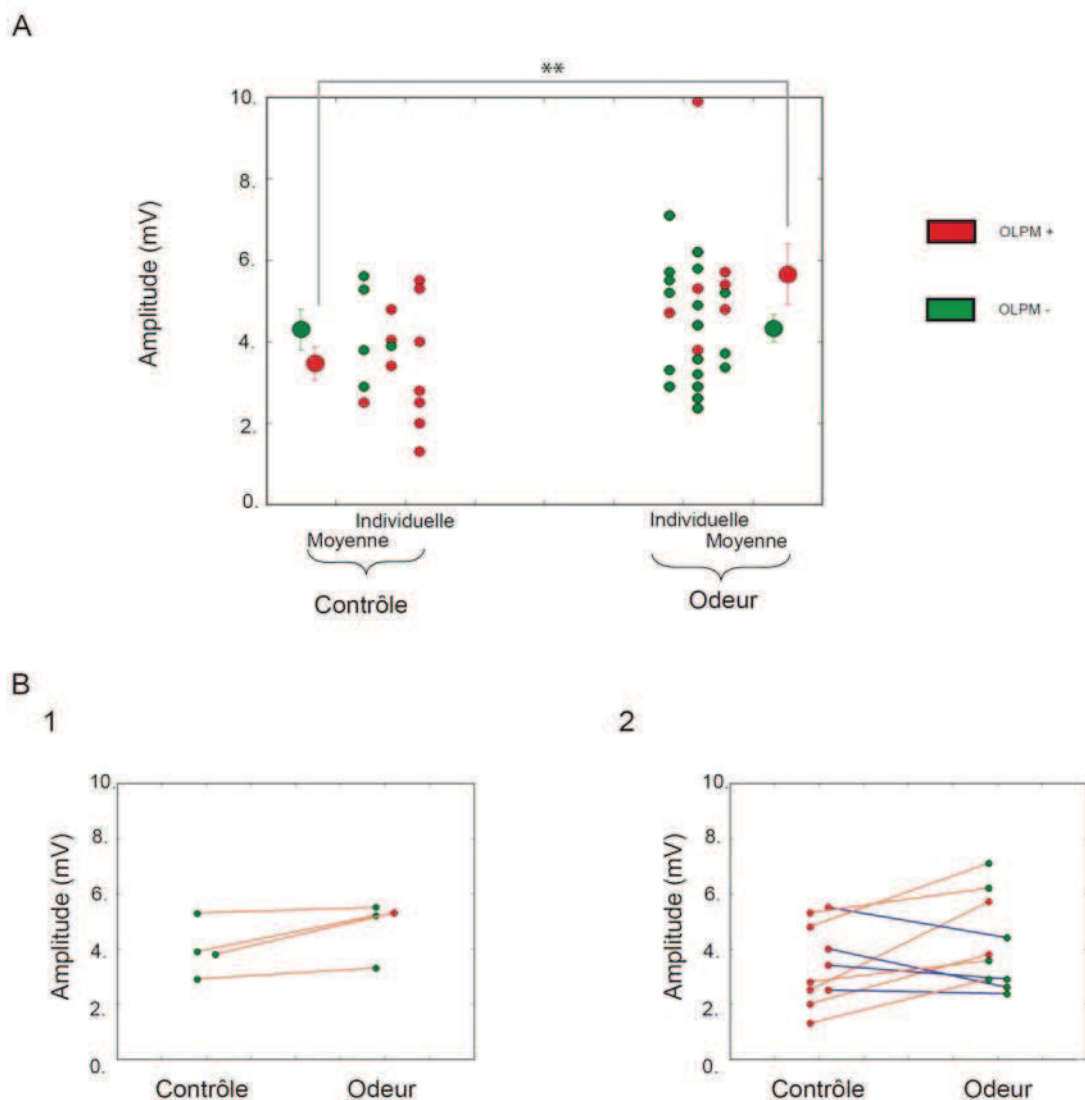


Figure 3.3 : Amplitudes des OLPM en fonction de leur forme avant (Contrôle) et pendant une stimulation odorante (Odeur)

A) Amplitudes individuelles et moyennes des OLPM avant et pendant une stimulation odorante. Pendant la période contrôle, l'amplitude moyenne est calculée avec $n = 11$ pour les OLPM+ et avec $n = 5$ pour les OLPM-. Pendant la stimulation odorante, $n = 7$ pour les OLPM+ et $n = 18$ pour les OLPM-.

B) Suivi de l'effet des stimulations odorantes sur l'amplitude des OLPM :

- 1) Pour les cellules avec une OLPM- avant l'odeur ($n = 4$).
- 2) Pour les cellules avec une OLPM+ avant l'odeur ($n = 10$)

Les traits orange relient les cellules M/P où l'amplitude des OLPM est augmentée. Les traits bleus relient celles où l'amplitude est diminuée.

Pendant les stimulations odorantes, l'amplitude moyenne des OLPM+ devient de 5.66 ± 0.74 mV ($n = 7$) ce qui est statistiquement plus élevé que lors de la période contrôle (Test de Mann Whitney : $p = 0.012$; Fig. 3.4A). En revanche, l'odeur ne semble pas influencer l'amplitude moyenne des OLPM-. Celle-ci est de 4.33 ± 0.33 mV ($n = 18$) et n'est pas statistiquement différente de l'amplitude moyenne de la période contrôle (Test de Mann Whitney : $p = 0.426$). Les

amplitudes des deux types d'OLPM ne sont pas statistiquement significatives les unes des autres selon le test de Mann Whitney ($p = 0.073$).

Pour les cellules avec une OLPM aussi bien avant que pendant l'odeur ($n = 14$), la modification de l'amplitude de leur OLPM est présentée sur la **figure 3.3B** où, pour plus de clarté, les cellules sont représentées en fonction du type d'oscillation de la période contrôle. Pour les 4 cellules présentant une OLPM- avant l'odeur (**Fig. 3.3B 1**), une augmentation de l'amplitude est visible lors des stimulations que les OLPM restent de type négatif ($n=3/4$) ou deviennent de type positif ($n = 1/4$). Pour les 10 cellules avec une OLPM+ pendant la période contrôle (**Fig. 3.3B 2**), il apparaît que l'amplitude augmente pour les 2 cellules qui restent OLPM+ pendant la période odeur ($n = 2/10$) et pour 4 cellules qui deviennent OLPM- pendant la stimulation ($n = 4/10$). Pour les 4 autres cellules, qui deviennent OLPM- pendant l'odeur, l'amplitude de l'OLPM diminue ($n = 4/10$).

Ces résultats nous permettent de suggérer l'existence **d'une sensibilité de l'amplitude des OLPM aux stimulations odorantes**. Cependant, les caractéristiques de cette sensibilité n'ont pas pu être clairement établies puisque nous observons des augmentations ainsi que des diminutions d'amplitude.

3.2.1.2.2. Niveaux « haut » et « bas » de potentiel de membrane

Dans l'article, nous suggérons que les OLPM+ refléteraient plutôt une excitation directe et forte de la dendrite apicale de la cellule M/P tandis que les OLPM- seraient médiées par des inhibitions latérales. Afin d'apporter des arguments supplémentaires sur ces différences d'origine des deux types d'OLPM, nous avons étudié les niveaux de potentiels de membrane « haut » et « bas » en fonction du type de l'oscillation ainsi que de la présence d'une odeur.

Méthodes spécifiques

Afin de faciliter l'étude des modifications des valeurs « hautes » et « basses » induites par les stimulations odorantes, nous avons choisi d'effectuer une normalisation des valeurs de potentiel. Cette normalisation est effectuée spécifiquement en fonction du type d'OLPM de la période contrôle :

- Pour les cellules avec une OLPM- avant et pendant l'odeur (cas 1 de la figure 3.4), la valeur « haute » de potentiel de membrane de la période contrôle de chaque cellule M/P

servait de référence et était ramenée à zéro. La valeur réelle de potentiel de ce point, était soustraite à la valeur « basse » de la période contrôle ainsi qu'aux valeurs « haute » et « basse » de la période odeur dans le but d'obtenir leurs valeurs normalisées.

- Pour les cellules ne présentant pas d'OLPM pendant la période contrôle et une OLPM- (cas 2 de la figure 3.4) ou une OLPM+ (cas 3 de la figure 3.4) pendant la période odeur, le potentiel de référence correspondait au potentiel de membrane moyen. Il était donc soustrait aux valeurs « haute » et « basse » de potentiel de la période odeur et ramené à zéro.

- Pour les cellules avec une OLPM+ avant l'odeur et une OLPM- pendant l'odeur (cas 4 de la figure 3.4), ce n'est plus la valeur « haute » de potentiel qui est prise comme référence mais la valeur « basse » de la période contrôle. Cette valeur de potentiel, était, dans un premier temps, soustraite à la valeur « haute » de la période contrôle ainsi qu'aux valeurs « haute » et « basse » de la période odeur puis ramenée à zéro.

Les autres cas n'étant rencontrés que pour une ou deux cellules, nous avons préféré ne pas les faire apparaître sur la figure pour plus de clarté.

Résultats

Cas 1 : Pour les cellules présentant une OLPM- avant et pendant la stimulation odorante (n = 3), nous observons que la valeur « basse » de potentiel de membrane lors de la période odeur devient plus négative que celle de la période contrôle (**Fig. 3.4 cas 1**). En revanche, les valeurs « hautes » sont similaires entre les deux périodes. L'odeur évoque donc une augmentation de l'amplitude de l'OLPM- qui pourrait être induite par une augmentation de l'inhibition reçue par ces cellules M/P.

Cas 2 : Dans le cas des cellules sans OLPM pendant la période contrôle, l'émergence d'une OLPM- correspond à une inhibition rythmique du potentiel de membrane (n = 7 ; **Fig. 3.4 cas 2**). La valeur « haute » du potentiel de membrane est au niveau de la valeur du potentiel de membrane de la période contrôle tandis que la valeur « basse » atteint des valeurs plus négatives.

Cas 3 : Pour les cellules sans OLPM et qui acquièrent une OLPM+ pendant l'odeur (n = 4), les valeurs « haute » et « basse » de potentiel de membrane de la période odeur sont de part et d'autre du potentiel de membrane de la période contrôle (**Fig. 3.4 cas 3**). Le potentiel de membrane se met donc à osciller autour de la valeur de potentiel de membrane de la période contrôle. Ceci suggère que des mécanismes plus complexes qu'une simple excitation rythmique

de la dendrite apicale des cellules M/P participent à la mise en place des OLPM+ tels que des courants ioniques voltages-dépendants.

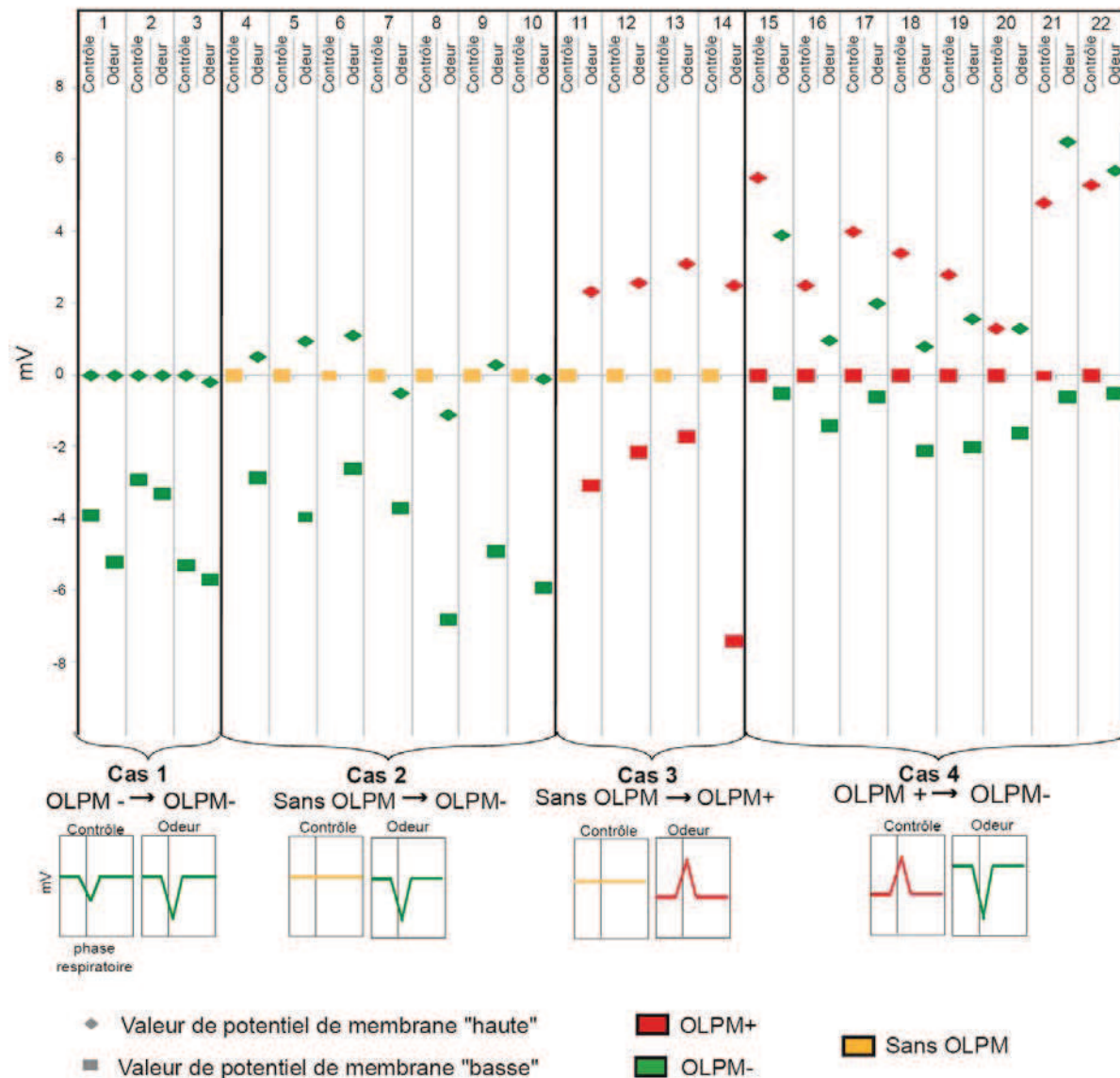


Figure 3.4: Les valeurs "hautes" et "basses" du potentiel de membrane des cellules M/P en fonction du type d'OLPM présent avant et pendant une stimulation odorante

Quatre cas ont été distingués :

Cas 1 : les cellules OLPM - avant et pendant odeur

Cas 2 : les cellules sans OLPM pendant la période contrôle et qui acquièrent une OLPM - pendant l'odeur

Cas 3 : les cellules sans OLPM pendant la période contrôle et qui acquièrent une OLPM + pendant l'odeur

Cas 4 : les cellules présentant une OLPM + pendant la période contrôle et une OLPM - pendant la période odeur.

Cas 4: Pour les cellules dont l'odeur évoque un changement de l'oscillation du type positif au type négatif ($n = 8$), nous observons que les valeurs « basses » de la période odeur sont plus négatives que les valeurs « basses » de la période contrôle (**Fig. 3.4 cas 4**). La modification du niveau « haut » par l'odeur est variable. Les valeurs « hautes » de la période odeur peuvent être plus négatives, égales ou moins négatives que celles de la période contrôle. Ces résultats nous permettent de suggérer que le changement de type d'OLPM reposerait sur un changement de l'excitation synaptique rythmique en inhibition ainsi que sur des mécanismes intrinsèques complexes.

Cette analyse apporte des arguments supplémentaires à une différence d'origine des différents types d'OLPM. Les OLPM+ et - seraient initiées par une excitation ou une inhibition synaptique rythmique des cellules M/P, respectivement. Des mécanismes intrinsèques tels que des courants voltage-dépendants permettraient de moduler l'oscillation.

3.2.2. Etude complémentaire des relations entre les oscillations lentes du potentiel de membrane et la respiration

Comme nous l'avons montré dans l'article, les OLPM sont fortement liées à la respiration avec un coefficient de corrélation de Pearson proche de 1. Même si les types des OLPM étaient déterminés grâce au signal intracellulaire moyenné sur un cycle respiratoire normalisé, les relations entre ces deux signaux n'ont pas été quantifiées. Lors de cette étude complémentaire, nous avons cherché à savoir si des relations spécifiques entre les OLPM et la respiration existaient et si elles étaient modulées par la présence d'une odeur et / ou les changements d'excitabilité intracellulaire.

3.2.2.1. Méthodes

Dans ce but, nous avons choisi de considérer la position du point le plus caractéristique de l'OLPM en fonction de son type comme repère temporel. Comme les OLPM+ passent le moins de temps aux valeurs de potentiel de membrane les plus positives, nous avons choisi de considérer le point dont la valeur est la plus positive comme référence (**Fig. 3.5**). Le même

raisonnement nous a conduit à considérer le point ayant le potentiel de membrane le plus négatif comme pertinent pour les OLPM-.

La détermination de la position relative des pics des OLPM a été réalisée par rapport aux différentes phases d'un cycle respiratoire normalisé. Afin de prendre en compte la variabilité des cycles respiratoires, le temps a été converti en phase à partir du nombre total de cycles respiratoires enregistrés lors de tous les enregistrements ($n = 161$) et non plus par rapport au nombre de cycle respiratoire de la période d'enregistrement uniquement. De manière analogue au « respiration-triggered membrane potential average » calculé dans l'article, le signal intracellulaire (auquel les potentiels d'action ont été soustraits) était moyenné sur ce cycle respiratoire normalisé (Fig. 3.5). A partir de ce signal intracellulaire moyenné sur le cycle respiratoire normalisé, nous avons détecté de manière automatique la position du point le plus positif pour les OLPM+ et celle du point le plus négatif pour les OLPM-.

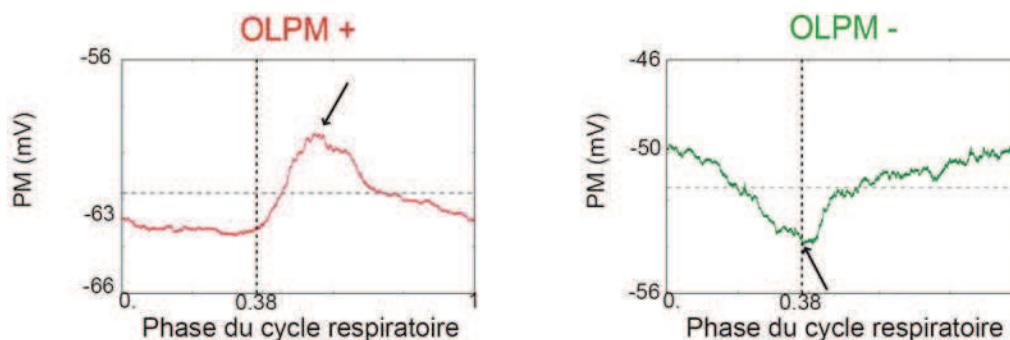


Figure 3.5 : Relations entre les OLPM et la respiration

Exemples de signaux intracellulaires moyennés sur le cycle respiratoire normalisé. Les deux exemples ont été obtenus pendant la période contrôle. Les flèches indiquent les points considérés comme correspondant au pic de l'oscillation. La ligne pointillée verticale indique la transition entre l'inspiration et l'expiration. La ligne pointillée horizontale indique la valeur moyenne du potentiel de membrane.

3.2.2.2. Résultats

Pendant la période contrôle, la quasi-totalité des pics positifs des OLPM+ se produit après la transition entre l'inspiration et l'expiration dont la position normalisée est de 0.38 unité de cycle respiratoire normalisé ($n = 10/11$; Fig. 3.6A). La position moyenne des pics des OLPM+

est située à 0.57 ± 0.10 unité de cycle respiratoire normalisé ($n = 11$), soit après le maximum de l'expiration (0.51 unité de cycle respiratoire normalisé, **Fig. 3.6A**). Les pics négatifs des OLPM-, quant à eux, se produisent soit à proximité de la transition entre l'inspiration et l'expiration (pour $n = 3/5$) soit après le maximum de l'expiration (pour $n = 2/5$). La position moyenne est de 0.44 ± 0.08 unité de cycle respiratoire normalisé ($n = 5$) soit entre la transition inspiration/expiration et le maximum de l'expiration. Le pic négatif moyen des OLPM- se produit donc à proximité du pic positif moyen des OLPM+. Les positions des pics des deux types d'oscillation n'apparaissent pas statistiquement différentes selon le test de Mann Whitney ($p = 0.087$).

Lors d'une stimulation odorante, les positions moyennes des pics des OLPM+ et des OLPM- sont de 0.57 ± 0.15 ($n = 7$) et 0.40 ± 0.06 unité de cycle respiratoire normalisé ($n = 18$), respectivement (**Fig. 3.6A**). Ces valeurs ne sont pas statistiquement différentes de celles de la période contrôle (Test de Mann Whitney : $p = 0.293$ pour OLPM + et $p = 0.407$ pour les OLPM-) mais apparaissent statistiquement différentes entre elles (Test de Mann Whitney : $p = 0.035$). Pour la majorité des cellules avec une OLPM avant et pendant la stimulation odorante ($n = 12/14$), l'odeur semble induire un décalage du pic des OLPM vers la transition entre l'inspiration et l'expiration (**Fig. 3.6B**). Même si en moyenne l'odeur ne semble pas influencer la relation des OLPM avec la respiration, le suivi des cellules tend à montrer que les pics des OLPM de la période odeur se centrent autour de la transition entre l'inspiration et l'expiration.

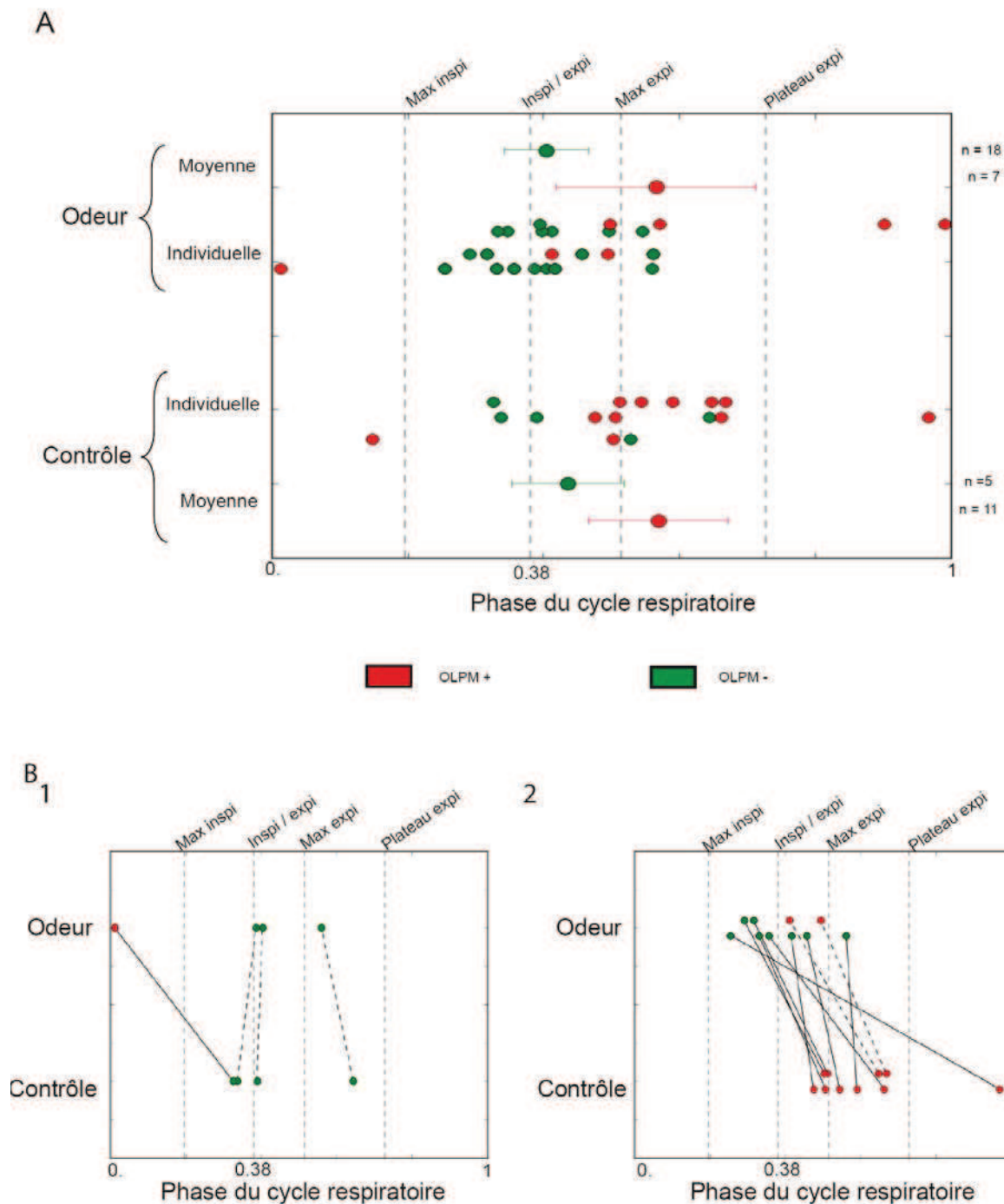


Figure 3.6 : Relations temporelles entre les OLPM et la respiration avant et pendant une stimulation odorante

- A) Positions individuelles et moyennes des pics des OLPM par rapport aux phases du cycle respiratoire avant et pendant une stimulation odorante. Les positions moyennes sont des moyennes circulaires et sont représentées avec l'écart-type circulaire. Max inspi : maximum de l'inspiration, Inspi / expi : transition entre l'inspiration et l'expiration ; Max expi : maximum de l'expiration ; Plateau expi : début du plateau de l'expiration.
- B) Positions des pics des OLPM avant et pendant odeur :
- 1) Pour les cellules possédant une OLPM- pendant la période contrôle et une OLPM- (n = 3 ; trait pointillé) ou une OLPM+ (n = 1 ; trait plein) pendant l'odeur.
 - 2) Pour les cellules possédant une OLPM+ pendant la période contrôle et une OLPM+ (n = 2 ; trait pointillé) ou une OLPM- (n = 8 ; trait plein) pendant l'odeur.

L'effet des changements d'excitabilité intracellulaire sur les relations temporelles entre les OLPM et la respiration a également été examiné (Fig. 3.7). Il est possible d'observer qu'une hyperpolarisation de plus en plus importante tend à rapprocher le pic des OLPM+ (qui est le type d'OLPM majoritaire dans ces conditions) de la transition entre l'inspiration et l'expiration. La dépolarisation du potentiel de membrane des cellules M/P, au contraire, ne semble pas influencer les relations temporelles entre les OLPM- et la respiration.

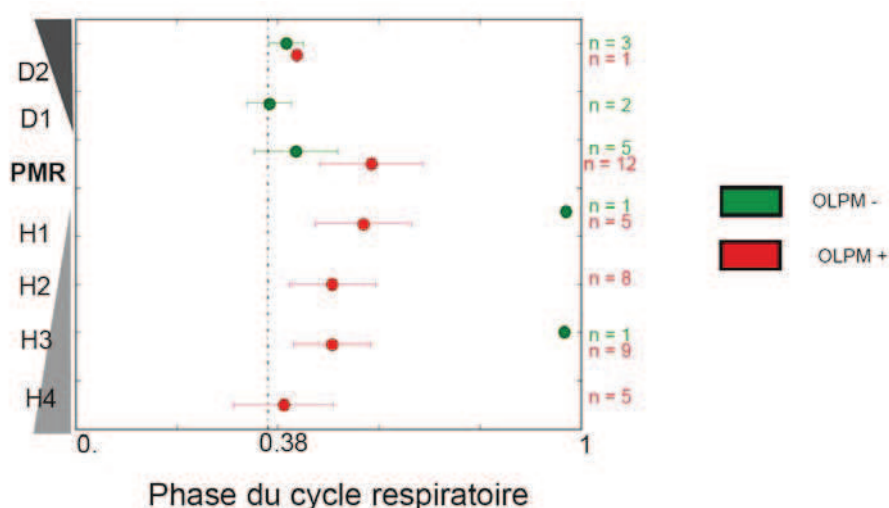


Figure 3.7 : Effets des changements d'excitabilité intracellulaire sur la position des pics des OLPM sur le cycle respiratoire normalisé.

Les états marqués H1 à H4 correspondent à des états de plus en plus hyperpolarisés. PMR correspond à l'état de repos et D1 et D2 à deux niveaux de dépolarisation.

Au cours de cette étude, nous avons mis en évidence que les pics des OLPM, qu'elles soient positives ou négatives, **se produisent préférentiellement dans une période allant du maximum de l'inspiration au début du plateau de l'expiration**. Par ailleurs, une modulation des relations des OLPM avec la respiration par les stimulations odorantes et les changements d'excitabilité intracellulaire semble pouvoir être envisagé même si la taille de notre échantillon ne nous permet pas d'observer d'effet significatif.

3.2.3. Relations entre les oscillations lentes intracellulaires et les oscillations lentes du potentiel de champ local : quelques résultats préliminaires

Selon l'hypothèse d'un codage par assemblée de neurones, le traitement de l'information ferait intervenir la mise en place de relations spécifiques entre: les oscillations du PCL, l'activité de décharge des cellules et les oscillations de leurs potentiels de membrane. Suite à notre première étude où des relations spécifiques entre les OLPM et l'activité de décharge des cellules M/P ont été mises en évidence, nous avons voulu savoir si les fluctuations de potentiel de membrane entretenaient également des relations spécifiques avec la modulation respiratoire du PCL bulbaire. Dans ce but, l'activité du PCL de la couche granulaire du bulbe olfactif était enregistrée de manière simultanée avec l'activité intracellulaire des cellules M/P.

Les aspects méthodologiques seront présentés dans une première section. La deuxième partie concernera l'étude des relations entre les OLPM et les oscillations du PCL. Lors de cette étude, les effets qu'une stimulation odorante peut avoir sur ces relations seront également examinés.

3.2.3.1. Méthodes

Enregistrements simultanés de l'activité intracellulaire et du potentiel de champ local

Le signal du PCL est acquis grâce à une électrode multi-site à 16 voies d'enregistrement (Neuronexus Technology, Ann Arbor, MI USA). Seuls les signaux de 2 voies sont acquis. L'électrode est placée dans la région médiane ou latérale du bulbe olfactif gauche, à proximité de l'électrode intracellulaire (**Fig. 3.8A**). Les puits d'enregistrement des deux voies sont positionnés dans la couche des cellules granulaires en se basant sur la profondeur de l'électrode et le signal du PCL. Nous avons choisi d'enregistrer l'activité de la couche des cellules granulaires pour 1) qu'une modulation respiratoire soit présente même en absence d'odeur et 2) que le signal du PCL ne soit pas superposé à une activité de décharge trop importante.

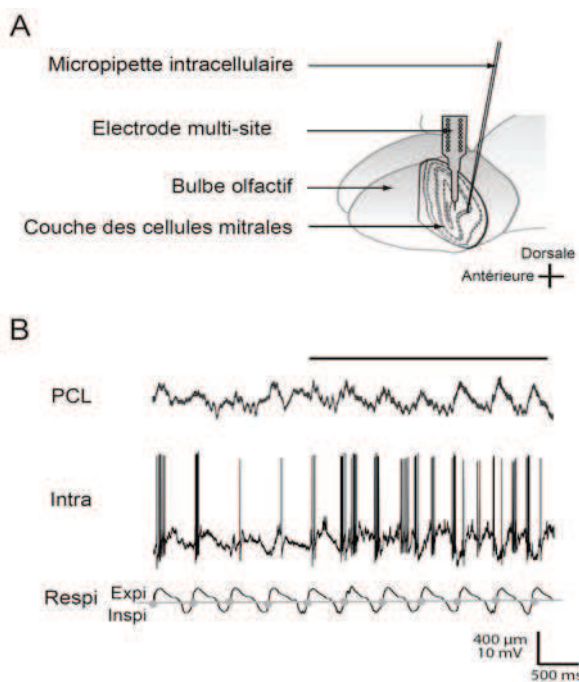


Figure 3.8 : Enregistrements simultanés des activités intra- et extracellulaires

- A) Représentation schématique de notre dispositif expérimental. Les 2 puits d'enregistrement de l'électrode multi-site sont positionnés dans la couche des cellules granulaires. La micropipette intracellulaire est placée à proximité de l'électrode multi-site dans la couche des cellules mitrales.
- B) Exemple d'enregistrements simultanés du PCL et de l'activité intracellulaire (Intra) d'une cellule M/P. La respiration (respi) est également présente. Les ronds gris marquent les transitions entre l'inspiration et l'expiration. Le trait noir situé au dessus des tracés correspond à la période de la stimulation odorante.

Suite à leur enregistrement, la qualité des signaux du PCL ainsi que leur localisation étaient vérifiées. L'exemple d'enregistrements de la **figure 3.8B** illustre un enregistrement typique du PCL réalisé dans la couche des cellules granulaires. En effet, une oscillation du PCL se produit avec une fréquence d'environ 2 Hz similaire aux fréquences de l'oscillation du potentiel de membrane et de la respiration, avant et pendant odeur.

Pour la suite des analyses, nous avons considéré l'activité de 23 cellules M/P accompagnées de leur PCL. L'étude des OLPM et de l'effet des stimulations odorantes pour cette population de cellules conduit à des résultats similaires à ceux de l'étude soumise pour publication.

Analyse des signaux

Fréquences: La fréquence de l'oscillation lente liée à la respiration du PCL a été déterminée avec la même méthodologie que celle utilisée pour le calcul de la fréquence des OLPM c'est-à-dire avec des analyses de transformée de Fourier rapide et d'auto-corrélation. Les corrélations entre les fréquences de la modulation respiratoire et les fréquences des OLPM et de la respiration ont été étudiées avec des coefficients de corrélation de Pearson.

Cross-corrélation : Dans le but de caractériser précisément les relations entre les OLPM et la modulation respiratoire du réseau, nous avons choisi d'utiliser la cross-corrélation entre ces deux signaux. Pour cela, l'équation suivante a été appliquée à nos données :

$$CC(\tau) = \left\langle \frac{(x(\tau + t) - \langle x \rangle)(y(t) - \langle y \rangle)}{\sigma_x \sigma_y} \right\rangle_t$$

Avec $CC(\tau)$: le cross-corrélogramme, une fonction de τ , τ : le temps de décalage ; t : le temps ; x : le signal intracellulaire dont les potentiels d'action ont été soustraits, y : le signal du PCL, $\langle \rangle$: la moyenne ; $\langle \rangle_t$: la moyenne sur la variable t et σ la déviation standard.

L'application de cette formule nous permet d'obtenir un cross-corrélogramme à partir duquel deux valeurs sont extraites : le coefficient de corrélation et la relation de phase (Fig. 3.9). Le coefficient de corrélation correspond à la valeur absolue de l'ordonnée du principal pic positif pour les OLPM+ ou négatif pour les OLPM-. La relation de phase, quand à elle, correspond à la valeur mesurée en abscisse de ce même point. Lorsque cette valeur est positive, le signal du PCL précède le signal intracellulaire alors qu'une valeur négative signifie que le signal intracellulaire devance celui du réseau.

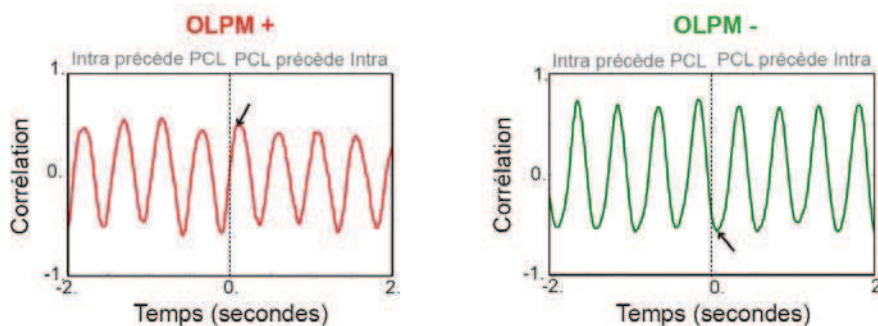


Figure 3.9 : Exemples de cross-corrélogrammes réalisés entre le signal extracellulaire et le signal intracellulaire pour une cellule présentant une OLPM + et pour une cellule présentant une OLPM -

Les flèches noires indiquent le point dont les coordonnées ont été relevées. La valeur absolue de l'ordonnée correspond au coefficient de corrélation. La valeur de l'abscisse correspond à la relation de phase. Lorsque cette valeur est positive, le signal du PCL précède le signal intracellulaire (Intra) alors qu'une valeur négative correspond à un signal intracellulaire précédant le signal du PCL.

3.2.3.2. Résultats

Fréquences

Pendant la période contrôle, la fréquence moyenne de la modulation respiratoire extracellulaire est de 2.01 ± 0.06 Hz ($n = 23$) ce qui n'est pas statistiquement différent de la fréquence moyenne mesurée pendant odeur (2.07 ± 0.07 Hz ; $n = 23$). Un récapitulatif des fréquences de la respiration, des OLPM et de la modulation respiratoire extracellulaire avant et pendant une stimulation odorante est présenté dans le **tableau 3.1**.

	Fréquence en Hz		Test statistique Contrôle vs Odeur
	Contrôle	Odeur	
Respiration	1.99 ± 0.06 ($n=23$)	2.05 ± 0.06 ($n=23$)	Ns Wilcoxon
OLPM	2.03 ± 0.05 ($n=13$)	2.07 ± 0.3 ($n=14$)	Ns Mann Whitney
OL du PCL	2.01 ± 0.06 ($n=23$)	2.07 ± 0.07 ($n=23$)	Ns Wilcoxon

Tableau 3.1 : Récapitulatif des différentes fréquences de la respiration, des OLPM et des oscillations lentes du bulbe olfactif avant et pendant une stimulation odorante
Abréviations : OL du PCL : oscillations lentes du PCL, Ns : non significatif

Les fréquences de la respiration, des OLPM et des oscillations lentes du PCL sont très fortement corrélées puisque les différents coefficients de corrélation de Pearson que nous avons calculé ont des valeurs relativement proches de 1 (**Tableau 3.2**).

	Respiration	OLPM	OL du PCL
Respiration		0.92 ($n = 14$)	0.94 ($n = 14$)
OLPM	0.86 ($n = 13$)		0.91 ($n = 14$)
OL du PCL	0.86 ($n = 13$)	0.97 ($n = 13$)	

Tableau 3.2 : Récapitulatif des coefficients de corrélation de Pearson entre les fréquences des oscillations lentes intracellulaires, extracellulaires et de la respiration avant (blanc) et pendant une stimulation odorante (rouge)

Corrélation entre les signaux intra- et extracellulaires

Afin de caractériser plus précisément les relations entre le signal intracellulaire et le signal simultané du PCL, nous avons utilisé la cross-corrélation. Cette analyse nous donne accès à un coefficient de corrélation entre les deux signaux et également à leur relation de phase.

Amplitude de la corrélation

Pendant la période contrôle, une corrélation entre les signaux intracellulaires et extracellulaires peut être observée que l'OLPM soit positive ou négative (Fig. 3.10A). Les valeurs moyennes de corrélation sont de 0.31 ± 0.05 pour les OLPM+ ($n = 9$) et de 0.36 ± 0.07 pour les OLPM- ($n = 4$). Elles ne sont pas statistiquement différentes selon le test de Mann Whitney ($p = 0.294$).

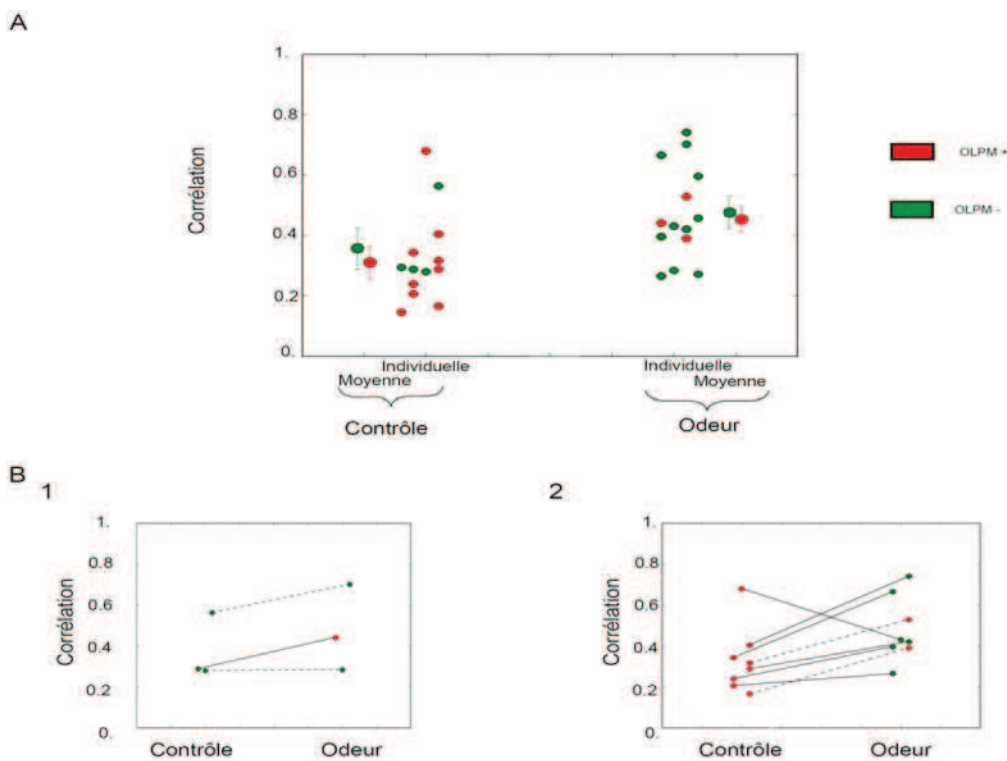


Figure 3.10 : Corrélation entre les signaux intracellulaires et extracellulaires avant et pendant une stimulation odorante

A) Coefficient de corrélation individuel et moyen par type d'oscillation avant et pendant une stimulation odorante. Les valeurs moyennes sont calculées avec $n = 9$ pour les OLPM+ et $n = 4$ pour les OLPM- pour le période contrôle et avec $n = 3$ pour les OLPM+ et $n = 11$ pour les OLPM- pour la période odeur

B) Suivie du coefficient de corrélation avant et pendant odeur pour :

- 1) Les cellules avec une OLPM- avant l'odeur et une OLPM- ($n = 2$; trait pointillé) ou une OLPM+ ($n = 1$; trait plein) pendant l'odeur
- 2) Les cellules avec une OLPM+ avant l'odeur et une OLPM+ ($n = 2$; trait pointillé) ou une OLPM- ($n = 6$; trait plein) pendant l'odeur.

Pendant la période odeur, le coefficient de corrélation moyen atteint $0,45 \pm 0,04$ pour les OLPM+ ($n = 3$) et $0,47 \pm 0,05$ pour les OLPM- ($n = 11$; **Fig. 3.10A**). Cet effet de l'odeur apparaît statistiquement significatif pour les OLPM+ (Test de Mann Whitney : $p = 0.048$) mais non significatif pour les OLPM- (Test de Mann Whitney : $p = 0.198$). Comme lors de la période contrôle, la différence entre les deux types d'OLPM est non significative selon le test de Mann Whitney ($p = 0.500$)

Lorsque l'effet d'une stimulation odorante est plus spécifiquement observé pour chaque cellule M/P possédant une OLPM avant et pendant la stimulation odorante, une augmentation du coefficient de corrélation est retrouvée pour la grande majorité des cellules (9/11 ; **Fig. 3.10 B et C**).

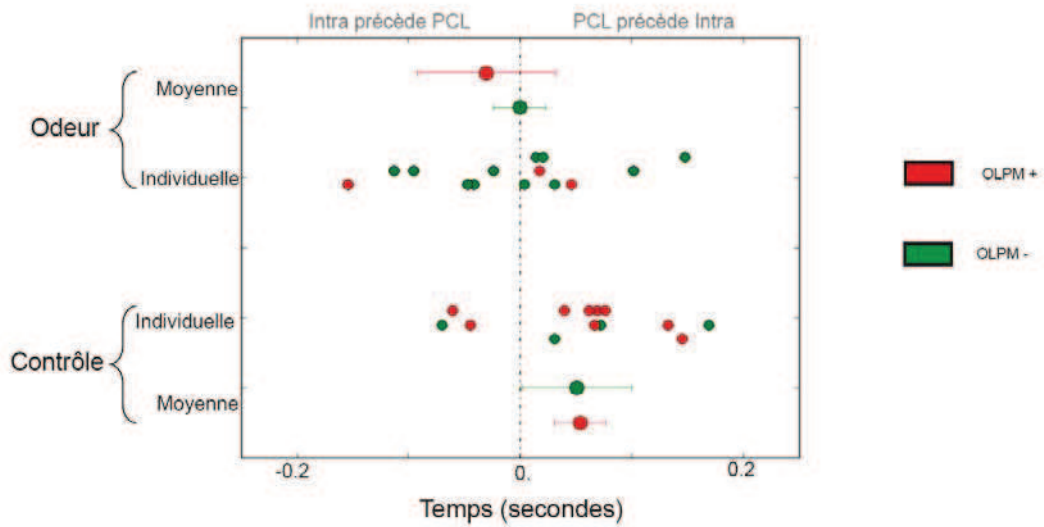
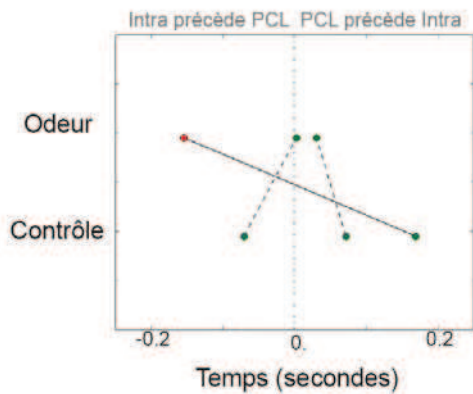
Phase de la corrélation

Pendant la période contrôle, le signal du PCL précède le signal intracellulaire dans la plupart des cas (10/13 ; **Fig. 3.11A**). En moyenne, les signaux intracellulaires portant une OLPM+ ont une relation de phase de $0,054 \pm 0,023$ seconde avec le PCL simultanément ($n = 9$; **fig. 3.11A**). Les signaux présentant une OLPM-, quand à eux, ont une relation de phase de $0,051 \pm 0,049$ seconde avec le signal extracellulaire ($n = 4$). La forme de l'oscillation ne semble pas influencer la relation de phase avec le PCL puisque la différence n'est pas significative selon le test de Mann Whitney ($p = 0.469$).

Pendant la période odeur, nous observons quasiment autant de relations de phases négatives ($n = 6/14$) que positives ($n = 8/14$) entre les signaux intra- et extracellulaires. La relation de phase moyenne est de 0.000 ± 0.023 seconde pour les cellules avec une OLPM- ($n = 11$) ce qui n'apparaît pas statistiquement différent de la période contrôle (Test de Mann Whitney : $p = 0.148$; **Fig. 3.11A**). Les OLPM+ sont peu présentes pendant l'odeur ($n = 3$) et, tout comme pour les OLPM-, leurs relations de phase avec le PCL est très variable.

Pour les cellules possédant une OLPM avant et pendant la stimulation, l'odeur semble influencer la relation de phase entre les signaux intra- et extracellulaires mais il apparaît difficile d'observer un effet reproductible (**Fig. 3.11 B et C**).

A

B₁

2

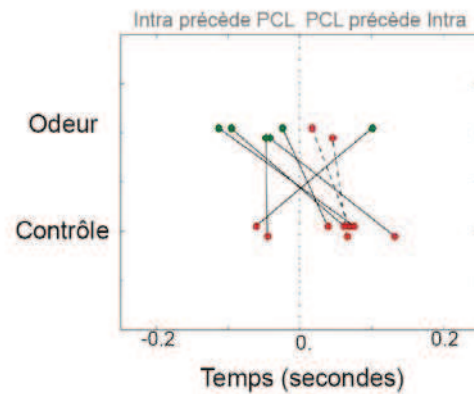


Figure 3.11 : Relations de phase entre les signaux intracellulaires et extracellulaires avant et pendant une stimulation odorante

A) Relation de phase individuelle et moyenne par type d'oscillation avant et pendant une stimulation odorante. Les différentes moyennes sont calculées avec le même nombre de valeur que celles de la figure 3.10A.

B) Relation de phase entre les signaux intra- et extracellulaires avant et pendant odeur :

1) Pour les cellules avec une OLPM- pendant la période contrôle et OLPM- (n = 2 ; trait pointillé) ou OLPM+ (n = 1 ; trait plein) pendant l'odeur.

2) Pour les cellules possédant une OLPM+ pendant la période contrôle et une OLPM+ (n = 2 ; trait pointillé) ou une OLPM- (n = 6 ; trait plein) pendant l'odeur.

Avec cette étude préliminaire, il apparaît **qu'une stimulation odorante améliore la corrélation entre les activités intra- et extracellulaires et semble pouvoir influencer leurs relation de phase.**

3.2.4. Étude préliminaire des activités fines de décharge en fonction des associations « patrons respiratoires de décharge/OLPM »

Au cours de l'étude soumise pour publication, nous avons mis en évidence l'existence de relations étroites entre les OLPM exprimées par une cellule et son activité de décharge. Plus particulièrement, nous avons montré que l'expression du patron de décharge de type S- est toujours associée avec la présence d'une OLPM- tandis que le patron de décharge de type S+ peut être associé à une OLPM silencieuse, à une OLPM+ ou à une OLPMc. Nous n'avons pas abordé, dans la publication, la question du type d'activité de décharge. En effet, il est possible de distinguer différents types d'activité fine de décharge (Fig. 3.12A) :

1) l'activité de décharge « bursting », en salve de potentiels d'action se greffant à une dépolarisation caractéristique du potentiel de membrane et

2) l'activité de décharge « beating », en potentiels d'action isolés.

Nous nous sommes demandé si l'expression des deux types d'activité fine de décharge était influencée par l'association spécifique d'un patron de décharge synchronisé à la respiration et d'une OLPM. Nous avons alors étudié la distribution sur le cycle respiratoire des activités de décharge « beating » d'une part et celle de l'activité de décharge « bursting » d'autre part, et ce en fonction de l'association patron de décharge / OLPM portée par la cellule.

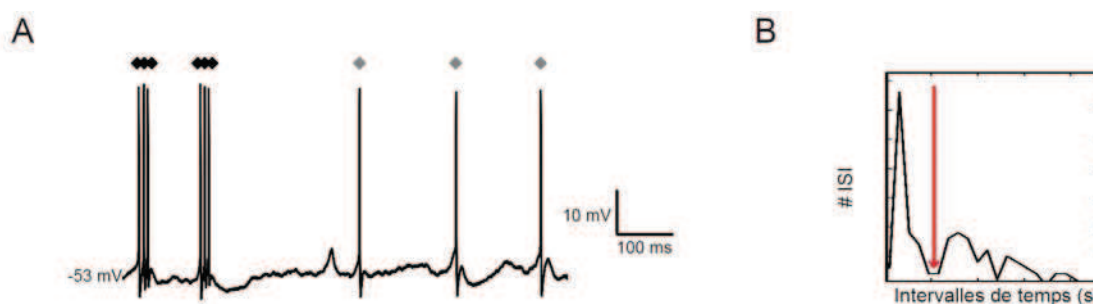


Figure 3.12 : Les activités fines de décharge

- A) Exemple d'enregistrement intracellulaire sur lequel les deux types d'activité fine de décharge peuvent être observés. Les potentiels d'action appartenant à une activité « bursting » sont surmontés d'un losange noir. Les potentiels d'action isolés, formant l'activité de type « beating », sont indiqués par des losanges gris.
- B) Histogramme de distribution des intervalles inter-potential d'action (ISI). La flèche rouge indique le temps pris pour séparer l'activité de décharge « bursting » de l'activité de décharge « beating ».

3.2.4.1. Méthodes

Pour réaliser cette étude, nous avons dû différencier les potentiels d'action isolés des potentiels d'action en « burst ». Cette différenciation a été réalisée sur la base d'une différence d'intervalles inter-potentiels d'action (ISI). En effet, ces intervalles sont plus courts entre des potentiels d'action appartenant à un « burst » qu'entre des potentiels d'action isolés. Le temps utilisé pour différencier les deux activités de décharge était déterminé sur des histogrammes d'ISI (**Fig. 3.12B**). Il correspondait au temps séparant le pic des valeurs basses des autres valeurs d'ISI. Ce temps était déterminé spécifiquement pour chaque période d'enregistrement puis vérifié sur les enregistrements bruts. Un « burst » devait contenir au minimum deux potentiels d'action. Une fois la différenciation des deux types d'activité réalisée dans notre base de données, nous avons représenté les données sous deux formes :

- 1) Une représentation par cycles respiratoires successifs (type « raster ») en symbolisant différemment les potentiels d'action isolés (losange gris) et les potentiels d'action appartenant à un « burst » (losange noir) (exemple sur la **Fig. 3.13A**)
- 2) Une représentation en histogramme. Dans ce cas, trois histogrammes de distributions des potentiels d'action sur le cycle respiratoire étaient construits : un premier représentant uniquement les potentiels d'action appartenant à un « burst », un second représentant uniquement les potentiels d'action isolés et un regroupant les deux types de décharge. Ces histogrammes individuels présentant des caractéristiques communes pour les cellules présentant la même association « patron de décharge/OLPM », des histogrammes moyens ont été réalisés. Pour cela, le taux de décharge de chaque neurone le long de son cycle respiratoire moyen a été calculé, puis aligné sur un cycle respiratoire normalisé pour être moyenné avec ceux des autres neurones possédant la même association. Cette représentation a comme précédemment été faite en utilisant les potentiels d'actions en « burst » uniquement, ou ceux isolés, ou les deux (**Fig. 3.13B**).

3.2.4.2. Résultats

Pour cette étude préliminaire, nous avons uniquement considéré les cellules M/P présentant les patrons de décharge S+ associés à des OLPM+ et celles présentant l'association S-

/OLPM- de l'ensemble de nos données. Le nombre de cellules en fonction de l'association « patron de décharge/OLPM » pris en compte pour cette étude est reporté dans le **tableau 3.3**.

Association patron/OLPM	Contrôle	Odeur
S+/OLPM+	3	4
S-/OLPM-	1	6

Tableau 3.3 : Nombre de cellules prises en compte en fonction de l'association « patron de décharge/OLPM » pendant la période contrôle et la période odeur.

Pour l'association « patron de décharge S+ / OLPM+ », l'activité de décharge de type « bursting » est prédominante par rapport à l'activité de type « beating » en période contrôle (n = 3) comme en période odeur (n = 4; Fig. 3.13). Les potentiels d'action inclus dans des « bursts » se produisent préférentiellement dans une période comprise entre le maximum de l'inspiration et le maximum de l'expiration.

Pour l'association « patron de décharge S- / OLPM- », les potentiels d'action appartenant à un « burst » ainsi que les potentiels d'action isolés sont localisés à la fin de l'expiration et pendant l'inspiration. Ils se positionnent donc de part et d'autre du pic de l'OLPM- et ce avant (n = 1) comme pendant la stimulation odorante (n = 6 ; Fig. 3.13).

La présence d'une OLPM+ associée au patron S+ pourrait spécifiquement privilégier l'activité de type « bursting ». La présence d'une OLPM-, en revanche, ne semble pas favoriser un type de décharge fine plutôt qu'une autre. Ces résultats ne sont toutefois que préliminaires car le nombre de cas reste trop limité pour faire une analyse statistique et des analyses complémentaires doivent être envisagées.

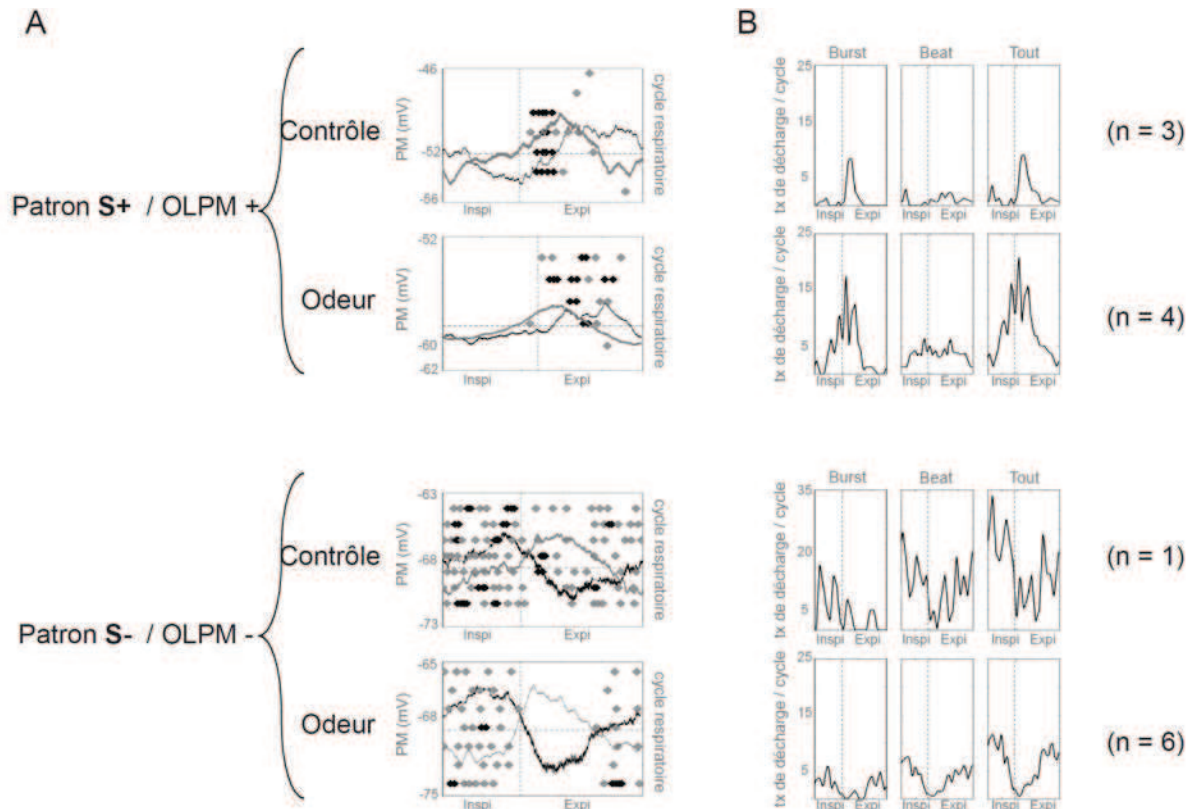


Figure 3.13 : Présence et localisation des activités fines de décharge sur le cycle respiratoire en fonction des associations spécifiques entre patrons respiratoires de décharge et les OLPM

A) Exemples de schéma représentant la position des potentiels d'action appartenant à un « burst » (losanges noirs) et celles des potentiels d'action isolés (losanges gris) sur le cycle respiratoire et par cycle respiratoire successif. Ces représentations sont accompagnées par les signaux intracellulaires (noir) et extracellulaires (gris) moyennés sur le cycle respiratoire normalisé. La ligne pointillée verticale représente la transition entre l'inspiration et l'expiration alors que la ligne horizontale correspond au potentiel de membrane moyen du signal intracellulaire.

B) Histogrammes des taux de décharge par cycle respiratoire en période contrôle et en période odeur pour les associations S+/OLPM+ et S-/OLPM-. Pour chacune de ces associations, trois histogrammes sont construits : un avec uniquement les potentiels d'action appartenant à un « burst » (Burst), un avec uniquement les potentiels d'action isolés (Beat) et un dernier avec tous les potentiels d'action (Total). Le nombre de cellules considérées est précisé à droite de chaque histogramme.

4. Discussion générale

4.1. Synthèse des principaux résultats

L'objectif principal de cette thèse était de caractériser en détail les oscillations lentes du potentiel de membrane (OLPM) des cellules M/P et d'examiner les relations qu'elles pouvaient entretenir avec l'activité de décharge et l'activité du réseau bulbaire se produisant au rythme de la respiration. De plus, les modifications de ces relations lors des stimulations odorantes devaient également être étudiées.

Pour la première fois, plusieurs types d'OLPM ont été différenciés : un type positif (OLPM+), un type négatif (OLPM-) et un type complexe (OLPMc). Les OLPM portées par une cellule sont apparues sensibles à la fois aux stimulations odorantes et aux changements d'excitabilité intracellulaire. En effet, une stimulation odorante influence l'amplitude des OLPM, augmente la proportion de cellules avec une OLPM et favorise l'expression du type négatif. Les changements d'excitabilité nous ont permis de démasquer l'existence d'OLPM silencieuses. Nous avons également montré que les OLPM+ et - entretiennent d'étroites relations temporelles avec la respiration. Ces relations sont modulées par les stimulations odorantes de telle sorte que les pics des OLPM se produisent autour de la transition entre l'inspiration et l'expiration.

Par ailleurs, les OLPM entretiennent des relations spécifiques avec l'activité de décharge. En effet, les patrons de décharge non synchronisés à la respiration ne sont jamais associés à une OLPM alors que la synchronisation de l'activité de décharge à la respiration est contrainte par la présence d'une OLPM particulière. Afin d'explorer les possibles conséquences fonctionnelles que peuvent avoir l'association spécifique d'un patron et d'une OLPM, une étude de l'activité fine de décharge a été débutée. Même si elle doit être étendue à l'ensemble des patrons de décharge et que le nombre de cellules doit être augmenté, les résultats préliminaires suggèrent que l'association S+/OLPM+ permet de privilégier la présence de « bursts » de potentiels d'action spécialement autour de la transition entre l'inspiration et l'expiration. Comme nous le verrons plus tard, cette activité pourrait avoir des conséquences pour la transmission synaptique des cellules M/P.

Enfin, l'étude préliminaire des relations entre les OLPM et les oscillations du PCL met en évidence, pour la première fois au niveau du bulbe olfactif, que la présence d'une odeur améliore la corrélation entre les deux signaux. Les résultats concernant la relation de phase entre les OLPM et l'activité de réseau sont variables et nécessitent la mise en place d'analyses

complémentaires. Cependant, cette relation de phase entre les deux signaux semble pouvoir être influencée par la présence d'une odeur.

L'ensemble de ces résultats met donc en évidence l'existence de relations complexes entre les OLPM, les patrons respiratoires de décharge et les oscillations lentes du PCL. Ces relations apparaissent influencées, de façon spécifique, par les stimulations odorantes. De plus, la voltage-dépendance observée pour certaines, permet de suggérer qu'elles peuvent être spécifiquement ajustées grâce au niveau d'excitabilité de la cellule. Une discussion des principaux résultats et leur intégration à un schéma du codage spatio-temporel de l'odeur sont proposés dans la discussion de l'article soumis pour publication. Certains résultats complémentaires, venant étayer ces conclusions, seront brièvement replacés dans leur contexte notamment vis-à-vis de l'origine de la dynamique lente du bulbe olfactif. Puis, nous discuterons des implications fonctionnelles possibles de la distribution spécifique, sur le cycle respiratoire, de l'activité fine de décharge en fonction des associations « patron de décharge / OLPM ».

4.2. Origine du rythme lent du bulbe olfactif

Comme nous l'avons mentionné dans la discussion de l'article, la dynamique lente du bulbe olfactif possède principalement une origine périphérique. Plus particulièrement, les OLPM seraient initiées par une entrée périphérique et modelées par une composante intrinsèque. Nos analyses complémentaires viennent étayer ces conclusions.

L'entraînement par la périphérie des activités du bulbe olfactif est illustré par le maintien de relations temporelles spécifiques entre la respiration et les OLPM des cellules M/P. En effet, nous montrons que les pics des OLPM sont centrés autour de la transition entre l'inspiration et l'expiration pendant la stimulation odorante. De plus, cette relation de phase particulière au niveau de la transition entre l'inspiration et l'expiration est également observée pour l'activité de décharge et l'activité de réseau. Par exemple, l'augmentation ou la diminution de la décharge des patrons S+ et S-, respectivement, se produisent autour de la transition entre l'inspiration et l'expiration (Chaput *et al.*, 1992).

Par ailleurs, nous avons également proposé, dans la discussion de l'article, que l'origine périphérique des OLPM+ et - serait, respectivement, directe et indirecte. Les OLPM+ seraient initiées par des dépolarisations rythmiques de la dendrite apicale tandis que les OLPM- seraient permises par des inhibitions latérales. Les résultats de l'étude complémentaire sur les niveaux

de potentiel entre lesquels le potentiel de membrane oscille viennent corroborer cette proposition.

Pour les cellules dont l'OLPM+ est évoquée par l'odeur, nous avons observé que le niveau « haut » de ces OLPM est plus dépolarisé que le potentiel de membrane de la période contrôle (Cas 3 de la figure 3.4 des résultats). Ce comportement renforce donc l'idée qu'une dépolarisation synaptique serait à l'origine de la phase ascendante des OLPM+. Toutefois, il ne peut pas être exclu que d'autres courants ioniques participent au développement de l'oscillation.

La possibilité que l'initiation de l'OLPM- se fasse par une inhibition latérale est soutenue par l'observation que les valeurs « basses » de potentiels sont plus hyperpolarisées pendant l'odeur que pendant la période contrôle, et cela que la cellule soit sans OLPM ou avec une OLPM- avant l'odeur (Cas 1 et 2 de la figure 3.4 des résultats).

Néanmoins, les mécanismes permettant chaque type d'OLPM (excitation directe ou inhibition indirecte) ne sont peut être pas aussi exclusifs. D'autres mécanismes peuvent être proposés. Par exemple, une modulation de la durée de l'état « haut », lors d'une stimulation, a été proposée dans le cortex visuel de chat (Anderson *et al.*, 2000 ; Anderson *et al.*, 2001). Dans ce cas, la cellule reçoit à la fois des entrées excitatrices et des entrées inhibitrices. L'importance relative de ces deux conductances évoluerait dans le temps en modelant les fluctuations du potentiel de membrane. Cette possibilité apparaît particulièrement pertinente pour les cellules recevant des entrées sensorielles réduites (Zhang & Sun, 2011). Elle pourrait donc être envisagée pour les cellules M/P appartenant à des colonnes glomérulaires faiblement activées. Afin d'étayer une telle possibilité, il serait intéressant d'envisager une étude reposant, par exemple, sur l'utilisation d'un modèle de cellules mitrales dont le décours temporel de la balance entre les excitations et les inhibitions serait spécifiquement modulé.

La participation d'une composante intrinsèque est, quant à elle, étayée par certains résultats complémentaires. Par exemple, l'observation des niveaux « bas » de potentiel des cellules M/P du cas 3 de la figure 3.4 des résultats (où une OLPM+ est évoquée par l'odeur), nous permet de proposer la participation de courants voltage et / ou calcium-dépendants. En effet, si l'OLPM était uniquement permise par une dépolarisation synaptique, les niveaux « bas » de potentiel devraient présenter des valeurs similaires aux potentiels de membrane de repos. Or, nous observons que ces valeurs « basses » de potentiel sont plus hyperpolarisées que le potentiel de repos ce qui suggère que des courants hyperpolarisants portent le potentiel de membrane à des valeurs plus négatives.

4.3. Implications possibles des activités fines de décharge dans le codage de l'information olfactive

Après avoir montré l'existence de relations spécifiques entre un patron de décharge et un type d'OLPM, nous nous sommes demandé quelles pouvaient en être les conséquences fonctionnelles. Notre attention s'est alors portée sur les activités fines de décharge « bursting » et « beating ». A la vue des répercussions fonctionnelles importantes qu'elles pouvaient présenter (Lisman, 1997 ; Sherman, 2001 ; Izhikevitch, 2007), il nous est paru intéressant d'en discuter ici.

Lors de notre étude complémentaire, nous mettons en avant que l'association du patron de décharge S+ avec une OLPM+ privilégie l'émission de « bursts » de potentiels d'action autour de la transition entre l'inspiration et l'expiration alors que les potentiels d'action isolés ont une distribution éparpillée sur le cycle respiratoire.

Pour les cellules S-/OLPM-, les deux types de décharge sont présents lors de la période « haute » de l'oscillation.

Par ailleurs, la majorité des cellules sans OLPM, dont un enregistrement est présenté sur la **figure 4.1**, ne présentent que peu ou pas de « burst » de potentiels d'action. L'activité de décharge de type « beating » prédomine pour ces cellules. Ces observations doivent cependant être confirmées par des analyses complémentaires sur un plus grand échantillon de cellules et pour tous les patrons de décharge.

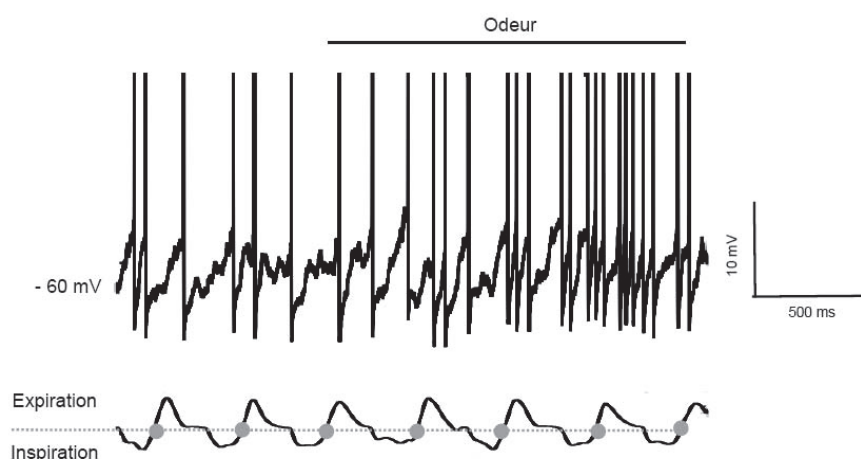


Figure 4.1. Enregistrement intracellulaire illustrant la faible présence de l'activité de décharge « bursting » pour une cellule sans OLPM et une activité de décharge non synchronisée à la respiration.

Les potentiels d'action ont été tronqués.

Ces résultats préliminaires nous permettent tout de même de suggérer que l'association spécifique d'un patron de décharge et d'une OLPM entraînerait une distribution particulière, sur le cycle respiratoire, des activités fines de décharge et plus particulièrement de l'activité « bursting ».

Notre intérêt s'est plus spécialement porté sur le type de décharge « bursting » car un certain nombre d'études tendent à montrer son importance dans la transmission de l'information.

Tout d'abord, ce mode de décharge permettrait une transmission synaptique facilitée et plus fiable que l'activité de type « beating ». De telles caractéristiques ont, par exemple, été mises en évidence lors d'études réalisées sur tranches isolées d'hippocampe, de néocortex ou de thalamus (Miles, 1990 ; Thomson *et al.*, 1993 ; Kim & McCormick, 1998). Elles correspondent au fait que des « bursts » de potentiels d'action entraînent toujours une réponse du neurone post-synaptique ce qui n'est pas le cas des potentiels d'action isolés. De plus, une stimulation induisant un même nombre de potentiels d'action entraîne une plus grande réponse de l'élément post-synaptique si les potentiels d'action sont superposés à une dépolarisation du potentiel de membrane similaire à celle sous-jacente aux activités « bursting ». Des techniques basées sur la théorie de détection du signal viennent également conforter l'idée que l'activité « bursting » permettrait d'augmenter la capacité de détection de l'activité pré-synaptique par le neurone post-synaptique Ceci serait permis par le fait que les « bursts » induisent un rapport signal sur bruit plus important que l'activité de décharge « beating » (Sherman, 2001).

Au sein du bulbe olfactif, l'activité « bursting » semble posséder ces caractéristiques de fiabilité et facilitation synaptique. En effet, il apparaît, d'une part, que ce mode de décharge permet une propagation plus fiable des potentiels d'action le long des dendrites latérales (Debarbieux *et al.*, 2003). D'autre part, les « bursts » de potentiels d'action ainsi que la variation de concentration de calcium accompagnant l'OLPM ont été montrés pour faciliter la libération de glutamate par les dendrites latérales (Isaacson & Strowbridge, 1998). Ces caractéristiques de fiabilité et facilitation pourraient, entre autres, permettre aux cellules S+/OLPM+ d'entraîner une activation importante et fiable des cellules granulaires. Cette activation pourrait efficacement induire une inhibition latérale des cellules M/P voisines. Comme nous l'avons proposé lors de la discussion de l'article, cette inhibition latérale participerait à la formation de colonne inhibée (fig. 7 de l'article).

Ensuite, les cellules pyramidales du cortex piriforme, cibles des cellules M/P, semblent posséder les capacités de détection adaptées pour recevoir l'information portée par les « bursts » de potentiels d'action des cellules S+/OLPM+. Ceci peut être soutenu par le fait que ces

cellules pyramidales possèdent des oscillations lentes de leur potentiel de membrane liées à la respiration (Wilson, 1998, Fontanini *et al.*, 2003). Ces oscillations permettent de porter le potentiel de membrane de la cellule à proximité du seuil de déclenchement des potentiels d'action autour de la transition entre l'inspiration et l'expiration et donc au moment de la décharge des cellules S+/OLPM+ du bulbe olfactif. Par ailleurs, les cellules pyramidales du cortex piriforme antérieur présentent une fenêtre d'intégration d'une vingtaine de millisecondes rendant l'activité « bursting » particulièrement pertinente pour entraîner une réponse des cellules pyramidales (Franks & Isaacson, 2006 ; Poo & Isaacson, 2009).

Un argument rendant également l'activité « bursting » particulièrement pertinente, repose sur la capacité de ce type de décharge à induire une potentialisation ou une dépression synaptique à long terme. En effet, sur tranches isolées d'hippocampe, un « burst » de potentiels d'action est capable d'induire une potentialisation à long terme de la synapse lorsqu'il est évoqué au sommet de l'oscillation thêta (Huerta & Lisman, 1995). Quand il est évoqué au moment du creux de l'oscillation, une dépression à long terme de la synapse est observée. La plasticité synaptique découlant de cette capacité pourrait avoir des conséquences intéressantes dans le fonctionnement du bulbe olfactif, par exemple lors d'apprentissage olfactif (Wilson *et al.*, 2004).

Dans le bulbe olfactif, la position de l'activité « bursting » sur le cycle respiratoire, pour les cellules S+ et S-, ne paraît pas anodine et pourrait avoir d'éventuelles implications fonctionnelles.

Pour les cellules S+/OLPM+, la période d'émission de potentiels d'action coïncide temporellement avec celle pendant laquelle surviennent les oscillations gamma du PCL (Buonviso *et al.*, 2003). Les OLPM+ contraindraient spécifiquement l'activité de décharge « bursting » des cellules S+ et pourraient donc participer à la mise en place de leur relation de phase particulière avec les cycles de l'oscillation gamma (Cenier *et al.*, 2009 ; David *et al.*, 2009). L'assemblée formée par ces cellules S+ en relation de phase avec les oscillations gamma du réseau pourraient spécifiquement participer au transfert de l'information au cortex piriforme (Litaudon *et al.*, 2008 ; Cenier *et al.*, 2009).

Les « bursts » de potentiels d'action des cellules S-, quant à eux, se produisent de la fin de l'expiration à l'inspiration. Les OLPM- sous-jacente permettent donc à la décharge de type « bursting » de se produire dans une fenêtre de temps similaire de celle des oscillations beta du réseau (Buonviso *et al.*, 2003). Or, l'activité de décharge des cellules S- entretient des relations de phase particulière avec ces oscillations beta (Cenier *et al.*, 2009). Une hypothèse sur l'implication fonctionnelle de ces relations peut alors être avancée. Les oscillations beta ont été

proposées comme support de processus cognitifs spécifiques tel que l'apprentissage (Martin *et al.*, 2004). L'information, portée par les « bursts » des cellules S-/OLPM-, pourrait être spécifiquement transmise aux neurones des structures participant à ces processus d'apprentissage telles que le cortex entorhinal ou l'amygdale. Une telle hypothèse pourrait être étayée par le fait que ces neurones devraient posséder des propriétés intrinsèques de résonance pour la gamme de fréquence du beta (Izhikevich *et al.*, 2003). Ces propriétés leur conféreraient la capacité de détecter spécifiquement l'activité des cellules S-. Or, il a été mis en évidence, *in vitro*, l'existence d'oscillations sous-liminaire à la fréquence beta pour les cellules du cortex entorhinal et celle de l'amygdale (Alonzo & Klink, 1993 ; Sanhueza Bacigalupa *et al.*, 2005). Cette caractéristique place donc ces cellules comme détecteurs possibles des potentiels d'action des cellules S-/OLPM-. Afin d'étayer davantage cette hypothèse, il serait intéressant de regarder si les « bursts » de potentiels d'action se produisent à une fréquence beta pour les cellules S-/OLPM-.

L'activité de décharge de type « bursting » apparaît particulièrement pertinente pour les cellules dont les patrons S+ et S- sont associés à une OLPM. Elle ne forme toutefois pas le seul mode de décharge de ces cellules puisqu'une activité de type « beating » est également présente. La question de savoir si l'activité de décharge en potentiels d'action isolés des cellules M/P forme un bruit ou porte une information différente de l'activité de type « bursting » reste pour l'instant sans réponse.

4.4. Risques liés à la complexité des outils d'analyse utilisés

Au cours de ce travail de thèse, nous nous sommes notamment attachés à déterminer les relations temporelles que les OLPM établissent d'une part avec la respiration et d'autre part avec le PCL. Lors de ces analyses, des relations temporelles assez variables ont été observées et l'effet de l'odeur observé s'est révélé moins puissant que celui que nous pouvions naïvement envisager. Par exemple, nous nous attendions à ce que les décalages de phases entre les signaux intra- et extracellulaires soient restreints dans une petite fenêtre de temps et non répartis sur près de 400 ms.

En ce qui concerne l'étude des relations de phase entre les signaux intra- et extracellulaires, des expériences et des analyses complémentaires doivent être envisagées afin de s'assurer que la variabilité ne correspond pas à un biais expérimental. Par exemple, l'utilisation d'une cross-corrélation est une méthode adaptée à l'utilisation de signaux

sinusoïdaux. Il faudrait donc vérifier que le fait que les OLPM ne soient pas complètement sinusoïdales ne perturbe pas le calcul. Un autre point qui doit être vérifié est le fait que l'activité lente du bulbe olfactif conserve la même phase dans toutes les zones du bulbe olfactif. Ceci peut être facilement réalisé en calculant la relation de phase entre deux signaux du PCL enregistrés simultanément dans des régions différentes du bulbe olfactif. Avec ce calcul, nous nous assurerions que la relation de phase mesurée correspond bien à la relation de phase entre l'activité intracellulaire et du réseau et non entre deux localisations dans le bulbe olfactif dû à l'espace séparant nos deux électrodes d'enregistrement.

Par ailleurs, la variabilité des valeurs obtenues aussi bien pour les relations temporelles des OLPM avec la respiration qu'avec le PCL, pourrait être induite par le signal intracellulaire utilisé. En effet, il s'est révélé assez complexe d'analyser les fluctuations du potentiel de membranes des cellules M/P en se détachant de l'activité de décharge. Pour les analyses présentées au cours de cette thèse, nous avons choisi de considérer le signal intracellulaire dont les potentiels d'action ont été soustraits. Ce choix nous a paru le plus adapté notamment à la vue de la déformation importante du signal soumis à un filtre suffisamment puissant pour s'affranchir des potentiels d'action. Toutefois, il entraîne peut être un biais dans la détection de phase puisqu'il peut légèrement déformer le signal spécialement pour les cellules S+/OLPM+ où les potentiels d'action se trouvent au sommet de l'oscillation. Afin de réduire au maximum ce biais, il pourrait être intéressant de mettre en place une méthode plus fine d'extraction des potentiels d'action (Monier *et al.*, 2008).

4.5. Perspectives

Les oscillations lentes du potentiel de membrane semblent jouer un rôle primordial dans le traitement de l'information olfactive. Sur l'échelle de temps du cycle respiratoire, les OLPM contribueraient à la mise en place de relations spécifiques entre les potentiels d'action et l'activité de réseau. Ces relations seraient plus finement ajustées grâce à des mécanismes intervenant sur une échelle de temps rapide (Laurent *et al.*, 2001). Dans diverses aires corticales, des oscillations sous-liminaire rapides ont été proposées pour permettre une précision temporelle fine des potentiels d'action (Llinas, 1988). Les interactions entre ces oscillations intracellulaires et les entrées synaptiques fourniraient un moyen efficace de synchroniser les neurones dans des assemblées oscillantes (Connors & Amitai, 1997 ; Ritz & Sejnowski, 1997 ; Uhlass *et al.*, 2009). Dans le bulbe olfactif, des oscillations sous-liminaire rapides ont été mises en évidence, *in vitro*, au niveau du potentiel de membrane des cellules M/P

(Chen & Shepherd, 1997 ; Desmaisons *et al.*, 1999 ; Lagier *et al.*, 2004). La synchronisation de ces oscillations, au sein d'une population de cellules M/P, serait médiée par les entrées inhibitrices portées par les cellules granulaires et permettrait la synchronisation de leur potentiels d'action (Desmaisons *et al.*, 1999 ; Bathellier *et al.*, 2006 ; David *et al.*, 2009).

In vivo, il est également possible d'observer des oscillations sous-limaires rapides (Charpak *et al.*, 2001 ; Debarbieux *et al.*, 2003). Pour autant, aucune étude systématique n'a permis de les caractériser. Une des perspectives intéressantes de ce travail de thèse serait donc d'étudier en détail ces oscillations sous liminaires rapides pour déterminer leur rôle dans le traitement de l'information olfactive *in vivo*. Il apparait tout particulièrement intéressant d'examiner :

- 1) Comment les oscillations intracellulaires lentes et rapides interagissent dans une cellule,
- 2) Quelles relations ces oscillations rapides entretiennent avec les oscillations rapides du réseau.

Ces différentes analyses permettront alors de voir si, comme le prédisent les études réalisées *in vitro*, une synchronisation des deux signaux se met en place lors du traitement de l'information olfactive (Lagier *et al.*, 2004).

5. Annexes

5.1. Communications affichées

5.1.1. FENS 2008

Relation between unitary and network activities: a study coupling intracellular and oscillatory local field potential recordings in olfactory bulb of rat in vivo

Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Messaoudi B., Buonviso N. & Amat C.
FENS, Genève, Suisse, juillet 2008

Today, a great interest is focused on temporal relations existing between global network oscillation (local field potential, LFP) and unitary activities (action potential, AP) of individual cells because oscillatory synchronization between these two activities has been shown to be a key mechanism for information processing in different sensory and cognitive systems.

In a previous work, using extracellular recordings, we showed that both mitral/tufted (M/T) cells spiking patterns and LFP oscillations were modulated by respiration in the olfactory bulb. In this study, we simultaneously recorded LFP in olfactory bulb and intracellular membrane potential of M/T cells in order to analyze for the first time, in vivo, on the freely breathing anesthetized rat, the temporal relationship between these two signals. Recordings were made at different membrane polarity in order to test to what extent the phase-coupling between both activities, in relation with respiratory modulation, was affected by the level of excitability of the cell.

We firstly observed that the discharge pattern of M/T cell is controlled by both respiration and membrane polarity. Hyperpolarization of the M/T cell reveals a slow oscillation of the membrane potential corresponding to the respiration-related rhythm. The occurrence of this oscillation clearly modifies the temporal distribution of AP and the intrinsic discharge configuration (beating or bursting activities). We noted that bursting activity, when present, occurred more often at the transition between inhalation end exhalation. Surprisingly, at that point, a very fast subthreshold oscillation of membrane potential could occur sometimes in response to odour stimulation. Data concerning AP/LFP coupling are still in process. Our work will help to understand cellular mechanisms responsible for generation of the different network oscillations and coherent activities.

Relation between unitary and network activities: a study coupling intracellular and oscillatory local field potential recordings in olfactory bulb of rat in vivo



BRIFFAUD V., FOURCAUD-TROCME N., MESSAUDI B., BUONVISO N., AMAT C.
 Université de Lyon, F-69622, Lyon France; Université Lyon 1 (UCBL1), Villeurbanne; CNRS, UMR5020, Neurosciences Sensorielles, Comportement, Cognition; Institut fédératif des Neurosciences de Lyon

INTRODUCTION

Today, a great interest is focused on temporal relationship existing between global network oscillations (local field potential, LFP) and unitary activities (action potential, AP) of individual cells because oscillatory synchronization between these two activities has been shown to be a key mechanism for information processing in different sensory and cognitive systems.

In a previous work, using extracellular recordings, we showed that both mitral / tufted (M/T) cells spiking patterns and bulbar LFP oscillations were modulated by respiratory rhythm.

In this study, we simultaneously recorded LFP in olfactory bulb and intracellular membrane potential of M/T cells in order to analyze, in vivo, on the freely breathing anesthetized rat, the temporal relationship between these two signals.

METHODS

Animals

Experiments were performed on freely breathing urethane anesthetized rat. Odor stimulation was applied for 3 seconds with home build olfactometer.

Simultaneous intracellular and extracellular recordings

Intracellular activity was recorded with micropipettes filled with a solution of 2 M potassium acetate (resistance: 60 to 180 MOhm). Signal was amplified and filtered at 10 KHz and digitized at 20 KHz. Recordings were made at different membrane polarities.

Extracellular activity was recorded with silicon probes. Broad band signal was amplified and digitized at 20 KHz.

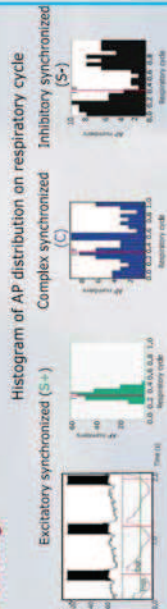
CONCLUSION

We showed that odor stimulation and membrane polarity affect temporal discharge pattern of M/T cells and also slow oscillation of membrane potential. This modulation would permit the participation of cells in different neuronal assemblies implicated in information processing.

RESULTS

DISCHARGE PATTERN OF M/T CELL

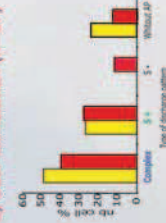
1/ Description of the different patterns observed with intracellular recordings



With intracellular recordings, we observed the same temporal patterns of AP discharge than those recorded with unitary extracellular recordings (S+, S-, and C).

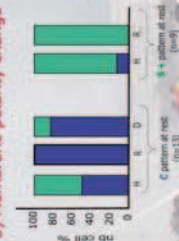
2/ Do odor stimulation and membrane polarity change have the same effect on the discharge pattern?

a) Odor stimulation (n=37)



At resting membrane potential, odor stimulation (red) induced S- temporal pattern which is not present in control conditions (yellow).

b) Membrane polarity change

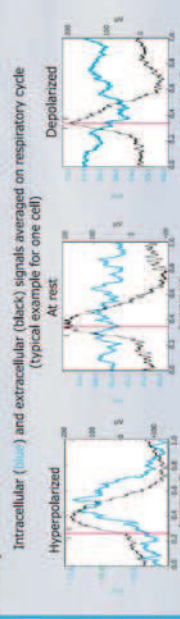


Cells exhibiting S+ and C pattern at resting membrane potential (R) have different sensibility to membrane polarity change. Specifically, S+ pattern is more resistant to a hyperpolarization (H) than C pattern. This one is resistant to depolarization (D).

Discharge patterns of M/T are modulated by odor stimulation and membrane polarity. This modulation is dependent on temporal pattern types present in control conditions (without odor, at rest). S- pattern emerges with odor stimulation but not with membrane polarity change.

SLOW OSCILLATION OF MEMBRANE POTENTIAL

1/ Membrane polarity change can lead to slow oscillation of membrane potential



This intracellular oscillation is related to the respiratory modulation. Two types of slow oscillation were distinguished: a negative one (observable on depolarized signal) and a positive one (observable on hyperpolarized signal).



At rest, 63% of cells are without oscillation. Depolarization (n=8) induces slow oscillation in 63% of cases. Hyperpolarization (n=19) induces in 32%.

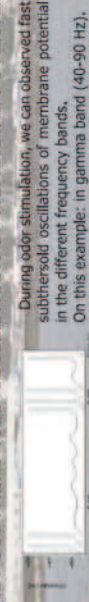
2/ The phase-coupling between intracellular and extracellular signals is influenced by membrane polarity change.



The phase-coupling between intracellular and extracellular activities, was affected by the level of excitability of the M/T cell.

Slow oscillations of membrane potential and their phase-coupling with extracellular signals seem to be affected by membrane polarity change.

FAST SUBTHRESHOLD OSCILLATION OF MEMBRANE POTENTIAL



During odor stimulation, we can observed fast-subthreshold oscillations of membrane potential in the different frequency bands. On this example: in gamma band (40-90 Hz).

5.1.2. Sociétés des neurosciences Française 2009

Slow oscillation in the local field potential and membrane potential of mitral and tufted cells in anesthetized rat

Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Messaoudi B., Buonviso N. & Amat C.

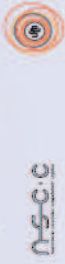
Société des neurosciences française, France, Bordeaux, Mai 2009

In olfactory bulb, an important characteristic is the presence of a respiration-modulated activity. During odor stimulation, this modulation is distinguishable 1) at the level of global network activity with the presence of a slow oscillation (1 to 5 Hz), 2) at the level of spiking discharges by the existence of respiratory patterns and 3) at the level of intracellular activity with slow oscillation of the membrane potential.

In this study, we simultaneously recorded local field potential (LFP) in olfactory bulb and intracellular membrane potential of mitral and tufted cells in order to analyze for the first time, in vivo, on freely breathing anesthetized rat, the relationship between these two signals. Recordings were made at different membrane polarities in order to test to what extent the phase-coupling between both activities, was affected by the level of cell excitability.

We observed that some principal cells of olfactory bulb have a slow oscillation of intracellular membrane potential which can be spontaneous, odor-evoked or evoked by excitability changes. This slow oscillation, following animal respiration, can be take a positive or a negative form. We want to know if specific relationships exists between these two forms of intracellular oscillations and LFP oscillations and, if so, what the characteristics of these relations are.

Slow oscillation in the local field potential and membrane potential of mitral and tufted cells in anesthetized rat

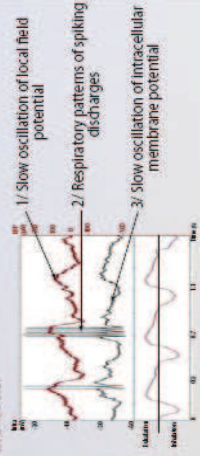


Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Messaoudi B., Buonviso N. and Amat C.

Université de Lyon, F-69622, Lyon, France; Université de Lyon, France; Institut français des neurosciences de Lyon

Introduction: Respiratory modulation of olfactory bulb activity

In olfactory bulb, respiration-modulated activity is observable at 3 levels:



1/ What are *in vivo* characteristics of slow membrane potential oscillations: spontaneous occurrence, forms and sensitivity to excitability and odor?
 2/ What are the relationships between slow intracellular and slow local field potential (LFP) oscillations?

Methods: Simultaneous intracellular and extracellular recordings in olfactory bulb *in vivo*

Experiments were performed on freely breathing urethane anesthetized rats. Odor stimulation was applied for 3 seconds. Intracellular activity was recorded with micropipettes filled with a solution of 2M potassium acetate (resistance: 60 to 180 MΩ). Signal was amplified and filtered at 10 KHz and digitized at 20 KHz. Recordings were made at different membrane polarities by injection of DC current.

Extracellular activity was recorded with silicon probes. Broad band signal was amplified and digitized at 20 KHz.

Results: Intracellular slow oscillations: characteristics and relationship with local field potential slow oscillation

1/ Slow oscillations of intracellular membrane potential

At resting membrane potential (RMP), 21 % of cells elicited a slow oscillation (mean frequency = 1,75 Hz ±0,32) (n = 7 / 34 recorded cells).

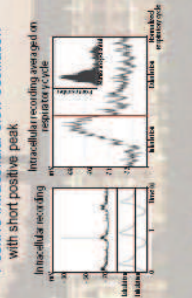
a) Effect of polarity changes



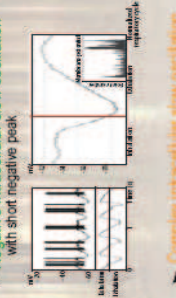
Membrane polarity changes (hyperpolarization and depolarization) significantly increased the proportion of cells exhibiting these slow intracellular oscillations.

c) Several forms of intracellular slow oscillations

Positive intracellular slow oscillation with short positive peak



Negative intracellular slow oscillation with short negative peak



Complex intracellular slow oscillation

This category correspond to recordings which can't be classified in positive or negative forms because of its 'transition' form.

2/ Specific relationships between intracellular and LFP slow oscillations



Both positive and negative peaks of positive and negative intracellular slow oscillations, respectively occurred around the LFP positive peaks corresponded approximately to the exhalation maximum.

a) Effect of polarity changes for positive intracellular slow oscillation

Excitability sensitivity of combination coefficients



Decrease of excitability state evoked an increase in correlation coefficient.

Positive phase lag, at RMP, suggesting that LFP oscillations preceded intracellular slow oscillations, was reduced by hyperpolarization.

b) Effect of odor stimulation

Odor stimulation, at RMP, seemed to induce a reversal of phase relation between intracellular and LFP oscillations, without effects on correlation coefficient.



The principal cells of olfactory bulb can exhibit a slow oscillation of intracellular membrane potential related to respiration. These oscillations can take two principal forms (positive and negative). Moreover, the occurrence and forms of these oscillations are sensitive to excitability state and odor stimulation.

Furthermore, these intracellular and LFP slow oscillations show specific relations (phase lag, correlation coefficient) which are differently modulated by polarity changes and odor stimulation.

5.1.3. ECRO 2009

Relationships between intracellular activities, oscillatory local field potential and respiration in olfactory bulb of freely breathing anesthetized rat

Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Cenier T, Garcia S, Buonviso N. & Amat C.
ECRO, Italie, Villasimus, Septembre 2009

In mammals, the global olfactory bulb (OB) activity is characterized by oscillatory activity in 3 frequency bands during odor stimulation. Indeed, local field potential (LFP) recordings display a slow high amplitude oscillation (1-5 Hz) related to respiration. Coexisting with this slow modulation, two high frequency band rhythmic activities alternate during a respiratory cycle: a beta oscillation (10-35 Hz) occurring particularly during exhalation and a gamma oscillation (40-80) appearing only at inhalation/exhalation transition point. At the same time, a respiratory modulation is also present at two levels of cellular activity. First, a few studies have shown that, during odor stimulation, an intracellular membrane potential slow oscillation appeared coupled to respiration. Second, two main spiking patterns have been described as synchronized with the respiratory cycle: the excitatory synchronized pattern (S+) which shows an increase of firing activity principally at inhalation/exhalation transition point and the inhibitory synchronized pattern (S-) which displays a strong decrease at this same time of the respiratory cycle. Finally, in our team, Cenier et al. (2009) recently showed a temporal relationship, on the one hand, between LFP's gamma oscillation and S+ pattern and, on the other hand, between LFP's beta oscillation and the pattern, suggesting the existence of gamma end beta neuronal assemblies, which alternatively appear during the respiratory cycle. From all these data, we hypothesize that OB functioning could be supported by two different activity states (one activated and one less activated) and that some signs of these different states could be found both at the network level and at the intracellular levels. We supposed that these "activated state" and "less activated state" might occur during inhalation and exhalation respectively. Our aim here is 1/ to demonstrate that these 2 states are observable at intracellular and network levels, and 2/ to examine the relationships existing between network and intracellular activity during both states. For this purpose, we recorded simultaneously intracellular activity and LFP in OB of freely breathing anesthetized rat during odor stimulation. First, we characterized membrane potential slow oscillations and their relationship with the respiratory cycle. We showed that this intracellular slow oscillation, following animal respiration, could take a positive (up state) or negative (down state) form. Next, we examined

the different relationships existing between 1/ the two forms of membrane potential slow oscillation (up and down) and action potential respiratory pattern (S+ and S-), and 2/ the two forms of membrane potential slow oscillations and gamma and beta LFP oscillations. Finally, we wanted to characterize what happens, at global and intracellular levels, during the two different activity states related to the respiratory phases.

Relationships between intracellular activities, oscillatory local field potential and respiration in olfactory bulb of freely breathing anesthetized rat



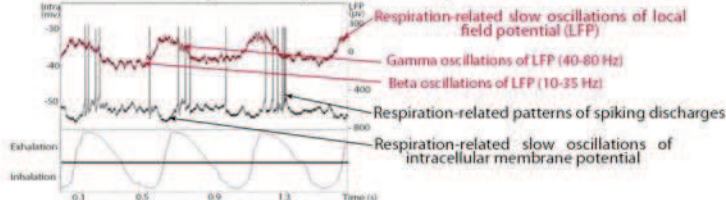
Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Genier T., Garcia S., Buonviso N. and Amat C.

Université de Lyon, F-69622, Lyon, France; Université Lyon 1 (UCBL1), Villeurbanne; CNRS, UMR 5020, Neurosciences sensorielles, comportement, cognition; Institut fédératif des neurosciences de Lyon



INTRODUCTION

In mammals, the olfactory bulb activity is characterized by:



AIM:

We want to characterize the different forms of intracellular oscillatory activities and examine relationships between these oscillatory activities and different respiratory discharge patterns. Finally, we are interested by studying link between respiration-related intracellular activities and network activities.

METHODS

Experiments were performed on freely breathing urethane anesthetized rats. Odor stimulation was applied for 3 seconds.

Intracellular activity was recorded with micropipettes filled with a solution of 2 M potassium acetate (resistance: 60 to 180 MOhm). Signal was amplified and filtered at 10 KHz and digitized at 20 KHz.

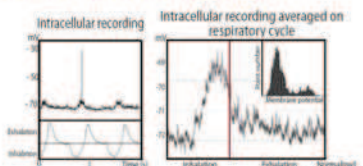
Extracellular activity was recorded with silicon probes. Broad band signal was amplified and digitized at 20 KHz.

RESULTS

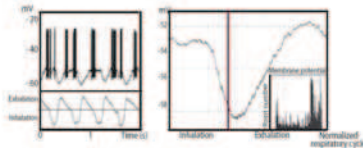
1/ Membrane potential slow oscillations

a) Several forms of intracellular slow oscillation

► Positive intracellular slow oscillation



► Negative intracellular slow oscillation

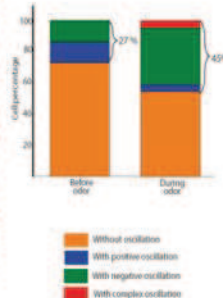


► Complex intracellular slow oscillation

This category corresponds to recordings which cannot be classified as positive or negative forms because of its 'transition' form.

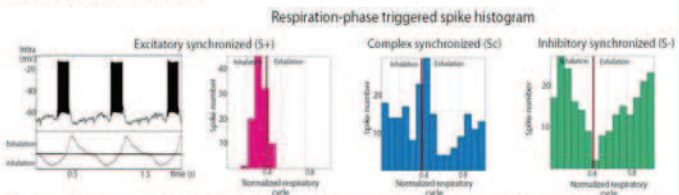
b) Effects of odor stimulation

At resting membrane potential (RMP), 27% of cells elicited a slow membrane potential oscillation (mean frequency = $1.65 \text{ Hz} \pm 0.3$, $n = 6 / 22$ recorded cells). Half of these cells exhibit a positive form of slow oscillation, half a negative forms. The proportion of cells with slow oscillation increases to 45% during odor stimulation.



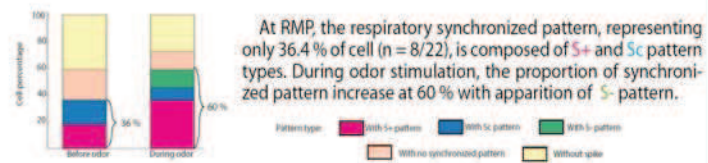
2/ Spike respiratory patterns

a) Several pattern types



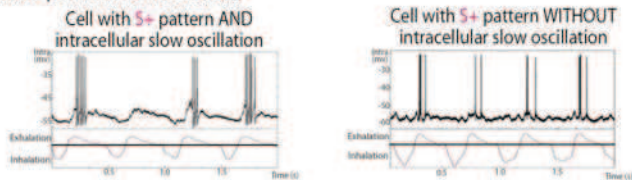
As previously observed in extracellular recordings, respiration-related spiking patterns are: synchronized patterns ($S+$, S_c and $S-$), no synchronized pattern and null pattern.

b) Effects of odor stimulation



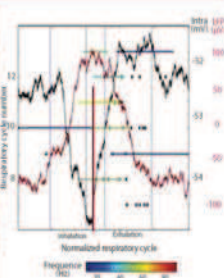
3/ Relationships between intracellular slow oscillations and spike respiratory patterns

No clear correlation appears between respiration-related intracellular slow oscillation and spiking discharges except that, at RMP, cells with no synchronized pattern (orange) never present a membrane potential slow oscillation.



CONCLUSION

Even though no strong relationship between slow intracellular oscillation and spike respiratory pattern are observable with our first analysis, it seems to exist links between slow oscillation of LFP and intracellular membrane potential, spike pattern and gamma and beta LFP oscillations. Indeed, as shown on the concluding figure, the peak of negative intracellular oscillation appears at the same time than the peak of LFP slow oscillation i.e. at precise point in respiratory cycle which correspond to inhalation / exhalation transition. We think that a clearer correlation will appear between intracellular slow oscillation and spiking discharge when cellular excitability level will be taken into account.



5.1.4.ECRO 2010

Intracellular study of relationships between spiking activity and membrane potential oscillation in freely breathing anesthetized rat

Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Thevenet M., Buonviso N. & Amat C.

ECRO, France, Avignon, Septembre 2010

In the olfactory bulb, an important characteristic is the presence of a respiratory-modulated activity. During odor stimulation, this modulation is distinguishable at the level of global network activity with the presence of a local field potential slow oscillation (1 to 5 Hz) and at the level of spiking discharges by the existence of respiratory spiking patterns. Indeed, several respiratory discharge patterns have been described among which non synchronized patterns (noS) characterized by uniform distribution of action potentials (AP) along the respiratory cycle, excitatory-simple-synchronized patterns (S+), presenting a single increase in firing activity synchronized with the respiratory cycle, and inhibitory-simple-synchronized pattern (S-) presenting a single decrease in firing activity synchronized with the respiratory cycle. In addition, respiratory modulation is observable at the level of intracellular activity with slow oscillations of the membrane potential. Relationships between these three activity levels have been poorly studied despite their importance in olfactory processing. In particular, relationship between respiratory discharge patterns and intracellular slow oscillations has never been described.

In a previous work, we characterized two types of intracellular slow oscillations called positive and negative slow membrane potential oscillations. The percentage of positive type is increased by hyperpolarization of membrane potential with negative DC current injection. In contrast, the percentage of negative type is increased by depolarization of membrane potential with positive DC current injection and by odor stimulation. In this study, we recorded intracellular activity of Mitral/ Tufted cells in order to examine relationships between these two forms of intracellular slow oscillations and noS, S+ and S- respiration-related spiking patterns. Moreover, we analyzed the fine structure of spiking discharge (single AP in opposition to burst of AP) and their distribution along intracellular slow oscillation cycle.

Surprisingly, despite the fact that respiration shaped both, spiking patterns and intracellular slow oscillations, we found no strong relationship between these two activities. However, our study clearly showed that the cells with noS pattern never exhibited a slow oscillation before or during odor stimulation. Moreover, the proportion of cells presenting S+ or S- respiratory-synchronized pattern together with an intracellular slow oscillation is increased

during odor stimulation. For cell exhibiting S+ pattern, the presence of intracellular slow oscillation seemed to influence the respiratory cycle position of single AP as they preferentially occurred just after inspiration/expiration transition. Moreover, the bursts of AP were always localized to a restricted area along the respiratory cycle (more often at proximity of inspiration/expiration transition) whatever the presence or not of an intracellular slow oscillation. This study suggests that respiratory spiking patterns and respiration-related intracellular slow oscillations could participate in different way to olfactory processing.

Intracellular study of relationships between spiking activities and membrane potential oscillations in freely breathing anesthetized rat



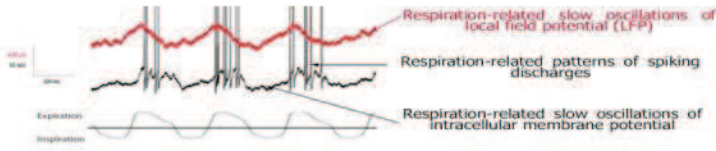
Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N., Thevenet M., Buonviso N. and Amat C.

Université de Lyon, F-69622, Lyon, France; Université Lyon1 (UCBL1), Villeurbanne; CNRS, UMR 5020, Neurosciences sensorielles, comportement, cognition; Institut fédératif des neurosciences de Lyon



Introduction

In mammals, the olfactory bulb activity is characterized by:



Aims :

- To examine relationships between intracellular slow oscillations (ISOsc) and respiration-related spiking patterns.
- To analyze the fine structure of spiking discharge (single action potential in opposition to burst of action potentials) and their distribution along intracellular slow oscillation cycle.

Methods

Experiments were performed on freely breathing anesthetized rats. Odor stimulation was applied for 3 seconds.

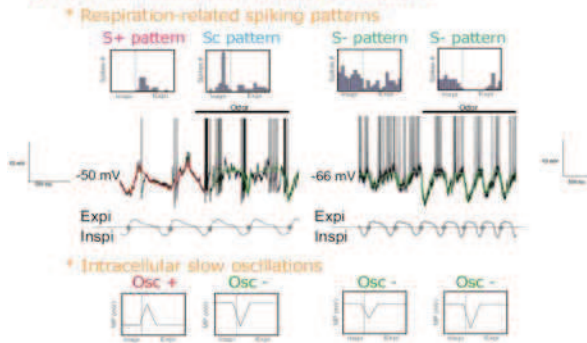
Intracellular activity was recorded with micropipettes filled with a solution of 2 M potassium acetate (Resistance: 60 to 180 MOhm). Signal was amplified and filtered at 10 KHz and digitized at 20 KHz.

PATTERNS: Histograms of action potentials (AP) distribution on normalized respiratory cycle were used to classify our recordings in five categories: 1/ no synchronized pattern (noS), 2/ Excitatory simple synchronized pattern (S+), 3/ Suppressive simple synchronized pattern (S-), 4/ Complex synchronized pattern (Sc) and 5/ null pattern (Null).

INTRACELLULAR OSCILLATIONS: Distribution of membrane potential allowed us to distinguish : cell without ISOsc (NoOsc), cell with positive ISOsc (Osc +), cell with negative ISOsc (Osc -) and cell with complex ISOs (Osc c).

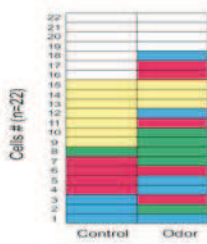
Results

1/ Typical intracellular recording examples:



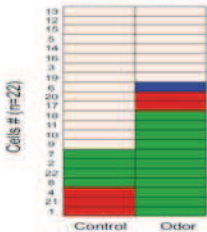
2/ Effects of odor stimulation on:

Respiration-related spiking patterns



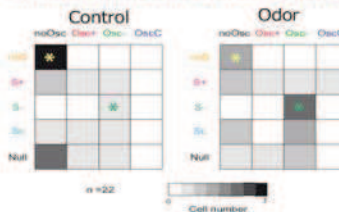
During control period, respiratory synchronized patterns (S+, S- and Sc) represented 36.4 % of cells. Odor stimulation increased their proportion at 68.2 %. In particular, we observed a strong increase of S- pattern.

Intracellular slow oscillations



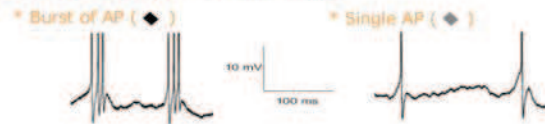
During control period, 31.8% of cells exhibited an ISOsc which is Osc + or Osc -. During odor stimulation, the proportion of ISOsc increased at 63.6% with a strong enhancement of Osc - type.

3/ Relationships between ISOsc and spiking patterns

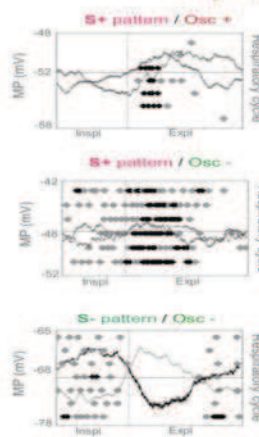


Two important informations:
 - noS pattern was always associated with noOsc ().
 - S- pattern was combined exclusively with Osc - (+).

4/ Relationships between discharge fine structure and ISOsc / spiking pattern combination



Typical examples of distribution of discharge fine structure along the respiratory cycle



For cells exhibiting S+ pattern:

- **Single AP** of:
 - Osc + cells: just after inspiration/ expiration (I/E) transition.
 - Osc - cells: along respiratory cycles.

- **Bursts of AP**: after I/E transition in both types (Osc + and Osc -).

For cells exhibiting S- pattern :

- **Bursts of AP** and **single AP** were located along respiratory cycles except during negative peak of Osc - (before and during odor stimulation).

Conclusion

A strong relationship exists between respiration-related spiking patterns and ISOsc types: **Null** are related to NoOsc and **S-** are related to Osc -. This latest combination are reinforced by odor stimulation. For other discharge patterns, relationships were more complex. In the case of S+ pattern, ISOsc types are determinant in the distribution of discharge fine structure (bursts of AP and single AP). These distributions could allow a specific participation of burst of AP and single AP in olfactory processing.

5.1.5. Société des neurosciences Française 2011

Slow oscillation of membrane potential participates to the determination of respiratory spiking patterns of mitral/tufted cells, in freely breathing anesthetized rat

Amat C., Briffaud V., Buonviso N. and Fourcaud-Trocmé N.

An important characteristic of olfactory bulb activity is its modulation by respiration. This modulation is distinguishable by the existence of several respiratory spiking patterns and the presence of slow oscillations of the membrane potential. Relationships between these two activities have never been studied. In this study, we recorded intracellular activity of M/T cells in order to examine relationships between the two forms (positive and negative forms) of intracellular slow oscillations (ISOs) and the different discharge patterns among which: excitatory-simple-synchronized patterns (S+: single increase in firing activity synchronized with the respiratory cycle), inhibitory-simple-synchronized patterns (S-: single decrease in firing activity synchronized with the respiratory cycle), and non synchronized patterns (noS: uniform distribution of action potentials along the respiratory cycle).

We showed that, both discharge patterns and ISOs were modulated by odor stimulation. The proportion of cells presenting S+ or S- respiratory-synchronized pattern together with an ISO is increased during odor stimulation. Two strong relationships were observed, during control period as well as during odor stimulation: i) noS pattern was only combined with none oscillating membrane potential and ii) S- patterns only with ISO- form. Furthermore, cells exhibiting S+ pattern never presented an ISO- form. Surprisingly, some cells with respiration-synchronized discharge pattern did not exhibit any observable ISO. We hypothesized these cells received a rhythmic input but ISO were not observable. This was supported by our M/T cell model showing that M/T cells receiving rhythmic input exhibited synchronized discharge activity at resting MP even if no ISO was distinguishable.

Taken together, these results suggest that ISO participate to the synchronization of discharge activity on the respiratory cycle.

Slow oscillation of membrane potential participates to the determination of respiratory spiking patterns of mitral / tufted cells, in freely breathing anesthetized rat



Amat C., Briffaud V., Fourcaud-Trocmé N. and Buonomano N.
Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, CNRS UMR 5292, INS-ERM U1028, Université Lyon 1

Introduction

In mammal olfactory bulb, the mitral / tufted cell activity is impacted by the slow rhythm of respiration.



Questions:

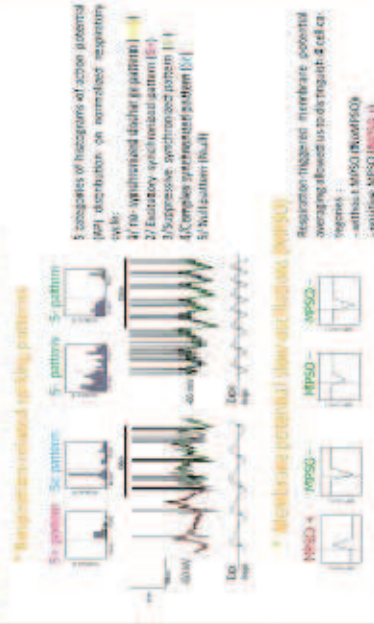
- What are the relationships between membrane potential slow oscillation (MPO) and respiration-related spiking pattern?
- Does modulation of cellular spikes discharge could reflect changes in MPO?

Methods

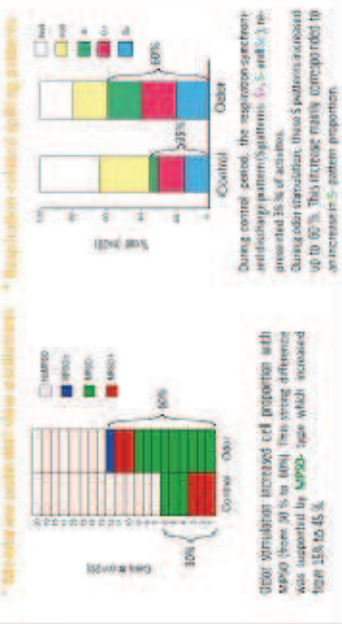
Experiments were performed on freely breathing anesthetized rats. Olfactory stimulation was applied for 3 seconds. Intracellular activity was recorded with microelectrodes filled with a solution of 2 M potassium acetate (pH 7.2) in 0.1 M ACSF (MCHN). Signal was amplified and filtered at 10 kHz and digitized at 20 kHz.

Results

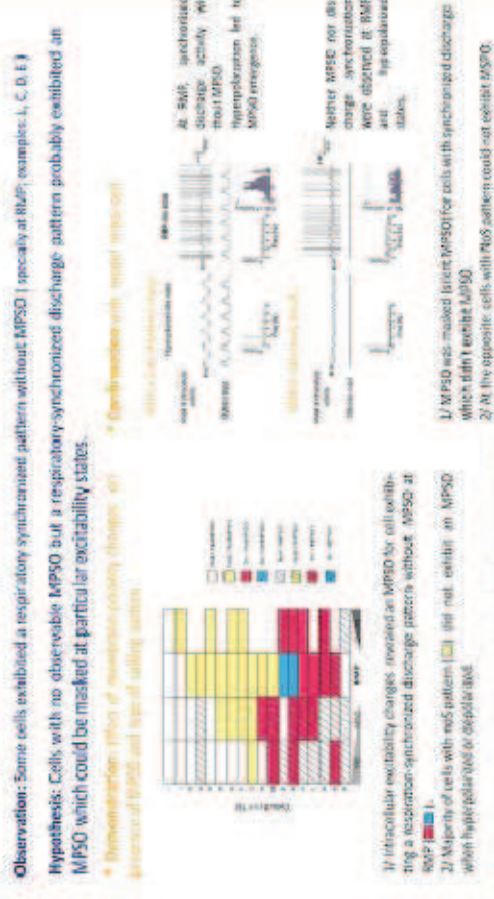
1/ Typical intracellular recording examples



2/ Effect of odor stimulation



3/ Unmasking of silent membrane potential slow oscillation



4/ Exclusive relationships between membrane potential slow oscillation and respiration-related discharge pattern



Conclusion

We conclude that the modulation of spike discharge reflects presence and change in MPO types.

- Cells exhibiting NoS pattern were **NotMPO**.
- Cells with **respiration-synchronized discharge pattern** always exhibited an **MPO**.

Our study shows that intracellular excitability state and input stimulation both underlie MPO type which in turn constrains the expression of spiking discharge.

5.2.« Proceeding » proposé dans le cadre de “Neurocomp” 2010

STABLE FREQUENCY RESPONSE TO VARYING STIMULUS INTENSITY IN A MODEL OF THE RAT OLFACTORY BULB

Thomas Voegtlin(1), Corinne Amat (2), Virginie Briffaud (2), Nathalie Buonviso (2),
Emmanuelle Courtiol (2), Nicolas Fourcaud-Trocmé (2).

(1) Equipe Cortex, INRIA Lorraine; Vandoeuvre-les-Nancy, France

(2) Equipe Neurosciences et Systèmes sensoriels, CNRS UMR 5020, Lyon, France

ABSTRACT

In the rat olfactory bulb (OB), fast oscillations of the local field potential (LFP) are observed during the respiratory cycle. Gamma-range oscillations (60Hz) occur at the end of inspiration, followed by beta-range oscillations (15-20Hz) during exhalation. These oscillations are highly stereotyped, and their frequencies are stable under various conditions. Here we investigate the effect of stimulus intensity on activity in the OB. Using a double cannulation protocol, we show that, although the frequency of the LFP oscillation does depend on the respiratory cycle, it is relatively independent from the intensity of odorant stimulation. In contrast, we found that the individual firing rate of mitral OB cells changes greatly with the intensity of the stimulation. Using a computer model of the OB, where fast oscillations are generated by the interplay between excitatory mitral/tufted cells, and inhibitory granule cells, we found that the difference between individual and population responses can be explained by the role of sub-threshold oscillations in the MCs. Sub-threshold oscillations of the MCs stabilize the frequency of the population oscillation, and allow their firing rate to vary without affecting the population frequency.

KEYWORDS

Olfaction, oscillations, spiking neurons.

1. Introduction

The rat olfactory bulb (OB) is a rich and complex sensory processing system that shows stimulus-induced properties such as neural synchronization and oscillations of the Local Field Potential (LFP). These properties are observed in other sensory systems, and they are believed to be important for neural information processing.

Recent experiments revealed the existence of two oscillation regimes in the OB of anaesthetized rats during odorant stimulation [1]. During inhalation, the LFP shows power in the gamma-frequency range and poor activity in the beta-frequency range, while exhalation yields strong activity in the beta-frequency range, and much less activity in the gamma range.

Oscillations in the OB are believed to originate from the interplay between excitatory and inhibitory neurons. Excitatory neurons are the mitral and tufted cells (MCs), and inhibitory neurons are the granule cells (GCs). Sensory inputs from olfactory receptor neurons (ORN) are conveyed to the MCs via glomeruli. MCs excite GCs through dendro-dendritic synapses, which in turn inhibit the MCs. This local loop is believed to induce the gamma oscillation [2]. In addition, another loop passes through the olfactory cortex (OC). MCs project axons to the OC, and pyramidal cells of the OC in turn excite GC somata. Cortical feedback is likely to play a role in the generation of beta rhythms. Beta oscillations can be observed only if the OB-OC connection is intact [3,4].

The mechanism that controls the frequency of the LFP oscillation is not understood yet. One difference between beta and gamma epochs is the amount of excitation received by the ORNs; ORNs are more excited during inspiration than during exhalation. Can the different amount of excitation be responsible for the change of oscillation frequency during respiration ?

In order to test this hypothesis, we recorded mitral cells activities and LFP in anaesthetized animals, while varying stimulation intensity. We found that LFP frequency does not depend on stimulus intensity, for both beta and gamma episodes; in contrast, we found that the activity of individual cells greatly changes with the intensity of the stimulus; the number of spikes increases with the intensity of stimulation.

We reproduced these experimental results in a computer model of the OB, where individual mitral cells do not fire on each cycle of the oscillation; in this model the firing rate is decorrelated from the frequency of the population oscillation.

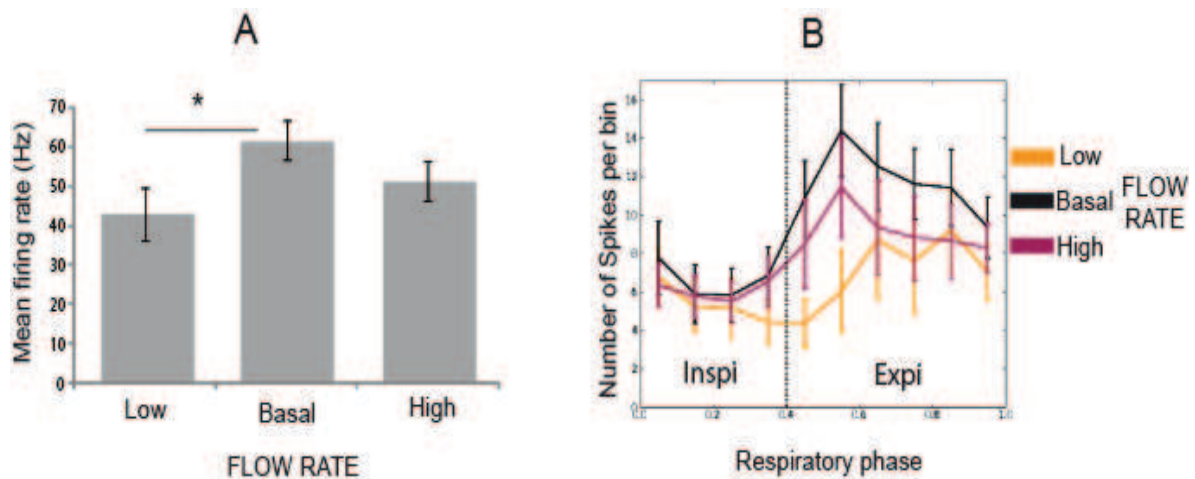


Figure 1: A) Mean firing frequencies of mitral cells under three flow rate conditions. B) Mean instantaneous frequencies of mitral cells as a function of the respiratory cycle. $n=36$

2. Experimental results

In order to mimic variations in sensory input to the OB, we used a double cannulation protocol, which allows us to uncouple odorant stimulation from the animal's breathing. Thus, we were able to deliver odorant stimulation in 3 different flow rate conditions: low (200ml/min), basal (500ml/min) and high (800ml/min) resulting in a low, medium and high intensity in sensory input respectively.

We observed that the number of gamma oscillatory bursts significantly increased when the flow rate was increased (low vs basal, $p < 0.01$; basal vs high, $p < 0.001$, Wilcoxon test), while the number of beta oscillatory bursts significantly decreased (low vs basal, $p < 0.001$; basal vs high, $p < 0.001$, Wilcoxon test). However, the intrinsic characteristics of oscillations, such as duration, amplitude and frequency, were not modified, except for the duration and amplitude of gamma episodes, which were significantly decreased when flow rate was decreased. Data are presented in Table 1.

Thus, the intrinsic characteristics of LFP oscillations are very stable: In particular, gamma and beta frequencies do not change with sensory input intensity.

In contrast, such stability was not observed in mitral cell individual activities. Indeed, we observed that a low flow rate induced a significantly lower percentage of responsive mitral cells (low: 66.7% vs. basal: 88.9 %; χ^2 test, $p < 0.05$). No significant difference was observed between basal and high flow rate conditions (basal: 88.9% vs high 91.7%, $p > 0.05$).

When comparing the mean instantaneous firing frequency under the three flow rate conditions (Fig. 1A), we observed that while it reached 61.58 and 51.26 Hz under the basal and high flow rate conditions respectively, it was significantly decreased under the low flow rate condition

(42.89 Hz). Fig. 1B shows the mean instantaneous frequency of mitral cells as a function of the respiratory cycle under each flow rate condition. A significant difference of distribution between low and basal conditions was observed.

		Beta	Gamma
Characteristics	Flow rate	Average (\pm SEM)	Average (\pm SEM)
Duration (s)	Low	0.242 (\pm 0.016)	0.101 (\pm 0.008)
	Basal	0.209 (\pm 0.014)	0.135 (\pm 0.011)
	High	0.215 (\pm 0.163)	0.132 (\pm 0.011)
Amplitude (Arbitrary unit)	Low	9.137 (\pm 0.804)	9.544 (\pm 0.677)
	Basal	9.446 (\pm 0.846)	12.479 (\pm 1.802)
	High	8.548 (\pm 1.113)	9.871 (\pm 1.134)
Frequency (Hz)	Low	15.900 (\pm 0.462)	52.821 (\pm 1.035)
	Basal	16.949 (\pm 0.576)	53.749 (\pm 1.273)
	High	14.912 (\pm 0.560)	54.656 (\pm 1.108)

Table 1: Means (\pm SEM) of LFP intrinsic characteristics. Duration (second), amplitude (arbitrary units) and frequency (hertz) are presented for beta and gamma oscillations and for the three flow rate conditions. Data from low and high flow rate conditions were compared to data from the basal flow rate condition (n = 23 trials). Statistical test: Wilcoxon, *p < 0.05.

3. Computer simulations

The fact that individual firing rate of the MCs are independent from the intensity of odorant stimulation suggests that the frequency of the population oscillation does not depend on the firing rate of individual cells, but on intrinsic characteristics of the mitral-granule cells network.

In order to investigate this hypothesis, we designed a computer model of the OB inspired from [5]. In this model, the frequency of the population oscillation can be much higher than individual firing rates; a given neuron does not fire on each cycle of the oscillation.

3.1 Modeling mitral cells

The membrane potential of a typical mitral cell is shown in Figure 2. The cell emits bursts of action potentials, followed by periods where the membrane potential oscillates below the firing threshold of the cell.

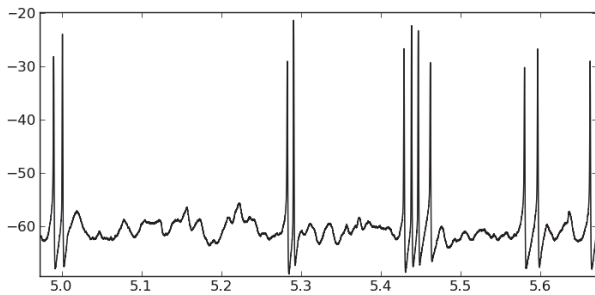


Figure 2 : Raw intracellular recording of a typical mitral cell (time in sec).

In order to model this type of neuron, we used a conductance model following Hodgkin-Huxley kinetics. The mitral cell had two sodium currents (I_{Na} , I_{NaP}) and three potassium currents (I_{KF} , I_{KS} , I_{KA}). Parameters were adapted from [6] and [7].

The membrane potential of a model mitral cell receiving a noisy input current is shown in Figure 3. The cell emits bursts of spikes in response to a noisy input current. Between bursts, a subthreshold oscillation of the membrane potential is visible. This subthreshold oscillation is caused by the interaction between I_{NaP} and I_{KS} currents; it is qualitatively similar to the recording of Figure 2.

When increasing the intensity of the stimulation, we observe that the bursts last longer, and that they have more spikes. However, this does not change much the inter-spike interval inside a burst, which is approximately equal to the period of the subthreshold oscillation.

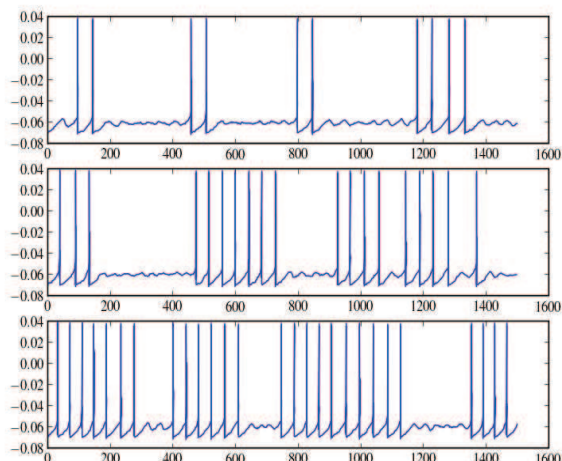


Figure 3 : Mitral cell response to a noisy input current of varying intensity. Top : $I = 0.004 \text{ A/m}^2$. Middle : $I = 0.006 \text{ A/m}^2$. Bottom : $I = 0.008 \text{ A/m}^2$.

3.2 Modeling the OB network: graded inhibition between granule and mitral cells.

Following [5], granule cells were modeled using a two compartment model : Granule cells had a dendritic compartment and a somatic compartment. Both compartments were modeled as leaky and passive; they did not have active ion channels.

Dendro-dendritic inhibition from granule to mitral cells was modeled using graded synapses, as in [5]. In this model, the probability of release of neurotransmitters by the synapse is a sigmoidal function of the presynaptic potential. In order to ensure that the membrane potential oscillates around the activation potential of the graded synapse, the leak potential of the granule cell was set slightly lower than the activation potential of the synapse.

We simulated a network of 100 mitral cells connected to one granule cell. Figure 4 shows the result of a network simulation. We observe that the network generates fast oscillations. The top row shows the membrane potential of one mitral cell (left), and the activity of all mitral cells (right). The bottom row shows the membrane potential of the granule cell (right) and the voltage-dependent probability for synaptic channels to be open in the graded synapse (left).

The first trace shows that a typical mitral cell does not fire on every cycle of the oscillation. However, the frequency of the population oscillation matches the subthreshold oscillation of the cell. This suggests that although the oscillation is a population effect, its frequency is controlled by the intrinsic frequency of subthreshold oscillations in the mitral cells.

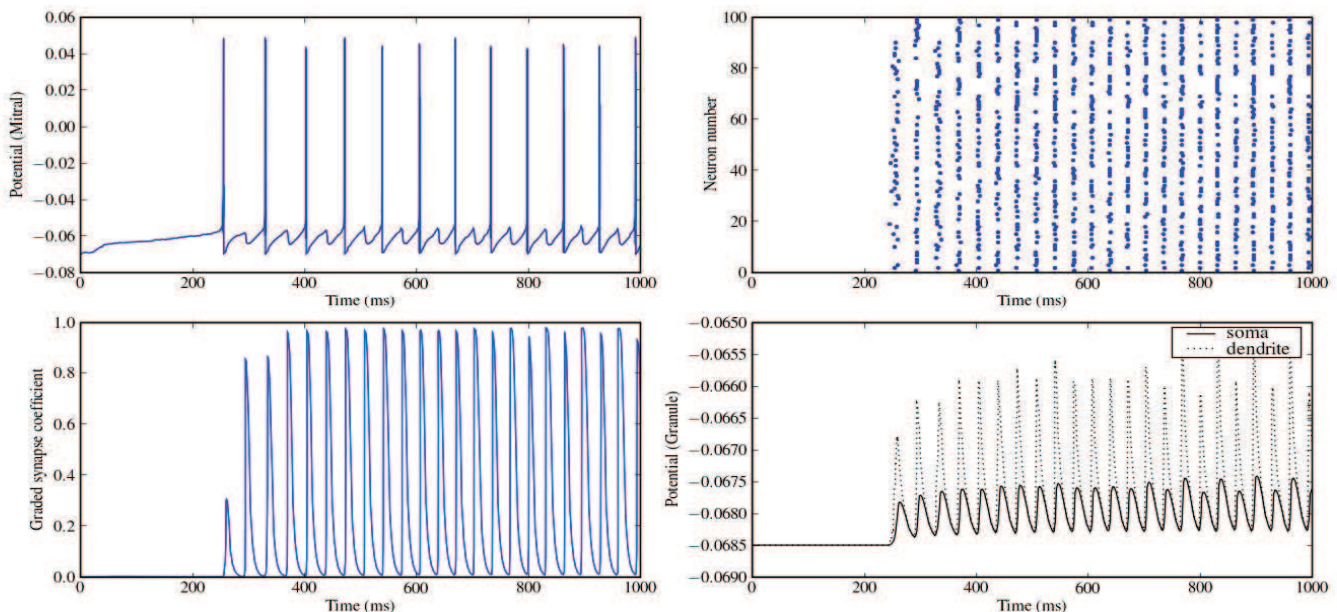


Figure 4. Generation of fast oscillations in a mitral-granule network, controlled by subthreshold oscillations. See text for explanation.

In order to test the effect of stimulus intensity on the network oscillation, we varied the intensity of the input current received by the mitral cells, in a range of parameters where mitral cells do not fire on every cycle of the oscillation.

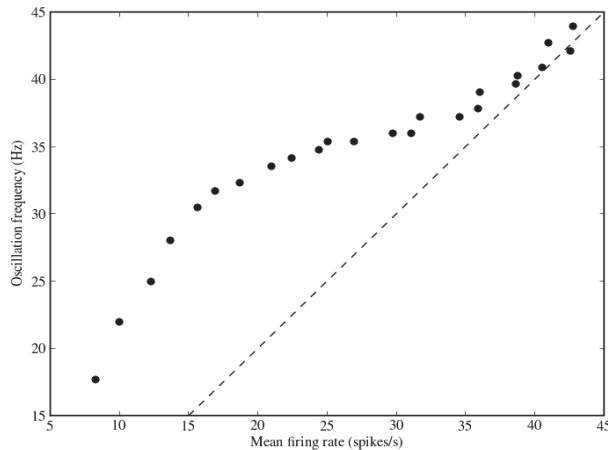


Figure 5. Relation between the oscillation frequency and the population mean firing rate, for different values of the input current.

The results are shown in Figure 5. When the input intensity was increased, the mean firing rates of the mitral cells did increase, almost linearly. However, the frequency of the oscillation frequency changed in a nonlinear way. There is range of intensities where the oscillation frequency is much more stable than the firing rate; in this region, a twofold increase of the firing rate can be achieved while the population frequency increases only by 10%. In this region, the network responds to an increase of the stimulation intensity mostly by emitting more spikes per cycle, and almost without changing the oscillation frequency. Note that for higher intensities the mean firing rate becomes equal to the oscillation frequency; in this case it is obviously not possible to emit more spike per cycle, and an increase of the input intensity is translated into an increase of the oscillation frequency.

4. Conclusion

Our recording experiments show that increasing the intensity of stimulation results in an increase of the mitral cells firing rate, but leaves the LFP frequency largely unchanged. This suggests that the frequency of the LFP oscillation depends on intrinsic properties of the mitral-granule network. Our computer simulations show that subthreshold oscillations of the mitral cells can stabilize the frequency of the population oscillation under a wide range of stimulus intensities, despite large changes of the mitral cells firing rates. Thus, subthreshold oscillations of the mitral cells are a good candidate for explaining the highly stereotyped nature of beta and gamma oscillations in the olfactory bulb.

Acknowledgements

This work was supported by the PIR-Neuroinformatique programme of the CNRS. Computer simulations were performed using the Brian simulator (<http://www.briansimulator.org>).

References

- [1] N. Buonviso, C. Amat, P. Litaudon, S. Roux, JP Royet , V Farget and G. Sicard , *Eur. J. Neurosci.* 17, 1811-1819, 2003
- [2] W. Rall and GM Shepherd. Theoretical reconstruction of field potentials and dendrodendritic synaptic interactions in olfactory bulb. *J Neurophysiol.* 31(6):884-915, 1968
- [3] K.R. Neville, L.B. Haberly. Beta and gamma oscillations in the olfactory system of the urethane-anesthetized rat. *J Neurophysiol.* 90(6):3921-30. 2003
- [4] C. Martin, R. Gervais, B Messaoudi, N Ravel_Learning-induced oscillatory activities correlated to odour recognition: a network activity. *Eur J Neurosci.* 23(7):1801-10, 2006
- [5] J.N. Brea, L. M. Kay, N. J. Koppell : Biophysical model for gamma rhythms in the olfactory bulb via subthreshold oscillations, *PNAS*, 106(51), 2009, 21954-9.
- [6] B. Bathellier, S. Lagier, P. Faure, PM. Lledo. Circuit Properties Generating Gamma Oscillations in a Network Model of the Olfactory Bulb, *J. Neurophysiol* 95, 2678-2691, 2006
- [7] U.S. Bhalla, J.M. Bower. Exploring parameter space in detailed single neuron models: simulations of the mitral and granule cells of the olfactory bulb. *J Neurophysiol* 69(6):1948-65, 1993.

6. Références bibliographiques

~ A ~

- Ache BW (2010) Odorant-specific modes of signaling in mammalian olfaction. *Chem Senses* 35:533-539.
- Ache BW, YoungJM (2005) Olfaction: diverse species, conserved principles. *Neuron* 48:417-430.
- Adrian ED (1942) Olfactory reactions in the brain of the hedgehog. *J Physiol* 100:459-473.
- Adrian ED (1950) The electrical activity of the mammalian olfactory bulb. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 2:377-388.
- Adrian ED (1951) The role of air movement in olfactory stimulation. *J Physiol* 114:4-5p.
- Alonso A, KlinkR (1993) Differential electroresponsiveness of stellate and pyramidal-like cells of medial entorhinal cortex layer II. *J Neurophysiol* 70:128-143.
- Anderson J, Lampl I, Reichova I, Carandini M, FersterD (2000) Stimulus dependence of two-state fluctuations of membrane potential in cat visual cortex. *Nat Neurosci* 3:617-621.
- Anderson JS, Lampl I, Gillespie DC, FersterD (2001) Membrane potential and conductance changes underlying length tuning of cells in cat primary visual cortex. *J Neurosci* 21:2104-2112.
- Angelo K, Margrie T (2011) Population diversity and function of hyperpolarization-activated current in olfactory bulb mitral cell. *Scientific report* 1:1-50.
- Antal M, Eyre M, Finklea B, NusserZ (2006) External tufted cells in the main olfactory bulb form two distinct subpopulations. *Eur J Neurosci* 24:1124-1136.
- Astic L, SaucierD (1986) Anatomical mapping of the neuroepithelial projection to the olfactory bulb in the rat. *Brain Res Bull* 16:445-454.
- Aungst JL, Heyward PM, Puche AC, Karnup SV, Hayar A, Szabo G, ShipleyMT (2003) Centre-surround inhibition among olfactory bulb glomeruli. *Nature* 426:623-629.

~ B ~

- Balu R, Larimer P, StrowbridgeBW (2004) Phasic stimuli evoke precisely timed spikes in intermittently discharging mitral cells. *J Neurophysiol* 92:743-753.
- Balu R, Pressler RT, StrowbridgeBW (2007) Multiple modes of synaptic excitation of olfactory bulb granule cells. *J Neurosci* 27:5621-5632.
- Bathellier B, Lagier S, Faure P, LledoP (2006) Circuit properties generating gamma oscillations in a network model of the olfactory bulb. *J Neurophysiol* 95:2678-2691.
- Bennett MVL, ZukinRS (2004) Electrical coupling and neuronal synchronization in the Mammalian brain. *Neuron* 41:495-511.
- Berger H (1929) Über das Elektroenkephalogramm des Menschen. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 87:527-570.

- Berger T, Borgdorff A, Crochet S, Neubauer FB, Lefort S, Fauvet B, Ferezou I, Carleton A, Lüscher H, Petersen CCH (2007) Combined voltage and calcium epifluorescence imaging in vitro and in vivo reveals subthreshold and suprathreshold dynamics of mouse barrel cortex. *J Neurophysiol* 97:3751-3762.
- Biju KC, Marks DR, Mast TG, Fadoo DA (2008) Deletion of voltage-gated channel affects glomerular refinement and odorant receptor expression in the mouse olfactory system. *J Comp Neurol* 506:161-179.
- Bloom FE, Costa E, Salmoiraghi G (1964) Analysis of individual rabbit olfactory bulb neuron responses to the microelectrophoresis of acetylcholine, norepinephrine and serotonin synergists and antagonists. *J Pharmacol Exp Ther* 146:16-23
- Borisovska M, McGinley MJ, Bensen A, Westbrook GL (2011) Loss of OCAM reduces the synchrony of mitral cell activity in olfactory glomeruli. *J Physiol* .
- Buck L, Axel R (1991) A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 65:175-187.
- Buonviso N, Amat C, Litaudon P, Roux S, Royet JP, Farget V, Sicard G (2003) Rhythm sequence through the olfactory bulb layers during the time window of a respiratory cycle. *Eur J Neurosci* 17:1811-1819.
- Buonviso N, Amat C, Litaudon P (2006) Respiratory modulation of olfactory neurons in the rodent brain. *Chem Senses* 31:145-154.
- Buonviso N, Chaput MA, Berthommier F (1992) Temporal pattern analyses in pairs of neighboring mitral cells. *J Neurophysiol* 68:417-424.
- Buonviso N, Chaput MA (1990) Response similarity to odors in olfactory bulb output cells presumed to be connected to the same glomerulus: electrophysiological study using simultaneous single-unit recordings. *J Neurophysiol* 63:447-454.
- Buonviso N, Reval MF, Jourdan F (1991) The Projections of Mitral Cells from Small Local Regions of the Olfactory Bulb: An Anterograde Tracing Study Using PHA-L (Phaseolus vulgaris Leucoagglutinin). *Eur J Neurosci* 3:493-500.
- Buzsáki G (2002) Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33:325-340.

~ C ~

- Cang J, Isaacson JS (2003) In vivo whole-cell recording of odor-evoked synaptic transmission in the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 23:4108-4116.
- Canolty RT, Ganguly K, Kennerley SW, Cadieu CF, Koepsell K, Wallis JD, Carmena JM (2010) Oscillatory phase coupling coordinates anatomically dispersed functional cell assemblies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:17356-17361.
- Carey RM, Verhagen JV, Wesson DW, Pérez N, Wachowiak M (2009) Temporal structure of receptor neuron input to the olfactory bulb imaged in behaving rats. *J Neurophysiol* 101:1073-1088.

- Carlson GC, Shipley MT, Keller A (2000) Long-lasting depolarizations in mitral cells of the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 20:2011-2021.
- Caton R (1875) The electrical currents of the brain. *British Medical Journal* 2:278.
- Canier T, Amat C, Litaudon P, Garcia S, Lafaye de Micheaux P, Liquet B, Roux S, Buonviso N (2008) Odor vapor pressure and quality modulate LFP oscillatory patterns in the olfactory bulb of anesthetized rat. *Eur. J. Neurosci.* 27:1432-1442.
- Canier T, David F, Litaudon P, Garcia S, Amat C, Buonviso N (2009) Respiration-gated formation of gamma and beta neural assemblies in the mammalian olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 29:921-930.
- Chaput M, Holley A (1979) Spontaneous activity of olfactory bulb neurons in awake rabbits, with some observations on the effects of pentobarbital anaesthesia. *J Physiol (Paris)* 75:939-948.
- Chaput M, Holley A (1980) Single unit responses of olfactory bulb neurones to odour presentation in awake rabbits. *J Physiol (Paris)* 76:551-558.
- Chaput MA (2000) EOG responses in anesthetized freely breathing rats. *Chem Senses* 25:695-701.
- Chaput MA, Buonviso N, Berthommier F (1992) Temporal Patterns in Spontaneous and Odour-evoked Mitral Cell Discharges Recorded in Anaesthetized Freely Breathing Animals. *Eur J Neurosci* 4:813-822.
- Chaput MA, Holley A (1985) Responses of olfactory bulb neurons to repeated odor stimulations in awake freely-breathing rabbits. *Physiol Behav* 34:249-258.
- Charpak S, Mertz J, Beaurepaire E, Moreaux L, Delaney K (2001) Odor-evoked calcium signals in dendrites of rat mitral cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:1230-1234.
- Chaudhury D, Escanilla O, Linster C (2009) Bulbar acetylcholine enhances neural and perceptual odor discrimination. *J Neurosci* 29:52-60.
- Chen T, Lin B, Schild D (2009) Odor coding by modules of coherent mitral/tufted cells in the vertebrate olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:2401-2406.
- Chen WR, Midtgaard J, Shepherd GM (1997) Forward and backward propagation of dendritic impulses and their synaptic control in mitral cells. *Science* 278:463-467.
- Chen WR, Shen GY, Shepherd GM, Hines ML, Midtgaard J (2002) Multiple modes of action potential initiation and propagation in mitral cell primary dendrite. *J Neurophysiol* 88:2755-2764.
- Chen WR, Shepherd GM (1997) Membrane and synaptic properties of mitral cells in slices of rat olfactory bulb. *Brain Res* 745:189-196.
- Chen WR, Xiong W, Shepherd GM (2000) Analysis of relations between NMDA receptors and GABA release at olfactory bulb reciprocal synapses. *Neuron* 25:625-633.
- Cho JH, Prince JEA, Cutforth T, Cloutier J (2011) The pattern of glomerular map formation defines responsiveness to aversive odorants in mice. *J Neurosci* 31:7920-7926.
- Christie JM, Bark C, Hormuzdi SG, Helbig I, Monyer H, Westbrook GL (2005) Connexin36 mediates spike synchrony in olfactory bulb glomeruli. *Neuron* 46:761-772.

Christie JM, WestbrookGL (2003) Regulation of backpropagating action potentials in mitral cell lateral dendrites by A-type potassium currents. *J Neurophysiol* 89:2466-2472.

Christie JM, WestbrookGL (2006) Lateral excitation within the olfactory bulb. *J Neurosci* 26:2269-2277.

Connors BW, AmitaiY (1997) Making waves in the neocortex. *Neuron* 18:347-349.

Courtiol E, Amat C, Thévenet M, Messaoudi B, Garcia S, BuonvisoN (2011) Reshaping of bulbar odor response by nasal flow rate in the rat. *PLoS One* 6:e16445.

Courtiol E, Hegoburu C, Litaudon P, Garcia S, Fourcaud-Trocmé N, BuonvisoN (2011) Individual and synergistic effects of sniffing frequency and flow rate on olfactory bulb activity. *J Neurophysiol* .:

~ D ~

David FO, Hugues E, Cenier T, Fourcaud-Trocmé N, BuonvisoN (2009) Specific entrainment of mitral cells during gamma oscillation in the rat olfactory bulb. *PLoS Comput Biol* 5:e1000551.

De Saint Jan D, Hirnet D, Westbrook GL, CharpakS (2009) External tufted cells drive the output of olfactory bulb glomeruli. *J Neurosci* 29:2043-2052.

De Saint Jan D, WestbrookGL (2005) Detecting activity in olfactory bulb glomeruli with astrocyte recording. *J Neurosci* 25:2917-2924.

De Saint Jan D, WestbrookGL (2007) Disynaptic amplification of metabotropic glutamate receptor 1 responses in the olfactory bulb. *J Neurosci* 27:132-140.

DeMaria S, NgaiJ (2010) The cell biology of smell. *J Cell Biol* 191:443-452.

Debarbieux F, Audinat E, CharpakS (2003) Action potential propagation in dendrites of rat mitral cells in vivo. *J Neurosci* 23:5553-5560.

Desmaisons D, Vincent JD, LledoPM (1999) Control of action potential timing by intrinsic subthreshold oscillations in olfactory bulb output neurons. *J Neurosci* 19:10727-10737.

Dhawale AK, Hagiwara A, Bhalla US, Murthy VN, AlbeanuDF (2010) Non-redundant odor coding by sister mitral cells revealed by light addressable glomeruli in the mouse. *Nat Neurosci* 13:1404-1412.

Dietz SB, MurthyVN (2005) Contrasting short-term plasticity at two sides of the mitral-granule reciprocal synapse in the mammalian olfactory bulb. *J Physiol* 569:475-488.

Dong H, Hayar A, Callaway J, Yang X, Nai Q, EnnisM (2009) Group I mGluR activation enhances Ca(2+)-dependent nonselective cation currents and rhythmic bursting in main olfactory bulb external tufted cells. *J Neurosci* 29:11943-11953.

Duchamp-Viret P, Chaput MA, DuchampA (1999) Odor response properties of rat olfactory receptor neurons. *Science* 284:2171-2174.

Duchamp-Viret P, Duchamp A, ChaputMA (2000) Peripheral odor coding in the rat and frog: quality and intensity specification. *J Neurosci* 20:2383-2390.

Düzel E, Penny WD, BurgessN (2010) Brain oscillations and memory. *Curr Opin Neurobiol* 20:143-149.

~ E ~

Eeckman FH, FreemanWJ (1990) Correlations between unit firing and EEG in the rat olfactory system. *Brain Res* 528:238-244.

Eichenbaum H (2000) Hippocampus: mapping or memory?. *Curr Biol* 10:R785-7.

Ennis M, Hamilton K, HayarA (2007) *Neurochemistry of the Main olfactory system*, Edition. Berlin Heidelberg.

Eyre MD, Antal M, NusserZ (2008) Distinct deep short-axon cell subtypes of the main olfactory bulb provide novel intrabulbar and extrabulbar GABAergic connections. *J Neurosci* 28:8217-8229.

Ezeh PI, Wellis DP, ScottJW (1993) Organization of inhibition in the rat olfactory bulb external plexiform layer. *J Neurophysiol* 70:263-274.

~ F ~

Fletcher ML, ChenWR (2010) Neural correlates of olfactory learning: Critical role of centrifugal neuromodulation. *Learn Mem* 17:561-570.

Fletcher ML, Masurkar AV, Xing J, Imamura F, Xiong W, Nagayama S, Mutoh H, Greer CA, Knöpfel T, ChenWR (2009) Optical imaging of postsynaptic odor representation in the glomerular layer of the mouse olfactory bulb. *J Neurophysiol* 102:817-830.

Fonseca MI, Aguilar JS, Skorupa AF, KleinWL (1991) Cellular mapping of m2 muscarinic receptors in rat olfactory bulb using an antiserum raised against a cytoplasmic loop peptide. *Brain Res* 563:163-170.

Fontanini A, Spano P, BowerJM (2003) Ketamine-xylazine-induced slow (< 1.5 Hz) oscillations in the rat piriform (olfactory) cortex are functionally correlated with respiration. *J Neurosci* 23:7993-8001.

Franks KM, IsaacsonJS (2006) Strong single-fiber sensory inputs to olfactory cortex: implications for olfactory coding. *Neuron* 49:357-363.

Freeman WJ (1975) *Mass Action in the Nervous System: Examination of Neurophysiological Basis of Adoptive Behavior Through EEG*, Edition. Academic, New York.

Freeman WJ (1978) Spatial properties of an EEG event in the olfactory bulb and cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 44:586-605.

Freeman WJ, Skarda CA (1985) Spatial EEG patterns, non-linear dynamics and perception: the neo-Sherringtonian view. *Brain Res* 357:147-175.

Friedman D, Strowbridge BW (2000) Functional role of NMDA autoreceptors in olfactory mitral cells. *J Neurophysiol* 84:39-50.

Friedman D, Strowbridge BW (2003) Both electrical and chemical synapses mediate fast network oscillations in the olfactory bulb. *J Neurophysiol* 89:2601-2610.

Fuentes RA, Aguilar MI, Aylwin ML, Maldonado PE (2008) Neuronal activity of mitral-tufted cells in awake rats during passive and active odorant stimulation. *J Neurophysiol* 100:422-430.

~ G ~

Gervais R, Buonviso N, Martin C, Ravel N (2007) What do electrophysiological studies tell us about processing at the olfactory bulb level?. *J Physiol Paris* 101:40-45.

Gire DH, Schoppa NE (2009) Control of on/off glomerular signaling by a local GABAergic microcircuit in the olfactory bulb. *J Neurosci* 29:13454-13464.

Gray CM, Singer W (1989) Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:1698-1702.

Grastyan E, Lissak K, Madarasz I, Donhoffer H (1959) Hippocampal electrical activity during the development of conditioned reflexes. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 11:409-430.

Green JD, Arduini A (1954) Hippocampal electrical activity in arousal. *J Neurophysiol* 17:533-557.

Grosmaître X, Santarelli LC, Tan J, Luo M, Ma M (2007) Dual functions of mammalian olfactory sensory neurons as odor detectors and mechanical sensors. *Nat Neurosci* 10:348-354.

~ H ~

Haberly LB, Price JL (1977) The axonal projection patterns of the mitral and tufted cells of the olfactory bulb in the rat. *Brain Res* 129:152-157.

Halabisky B, Friedman D, Radojicic M, Strowbridge BW (2000) Calcium influx through NMDA receptors directly evokes GABA release in olfactory bulb granule cells. *J Neurosci* 20:5124-5134.

Halabisky B, Strowbridge BW (2003) Gamma-frequency excitatory input to granule cells facilitates dendrodendritic inhibition in the rat olfactory Bulb. *J Neurophysiol* 90:644-654.

Halász N, Shepherd GM (1983) Neurochemistry of the vertebrate olfactory bulb. *Neuroscience* 10:579-619.

Hardy A, Palouzier-Paulignan B, Duchamp A, Royet J, Duchamp-Viret P (2005) 5-Hydroxytryptamine action in the rat olfactory bulb: in vitro electrophysiological patch-clamp recordings of juxtglomerular and mitral cells. *Neuroscience* 131:717-731.

Harvey CD, Collman F, Dombeck DA, Tank DW (2009) Intracellular dynamics of hippocampal place cells during virtual navigation. *Nature* 461:941-946.

Hayar A, Ennis M (2007) Endogenous GABA and glutamate finely tune the bursting of olfactory bulb external tufted cells. *J Neurophysiol* 98:1052-1056.

Hayar A, Karnup S, Ennis M, Shipley MT (2004) External tufted cells: a major excitatory element that coordinates glomerular activity. *J Neurosci* 24:6676-6685.

Hayar A, Karnup S, Shipley MT, Ennis M (2004) Olfactory bulb glomeruli: external tufted cells intrinsically burst at theta frequency and are entrained by patterned olfactory input. *J Neurosci* 24:1190-1199.

Hayar A, Shipley MT, Ennis M (2005) Olfactory bulb external tufted cells are synchronized by multiple intraglomerular mechanisms. *J Neurosci* 25:8197-8208.

Hebb DO (1949) *The organization of behavior, a neuropsychological theory*, Edition. New York: Wiley.

Heyward P, Ennis M, Keller A, Shipley MT (2001) Membrane bistability in olfactory bulb mitral cells. *J Neurosci* 21:5311-5320.

Holderith NB, Shigemoto R, Nusser Z (2003) Cell type-dependent expression of HCN1 in the main olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 18:344-354.

Huerta PT, Lisman JE (1995) Bidirectional synaptic plasticity induced by a single burst during cholinergic theta oscillation in CA1 in vitro. *Neuron* 15:1053-1063.

~ I ~

Isaacson JS (1999) Glutamate spillover mediates excitatory transmission in the rat olfactory bulb. *Neuron* 23:377-384.

Isaacson JS (2001) Mechanisms governing dendritic gamma-aminobutyric acid (GABA) release in the rat olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:337-342.

Isaacson JS, Strowbridge BW (1998) Olfactory reciprocal synapses: dendritic signaling in the CNS. *Neuron* 20:749-761.

Isaacson JS, Vitten H (2003) GABA(B) receptors inhibit dendrodendritic transmission in the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 23:2032-2039.

Izhikevich EM, Desai NS, Walcott EC, Hoppensteadt FC (2003) Bursts as a unit of neural information: selective communication via resonance. *Trends Neurosci* 26:161-167.

Izhikevitch E (2007) Dynamical systems in Neuroscience: the geometry of excitability and bursting. in Dynamical systems in Neuroscience, Edition (MIT Press ed.), pp 443-497. .

~ J ~

Jahr CE, NicollRA (1981) Primary afferent depolarization in the in vitro frog olfactory bulb. J Physiol 318:375-384.

Jahr CE, NicollRA (1982) An intracellular analysis of dendrodendritic inhibition in the turtle in vitro olfactory bulb. J Physiol 326:213-234.

Johnson BA, LeonM (2007) Chemotopic odorant coding in a mammalian olfactory system. J Comp Neurol 503:1-34.

Johnston J, DelaneyKR (2010) Synaptic activation of T-type Ca²⁺ channels via mGluR activation in the primary dendrite of mitral cells. J Neurophysiol 103:2557-2569.

Jourdan F, Duveau A, Astic L, HolleyA (1980) Spatial distribution of [14C]2-deoxyglucose uptake in the olfactory bulbs of rats stimulated with two different odours. Brain Res 188:139-154.

~ K ~

Kapoor V, UrbanNN (2006) Glomerulus-specific, long-latency activity in the olfactory bulb granule cell network. J Neurosci 26:11709-11719.

Kashiwadani H, Sasaki YF, Uchida N, MoriK (1999) Synchronized oscillatory discharges of mitral/tufted cells with different molecular receptive ranges in the rabbit olfactory bulb. J Neurophysiol 82:1786-1792.

Kay LM (2005) Theta oscillations and sensorimotor performance. Proc Natl Acad Sci U S A 102:3863-3868.

Kay LM, Beshel J, Brea J, Martin C, Rojas-Líbano D, KopellN (2009) Olfactory oscillations: the what, how and what for. Trends Neurosci 32:207-214.

Kim U, McCormickDA (1998) The functional influence of burst and tonic firing mode on synaptic interactions in the thalamus. J Neurosci 18:9500-9516.

Kollo M, Holderith N, Antal M, NusserZ (2008) Unique clustering of A-type potassium channels on different cell types of the main olfactory bulb. Eur J Neurosci 27:1686-1699.

Kollo M, Holderith NB, NusserZ (2006) Novel subcellular distribution pattern of A-type K⁺ channels on neuronal surface. J Neurosci 26:2684-2691.

Kosaka K, KosakaT (2005) synaptic organization of the glomerulus in the main olfactory bulb: compartments of the glomerulus and heterogeneity of the periglomerular cells. Anat Sci Int 80:80-90.

Krautwurst D, Yau KW, Reed RR (1998) Identification of ligands for olfactory receptors by functional expression of a receptor library. *Cell* 95:917-926.

Kunze WA, Shafton AD, Kemm RE, McKenzie JS (1991) Effect of stimulating the nucleus of the horizontal limb of the diagonal band on single unit activity in the olfactory bulb. *Neuroscience* 40:21-27.

~ L ~

Lagier S, Carleton A, Lledo PM (2004) Interplay between local GABAergic interneurons and relay neurons generates gamma oscillations in the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 24:4382-4392.

Landis DM, Reese TS, Raviola E (1974) Differences in membrane structure between excitatory and inhibitory components of the reciprocal synapse in the olfactory bulb. *J Comp Neurol* 155:67-91.

Laurent G (1996) Dynamical representation of odors by oscillating and evolving neural assemblies. *Trends Neurosci* 19:489-496.

Laurent G, Davidowitz H (1994) Encoding of Olfactory Information with Oscillating Neural Assemblies. *Science* 265:1872-1875.

Laurent G, Naraghi M (1994) Odorant-induced oscillations in the mushroom bodies of the locust. *J Neurosci* 14:2993-3004.

Laurent G, Stopfer M, Friedrich RW, Rabinovich MI, Volkovskii A, Abarbanel HD (2001) Odor encoding as an active, dynamical process: experiments, computation, and theory. *Annu Rev Neurosci* 24:263-297.

Leung LS, Yim CY (1986) Intracellular records of theta rhythm in hippocampal CA1 cells of the rat. *Brain Res* 367:323-327.

Lisman J (2005) The theta/gamma discrete phase code occurring during the hippocampal phase precession may be a more general brain coding scheme. *Hippocampus* 15:913-922.

Lisman JE (1997) Bursts as a unit of neural information: making unreliable synapses reliable. *Trends Neurosci* 20:38-43.

Litaudon P, Garcia S, Buonviso N (2008) Strong coupling between pyramidal cell activity and network oscillations in the olfactory cortex. *Neuroscience* :in press.

Lledo P, Gheusi G, Vincent J (2005) Information processing in the mammalian olfactory system. *Physiol Rev* 85:281-317.

Llinás RR (1988) The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function. *Science* 242:1654-1664.

Luo M, Katz LC (2001) Response correlation maps of neurons in the mammalian olfactory bulb. *Neuron* 32:1165-1179.

~ M ~

- Macrides F, ChoroverSL (1972) Olfactory bulb units: activity correlated with inhalation cycles and odor quality. *Science* 175:84-87.
- Macrides F, SchneiderSP (1982) Laminar organization of mitral and tufted cells in the main olfactory bulb of the adult hamster. *J Comp Neurol* 208:419-430.
- Maher BJ, WestbrookGL (2005) SK channel regulation of dendritic excitability and dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb. *J Neurophysiol* 94:3743-3750.
- Malnic B, Hirono J, Sato T, BuckLB (1999) Combinatorial receptor codes for odors. *Cell* 96:713-723.
- Margrie TW, Sakmann B, UrbanNN (2001) Action potential propagation in mitral cell lateral dendrites is decremental and controls recurrent and lateral inhibition in the mammalian olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:319-324.
- Margrie TW, SchaeferAT (2003) Theta oscillation coupled spike latencies yield computational vigour in a mammalian sensory system. *J Physiol* 546:363-374.
- Martin C, Gervais R, Hugues E, Messaoudi B, RavelN (2004) Learning modulation of odor-induced oscillatory responses in the rat olfactory bulb: a correlate of odor recognition?. *J Neurosci* 24:389-397.
- McLean JH, Shipley MT, Nickell WT, Aston-Jones G, ReyherCK (1989) Chemoanatomical organization of the noradrenergic input from locus coeruleus to the olfactory bulb of the adult rat. *J Comp Neurol* 285:339-349.
- McLean JH, ShipleyMT (1987) Serotonergic afferents to the rat olfactory bulb: II. Changes in fiber distribution during development. *J Neurosci* 7:3029-3039.
- McQuiston AR, KatzLC (2001) Electrophysiology of interneurons in the glomerular layer of the rat olfactory bulb. *J Neurophysiol* 86:1899-1907.
- Miles R (1990) Synaptic excitation of inhibitory cells by single CA3 hippocampal pyramidal cells of the guinea-pig in vitro. *J Physiol* 428:61-77.
- Mirollo RE, StrogatzSH (1990) Synchronization of Pulse-Coupled Biological Oscillators. *Synchronization of Pulse-Coupled Biological Oscillators* 50:1645-1662.
- Miyamichi K, Amat F, Moussavi F, Wang C, Wickersham I, Wall NR, Taniguchi H, Tasic B, Huang ZJ, He Z, Callaway EM, Horowitz MA, LuoL (2011) Cortical representations of olfactory input by trans-synaptic tracing. *Nature* 472:191-196.
- Miyamichi K, Serizawa S, Kimura HM, SakanoH (2005) Continuous and overlapping expression domains of odorant receptor genes in the olfactory epithelium determine the dorsal/ventral positioning of glomeruli in the olfactory bulb. *J Neurosci* 25:3586-3592.
- Mombaerts P, Wang F, Dulac C, Chao SK, Nemes A, Mendelsohn M, Edmondson J, AxelR (1996) Visualizing an olfactory sensory map. *Cell* 87:675-686.
- Monier C, Fournier J, FrégnacY (2008) In vitro and in vivo measures of evoked excitatory and inhibitory conductance dynamics in sensory cortices. *J Neurosci Methods* 169:323-365.

Mori K, Nowycky MC, ShepherdGM (1981) Electrophysiological analysis of mitral cells in the isolated turtle olfactory bulb. *J Physiol* 314:281-294.

Mori K, SakanoH (2011) How is the Olfactory Map Formed and Interpreted in the Mammalian Brain?. *Annu Rev Neurosci* .:

~ N ~

Neville KR, HaberlyLB (2003) Beta and gamma oscillations in the olfactory system of the urethane-anesthetized rat. *J Neurophysiol* 90:3921-3930.

Nica R, Matter SF, Griffer (2010) Physiological evidence for two classes of mitral cells in the rat olfactory bulb. *Brain Res* 1358:81-88.

~ O ~

O'Connor S, JacobTJC (2008) Neuropharmacology of the olfactory bulb. *Curr Mol Pharmacol* 1:181-190.

O'Keefe J, RecceML (1993) Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus* 3:317-330.

Oka Y, Takai Y, TouharaK (2009) Nasal airflow rate affects the sensitivity and pattern of glomerular odorant responses in the mouse olfactory bulb. *J Neurosci* 29:12070-12078.

Onoda N (1992) Odor-induced fos-like immunoreactivity in the rat olfactory bulb. *Neurosci Lett* 137:157-160.

Onoda N, MoriK (1980) Depth distribution of temporal firing patterns in olfactory bulb related to air-intake cycles. *J Neurophysiol* 44:29-39.

Orona E, Rainer EC, ScottJW (1984) Dendritic and axonal organization of mitral and tufted cells in the rat olfactory bulb. *J Comp Neurol* 226:346-356.

Orona E, Scott JW, RainerEC (1983) Different granule cell populations innervate superficial and deep regions of the external plexiform layer in rat olfactory bulb. *J Comp Neurol* 217:227-237.

~ P ~

Padmanabhan K, UrbanNN (2010) Intrinsic biophysical diversity decorrelates neuronal firing while increasing information content. *Nat Neurosci* 13:1276-1282.

- Pager J (1980) [An efferent respiratory modulation demonstrated in the olfactory bulb of the rat]. *C R Seances Acad Sci D* 290:251-254.
- Pager J (1985) Respiration and olfactory bulb unit activity in the unrestrained rat: statements and reappraisals. *Behav Brain Res* 16:81-94.
- Pain F, L'heureux B, GurdenH (2011) Visualizing odor representation in the brain: a review of imaging techniques for the mapping of sensory activity in the olfactory glomeruli. *Cell Mol Life Sci* 68:2689-2709.
- Perkel DH BT (1968) Neural coding.. *Neurosciences Research Program Bulletin* 221-348. .:
- Petzold GC, Hagiwara A, MurthyVN (2009) Serotonergic modulation of odor input to the mammalian olfactory bulb. *Nat Neurosci* 12:784-791.
- Pinching AJ, PowellTP (1971) The neuropil of the periglomerular region of the olfactory bulb. *J Cell Sci* 9:379-409.
- Pinching AJ, PowellTP (1971) The neuropil of the glomeruli of the olfactory bulb. *J Cell Sci* 9:347-377.
- Poo C, IsaacsonJS (2009) Odor representations in olfactory cortex: "sparse" coding, global inhibition, and oscillations. *Neuron* 62:850-861.
- Potter H, ChoroverSL (1976) Response plasticity in hamster olfactory bulb: peripheral and central processes. *Brain Res* 116:417-429.
- Pressler RT, Inoue T, StrowbridgeBW (2007) Muscarinic receptor activation modulates granule cell excitability and potentiates inhibition onto mitral cells in the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 27:10969-10981.
- Price JL (1973) An autoradiographic study of complementary laminar patterns of termination of afferent fibers to the olfactory cortex. *J Comp Neurol* 150:87-108.
- Price JL, PowellTP (1970) The mitral and short axon cells of the olfactory bulb. *J Cell Sci* 7:631-651.
- Puopolo M, BelluzziO (2001) NMDA-dependent, network-driven oscillatory activity induced by bicuculline or removal of Mg²⁺ in rat olfactory bulb neurons. *Eur J Neurosci* 13:92-102.

~ R ~

- Rall W, ShepherdGM (1968) Theoretical reconstruction of field potentials and dendrodendritic synaptic interactions in olfactory bulb. *J Neurophysiol* 31:884-915.
- Ravel N, Chabaud P, Martin C, Gaveau V, Hugues E, Tallon-Baudry C, Bertrand O, GervaisR (2003) Olfactory learning modifies the expression of odour-induced oscillatory responses in the gamma (60-90 Hz) and beta (15-40 Hz) bands in the rat olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 17:350-358.
- Ravel N, PagerJ (1990) Respiratory patterning of the rat olfactory bulb unit activity: nasal versus tracheal breathing. *Neurosci Lett* 115:213-218.

Ressler KJ, Sullivan SL, BuckLB (1993) A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium. *Cell* 73:597-609.

Ritz R, SejnowskiTJ (1997) Synchronous oscillatory activity in sensory systems: new vistas on mechanisms. *Curr Opin Neurobiol* 7:536-546.

Royet JP, Distel H, Hudson R, GervaisR (1998) A re-estimation of the number of glomeruli and mitral cells in the olfactory bulb of rabbit. *Brain Res* 788:35-42.

Rubin BD, KatzLC (1999) Optical imaging of odorant representations in the mammalian olfactory bulb. *Neuron* 23:499-511.

~ S ~

Sakano H (2010) Neural map formation in the mouse olfactory system. *Neuron* 67:530-542.

Salin PA, Lledo PM, Vincent JD, CharpakS (2001) Dendritic glutamate autoreceptors modulate signal processing in rat mitral cells. *J Neurophysiol* 85:1275-1282.

Sanhueza M, BacigalupoJ (2005) Intrinsic subthreshold oscillations of the membrane potential in pyramidal neurons of the olfactory amygdala. *Eur J Neurosci* 22:1618-1626.

Schaefer AT, Angelo K, Spors H, MargrieTW (2006) Neuronal oscillations enhance stimulus discrimination by ensuring action potential precision. *PLoS Biol* 4:e163.

Schoppa NE, Kinzie JM, Sahara Y, Segerson TP, WestbrookGL (1998) Dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb is driven by NMDA receptors. *J Neurosci* 18:6790-6802.

Schoppa NE, WestbrookGL (2001) Glomerulus-specific synchronization of mitral cells in the olfactory bulb. *Neuron* 31:639-651.

Scott JW (1977) A measure of extracellular unit responses to repeated stimulation applied to observations of the time course of olfactory responses. *Brain Res* 132:247-258.

Shepherd G, Chen W, GreerC (2004) Olfactory bulbe. in *The synaptic organization of the brain*, Edition (Shepherd GM ed.), pp 165-216. Oxford University press.

Shepherd GM (1972) Synaptic organization of the mammalian olfactory bulb. *Physiol Rev* 52:864-917.

Sherman SM (2001) Tonic and burst firing: dual modes of thalamocortical relay. *Trends Neurosci* 24:122-126.

Sherrington C (1941) *Man on his Nature*, Edition. .

Shipley MT, AdamekGD (1984) The connections of the mouse olfactory bulb: a study using orthograde and retrograde transport of wheat germ agglutinin conjugated to horseradish peroxidase. *Brain Res Bull* 12:669-688.

Shipley MT, EnnisM (1996) Functional organization of olfactory system. *J Neurobiol* 30:123-176.

Shipley MT, Halloran FJ, de la TorreJ (1985) Surprisingly rich projection from locus coeruleus to the olfactory bulb in the rat. *Brain Res* 329:294-299.

Singer W, Gray CM (1995) Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 18:555-586.

Sirota A, Buzsáki G (2005) Interaction between neocortical and hippocampal networks via slow oscillations. *Thalamus Relat Syst* 3:245-259.

Sobel EC, Tank DW (1993) Timing of odor stimulation does not alter patterning of olfactory bulb unit activity in freely breathing rats. *J Neurophysiol* 69:1331-1337.

Soltész I, Deschênes M (1993) Low- and high-frequency membrane potential oscillations during theta activity in CA1 and CA3 pyramidal neurons of the rat hippocampus under ketamine-xylazine anesthesia. *J Neurophysiol* 70:97-116.

Soucy ER, Albeanu DF, Fantana AL, Murthy VN, Meister M (2009) Precision and diversity in an odor map on the olfactory bulb. *Nat Neurosci* 12:210-220.

Spors H, Grinvald A (2002) Spatio-temporal dynamics of odor representations in the mammalian olfactory bulb. *Neuron* 34:301-315.

Spors H, Wachowiak M, Cohen LB, Friedrich RW (2006) Temporal dynamics and latency patterns of receptor neuron input to the olfactory bulb. *J Neurosci* 26:1247-1259.

Strotmann J, Breer H (2006) Formation of glomerular maps in the olfactory system. *Semin Cell Dev Biol* 17:402-410.

Strowbridge BW (2009) Role of cortical feedback in regulating inhibitory microcircuits. *Ann N Y Acad Sci* 1170:270-274.

Su Z, He C (2010) Olfactory ensheathing cells: biology in neural development and regeneration. *Prog Neurobiol* 92:517-532.

~ T ~

Thomson AM, Deuchars J, West DC (1993) Single axon excitatory postsynaptic potentials in neocortical interneurons exhibit pronounced paired pulse facilitation. *Neuroscience* 54:347-360.

Touhara K, Sengoku S, Inaki K, Tsuboi A, Hirono J, Sato T, Sakano H, Haga T (1999) Functional identification and reconstitution of an odorant receptor in single olfactory neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:4040-4045.

~ U ~

Uchida N, Takahashi YK, Tanifuji M, Mori K (2000) Odor maps in the mammalian olfactory bulb: domain organization and odorant structural features. *Nat Neurosci* 3:1035-1043.

Ueki S, Domino EF (1961) Some evidence for a mechanical receptor in olfactory function. *J Neurophysiol* 24:12-25.

Uhlhaas PJ, Pipa G, Lima B, Melloni L, Neuenschwander S, Nikolić D, Singer W (2009) Neural synchrony in cortical networks: history, concept and current status. *Front Integr Neurosci* 3:17.

Urban NN, Sakmann B (2002) Reciprocal intraglomerular excitation and intra- and interglomerular lateral inhibition between mouse olfactory bulb mitral cells. *J Physiol* 542:355-367.

~ V ~

Vanderwolf CH (1969) Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 26:407-418.

Vassar R, Chao SK, Sitcheran R, Nuñez JM, Vosshall LB, Axel R (1994) Topographic organization of sensory projections to the olfactory bulb. *Cell* 79:981-991.

Vassar R, Ngai J, Axel R (1993) Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell* 74:309-318.

Verhagen JV, Wesson DW, Netoff TI, White JA, Wachowiak M (2007) Sniffing controls an adaptive filter of sensory input to the olfactory bulb. *Nat Neurosci* 10:631-639.

~ W ~

Wachowiak M, Cohen LB (2001) Representation of odorants by receptor neuron input to the mouse olfactory bulb. *Neuron* 32:723-735.

Wachowiak M, Shipley MT (2006) Coding and synaptic processing of sensory information in the glomerular layer of the olfactory bulb. *Semin Cell Dev Biol* 17:411-423.

Walsh RR (1956) Single spike activity in the olfactory bulb. *Ann J Physiol* 186:631-639.

Wang X (2010) Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition. *Physiol Rev* 90:1195-1268.

Wang X, McKenzie JS, Kemm RE (1996) Whole cell calcium currents in acutely isolated olfactory bulb output neurons of the rat. *J Neurophysiol* 75:1138-1151.

Wang XY, McKenzie JS, Kemm RE (1996) Whole-cell K⁺ currents in identified olfactory bulb output neurons of rats. *J Physiol* 490 (Pt 1):63-77.

Wehr M, Laurent G (1996) Odour encoding by temporal sequences of firing in oscillating neural assemblies. *Nature* 384:162-166.

Wellis DP, Kauer JS (1993) GABA and glutamate receptor involvement in dendrodendritic synaptic interactions from salamander olfactory bulb. *J Physiol* 469:315-339.

Wellis DP, Scott JW, Harrison TA (1989) Discrimination among odorants by single neurons of the rat olfactory bulb. *J Neurophysiol* 61:1161-1177.

Wellis DP, Scott JW (1990) Intracellular responses of identified rat olfactory bulb interneurons to electrical and odor stimulation. *J Neurophysiol* 64:932-947.

Wesson DW, Carey RM, Verhagen JV, Wachowiak M (2008) Rapid encoding and perception of novel odors in the rat. *PLoS Biol* 6:e82.

Wesson DW, Donahou TN, Johnson MO, Wachowiak M (2008) Sniffing behavior of mice during performance in odor-guided tasks. *Chem Senses* 33:581-596.

Wesson DW, Verhagen JV, Wachowiak M (2009) Why sniff fast? The relationship between sniff frequency, odor discrimination, and receptor neuron activation in the rat. *J Neurophysiol* 101:1089-1102.

Wilson DA (1998) Synaptic correlates of odor habituation in the rat anterior piriform cortex. *J Neurophysiol* 80:998-1001.

Wilson DA, Best AR, Sullivan RM (2004) Plasticity in the olfactory system: lessons for the neurobiology of memory. *Neuroscientist* 10:513-524.

Winfrey AT (1980) *the geometry of biological time*, Edition. Springer Verlag.

Winson J (1978) Loss of hippocampal theta rhythm results in spatial memory deficit in the rat. *Science* 201:160-163.

~ Y ~

Yang X, Renken R, Hyder F, Siddeek M, Greer CA, Shepherd GM, Shulman RG (1998) Dynamic mapping at the laminar level of odor-elicited responses in rat olfactory bulb by functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:7715-7720.

Yokoi M, Mori K, Nakanishi S (1995) Refinement of odor molecule tuning by dendrodendritic synaptic inhibition in the olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:3371-3375.

~ Z ~

Zhang Z, Sun Q (2011) The balance between excitation and inhibition and functional sensory processing in the somatosensory cortex. *Int Rev Neurobiol* 97:305-333.

Zhao H, Ivic L, Otaki JM, Hashimoto M, Mikoshiba K, Firestein S (1998) Functional expression of a mammalian odorant receptor. *Science* 279:237-242.

Zhou Z, Belluscio L (2008) Intrabulbar projecting external tufted cells mediate a timing-based mechanism that dynamically gates olfactory bulb output. *J Neurosci* 28:9920-9928.

Zhou Z, Xiong W, Masurkar AV, Chen WR, Shepherd GM (2006) Dendritic calcium plateau potentials modulate input-output properties of juxtglomerular cells in the rat olfactory bulb. *J Neurophysiol* 96:2354-2363.

Zhou Z, Xiong W, Zeng S, Xia A, Shepherd GM, Greer CA, Chen WR (2006) Dendritic excitability and calcium signalling in the mitral cell distal glomerular tuft. *Eur J Neurosci* 24:1623-1632.